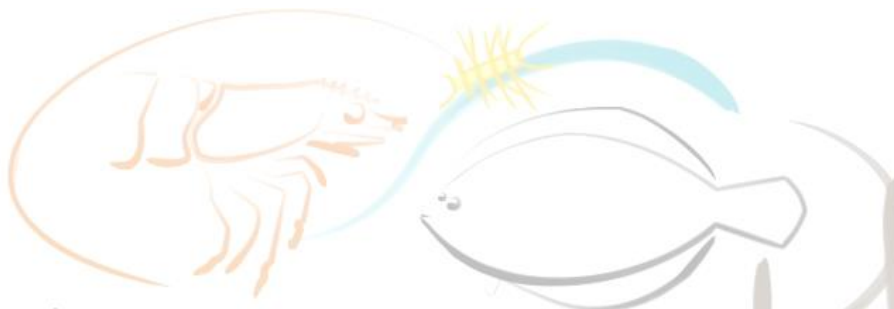




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG

INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFICIÊNCIA DA APLICAÇÃO DE PROBIÓTICO COMERCIAL À BASE DE
Bacillus spp. NA ÁGUA, RAÇÃO E SOLO EM SISTEMA SEMI-INTENSIVO DE
PRODUÇÃO DE CAMARÕES *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931)**

HÉLDER SANTANA DE LIMA

RIO GRANDE, RS

2023

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

**EFICIÊNCIA DA APLICAÇÃO DE PROBIÓTICO COMERCIAL À BASE DE
Bacillus spp. NA ÁGUA, RAÇÃO E SOLO EM SISTEMA SEMI-INTENSIVO DE
PRODUÇÃO DE CAMARÕES *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931)**

Aluno: Hélder Santana de Lima

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Kipper Fóes

Co-orientador: Prof. Dr. Dariano Krummenauer

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande - RS

2023

Ata de Aprovação



DE DEFESA DA 227ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e sete de julho de dois mil e vinte e três, às quatorze horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, do **HÉLDER SANTA DE LIMA**, orientado pelo Prof. Dr. Geraldo Kipper Fôes composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Geraldo Kipper Fôes (orientador – IO/FURG), Prof. Dr. Dariano Krummenauer (coorientador – IO/FURG), Prof. Dr. Wilson Wasielesky (IO/FURG), Prof. Dr. Julio Cesar Zemor (PPGAq/FURG), Prof. Dr. Diogo Luiz Lopes (UDESC). Título da dissertação: “EFICIÊNCIA DA APLICAÇÃO DE PROBIÓTICO COMERCIAL A BASE *Bacillus spp.* NA ÁGUA, NA RAÇÃO E NO SOLO EM SISTEMA SEMI-INTENSIVO NA PRODUÇÃO DO CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)”. Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Geraldo Kipper Fôes, que na qualidade de orientador passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador. Foi decidido que o candidato **HÉLDER SANTANA DE LIMA**, em acordo com seu orientador, deve submeter para apreciação da banca uma nova versão da dissertação, no prazo máximo de 30 dias a contar de hoje. A banca então manifestará por escrito, dando o parecer final sobre a aprovação ou não do candidato. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

PROF. DR. GERALDO KIPPER FÓES (ORIENTADOR – IO/FURG)



Documento assinado
GERALDO KIPPER F
Data: 02/08/2023 12:11
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Documento assinado digitalmente



DARIANO KRUMMENAUER
Data: 04/08/2023 12:16:01 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. DARIANO KRUMMENAUER (COORIENTADOR – IO/FURG)

Documento assinado digitalmente



WILSON FRANCISCO BRITTO WASIELESKY
Data: 05/08/2023 16:13:09 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. WILSON FRANCISCO BRITTO WASIELESKY JR. (IO/FURG)

Documento assinado digitalmente



JULIO CESAR ZEMOR
Data: 07/08/2023 08:50:00 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. JULIO CESAR ZEMOR (PPGAq/FURG)

Documento assinado digitalmente



DIOGO LUIZ DE ALCANTARA LOPES
Data: 28/08/2023 17:09:18 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. DIOGO LUIZ DE ALCÂNTARA LOPES (UDESC)



Hélder Santana de Lima

HÉLDER SANTANA DE LIMA

Documento assinado digitalmente
gov.br RICARDO VIEIRA RODRIGUES
Data: 03/08/2023 12:08:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

Ficha Catalográfica

Ficha Catalográfica

L732e Lima, Hélder Santana de.
 Eficiência da aplicação de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* na água, ração e solo em sistema semi-intensivo de produção de camarões *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931) / Hélder Santana de Lima. – 2023.
 60 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2023.
 Orientador: Dr. Geraldo Kipper Fóes.
 Coorientador: Dr. Dariano Krummenauer.

1. Carcinicultura 2. Qualidade de água 3. Análise de solo
 4. Comunidade microbiana 5. Bioaugmentação I. Fóes, Geraldo Kipper II. Krummenauer, Dariano III. Título.

CDU 639.512

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Índice

	Pág.
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATÓRIA	x
AGRADECIMENTOS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO	15
OBJETIVOS	19
MATERIAIS E MÉTODOS	20
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO	42
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

Tabela 1 – Composição do probiótico comercial utilizado no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo.	23
Tabela 2 - Variáveis físico-químicas da água no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.	29
Tabela 3 – Parâmetros de produção do cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	32
Tabela 4 - Variáveis físico-químicas do solo no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 1).....	35
Tabela 5 - Variáveis físico-químicas do solo após o cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 2).....	35
Tabela 6 – Densidade média das bactérias presentes no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	37
Tabela 7 – Densidade absoluta média das bactérias presentes no solo durante o cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 1, durante o ciclo produtivo).....	40
Tabela 8 – Densidade absoluta média das bactérias presentes no solo do cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 2, após a despesca).....	41

Lista de Figuras

Figura 1 – Contagem das pós-larvas de camarões para estocagem nas unidades experimentais (A), Pós-larvas de camarões prontas para serem estocadas (B). (Fonte: Hélder Lima).....	22
Figura 2 – Unidade experimental no início do experimento (A) e unidade experimental ao final do experimento (B). (Fonte: Hélder Lima).....	22
Figura 3 – Unidades experimentais prontas para receberem as pós-larvas. (A) Unidades cheias com água do mar em salinidade 30, (B) Sistema de cultivo pronto para início do experimento, com aeração em pleno funcionamento e telas para evitar escape. (Fonte: Hélder Lima).....	24
Figura 4 – Placa de petri com Irgalan Black para escurecer os filtros (A) e Seringas com laranja de Acridina, Óleo de imersão e Água destilada (B). (Fonte: Hélder Lima).....	27
Figura 5 – Torres onde ficam localizados os filtros para secarem através da bomba a vácuo (A); Filtros sendo colocados nas lâminas para posterior análise (B). (Fonte: Hélder Lima).....	28
Figura 6- Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) de NAT (Nitrogênio Amoniacal Total) no cultivo de camarão <i>P. vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	30
Figura 7 - Concentrações (média $\pm$ desvio padrão) de nitrogênio-nitrito no cultivo de camarão <i>P. vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comer.....	30
Figura 8 - Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) da alcalinidade no cultivo de camarão <i>P. vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	31
Figura 9 - Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) da quantidade de sólidos suspensos totais na água no cultivo de camarão <i>P. vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	31
Figura 10 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) do disco de Secchi no cultivo de camarão <i>P. vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	32

Figura 11 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) do peso final no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	33
Figura 12 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da sobrevivência no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	33
Figura 13 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da conversão alimentar aparente no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	34
Figura 14 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da matéria orgânica no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	36
Figura 15 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância inicial de vibrios e bacilos no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	37
Figura 16 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância na metade do período experimental de vibrios e bacilos no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	37
Figura 17 – Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância final de vibrios e bacilos no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	38
Figura 18 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial (A) e final (B) de vibrios no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	38
Figura 19 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial (A) e final (B) de bacilos no cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	39

Figura 20 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância de vibrios e bacilos inicial e final no solo do cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	40
Figura 21 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial e final de vibrios e bacilos no solo durante o cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	40
Figura 22 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial de vibrios e bacilos no solo durante o cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	42
Figura 23 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância inicial e final de vibrios e bacilos no solo após o cultivo de camarão <i>Penaeus vannamei</i> em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.....	43

Dedico este trabalho à minha família, por todo apoio e força durante essa jornada.

“Aí, maloqueiro, aí, maloqueira

Levanta essa cabeça

Enxuga essas lágrimas, certo? (Você memo)

Respira fundo e volta pro ringue (vai)

Cê vai sair dessa prisão

Cê vai atrás desse diploma

Com a fúria da beleza do Sol, entendeu?

Faz isso por nós

Faz essa por nós (vai)

Te vejo no pódio”

AmarElo – Emicida

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo o que me foi proporcionado durante os anos de pós-graduação, por ter me dado coragem e força para concluir essa etapa da minha vida.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo subsídio de bolsa de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Geraldo Kipper Fóes (orientador), ao Prof. Dr. Dariano Krummenauer (co-orientador) e ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky pela paciência, dedicação e ensinamentos.

Aos meus amigos da pós-graduação, que sempre estiveram presente durante toda a minha jornada. E aos colegas do laboratório de carcinocultura por todos os finais de semana compartilhados para realização desta pesquisa e, em especial, a Ana Paula, Bianca Ramiro, Bruna Bueno, Jade Marcel, Jéssica Macedo, Maria de Fátima, Missileny Xavier, Otávio Augusto, Pedro Paiva e Raysa Sena pelos momentos de descontração e ajuda.

Aos meus familiares, em especial meus pais Cláudio José de Lima e Marcia Maria Santana de Lima pelo amor, dedicação, carinho, apoio e exemplo durante toda essa jornada. E a todos aqueles que, de alguma forma, se fizeram presente durante essa etapa.

RESUMO

Nos últimos anos foram observados surtos de doenças relacionados ao cultivo intensivo de camarões. Para conter tais surtos, o uso do probiótico vem sendo uma

importante alternativa. Alguns estudos apontam que eles auxiliam na melhoria da qualidade do ambiente de cultivo, ajudam na inibição do crescimento de patógenos, aumentam a sobrevivência e produção do camarão. Partindo desse pressuposto, com o presente estudo, temos o objetivo de avaliar os efeitos da utilização de probióticos na água e no solo de viveiros no cultivo de camarão *Penaeus vannamei*. O experimento foi realizado durante setenta e nove dias, contando com três tratamentos e três repetições, totalizando 9 unidades experimentais com volume útil de 1.000 L, sendo estocados 50 camarões m⁻² em cada unidade. Os tratamentos foram: Cultivo de camarão sem dosagem de probiótico (CO), Cultivo de camarão com meia dosagem de probiótico (L50) e Cultivo de camarão com dose completa de probiótico (L100). Para isso solo de viveiro de cultivo de camarões foi adicionado na espessura de 10 cm no fundo das unidades experimentais. As coletas de solo para análise foram realizadas no dia do povoamento (dia zero), na metade do período experimental (dia 25), no dia da despesca (dia 49), sete dias após a despesca (dia 56) e quatorze dias após a despesca (dia 63). As amostras foram analisadas quanto o pH, matéria orgânica e relações molares. Foram analisadas as variáveis físico-químicas da água, a comunidade microbiana da coluna d'água e no solo. Os camarões passaram por biometrias quinzenalmente para determinar o crescimento e ajuste da quantidade de ração ofertada. No final do experimento todos os camarões foram pesados para determinar o ganho de biomassa, taxa de crescimento específico, peso médio final, fator de conversão alimentar, sobrevivência e produtividade. Foi testado a homogeneidade das variâncias e normalidade dos dados e para comparação dos tratamentos entre si, utilizado ANOVA. Os tratamentos L50 e L100 apresentaram melhores índices no desempenho zootécnico e uma maior concentração de bactérias benéficas quando comparado ao tratamento CO. Conclui-se que a aplicação do probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* no cultivo independente da dosagem testada, proporcionou melhor desempenho zootécnico aos camarões e melhor constituição bacteriana no solo.

Palavras-chave: carcinicultura, qualidade de água, análise de solo, comunidade microbiana, bioaugmentação.

ABSTRACT

In recent years, disease outbreaks related to intensive shrimp farming have been observed. To contain such outbreaks, the use of probiotics has been an important

alternative. Some studies point out that they help to improve the quality of the culture environment, help to inhibit the growth of pathogens, increase the survival and production of shrimp. Based on this assumption, with the present study, we aim to evaluate the effects of using probiotics in the water and soil of ponds in the cultivation of shrimp *Penaeus vannamei*. The experiment was carried out for seventy-nine days, with three treatments and three repetitions, totaling 9 experimental units with a useful volume of 1,000 L, with 50 shrimp m² stored in each unit. The treatments were: Shrimp culture without probiotic dose (CO), Shrimp culture with half probiotic dose (L50) and Shrimp culture with full probiotic dose (L100). Soil from a shrimp farm was added 10 cm thick at the bottom of the experimental units. Soil samples for analysis were carried out on the day of planting (day zero), in the middle of the experimental period (day 25), on the day of harvesting (day 49), seven days after harvesting (day 56) and fourteen days after harvesting (day 63). The samples were analyzed for pH, organic matter and molar ratios. The physical-chemical variables of the water, the microbial community in the water column and in the soil were analyzed. Shrimp underwent biweekly biometrics to determine growth and adjust the amount of feed offered. At the end of the experiment, all shrimp were weighed to determine biomass gain, specific growth rate, average final weight, feed conversion factor, survival and productivity. The homogeneity of the variances and normality of the data were tested and for comparison of the treatments among themselves, ANOVA was used. The L50 and L100 treatments showed better indices in zootechnical performance and a higher concentration of beneficial bacteria when compared to the CO treatment. It is concluded that the application of commercial probiotic based on *Bacillus* spp. in cultivation, regardless of the dosage tested, provided better zootechnical performance to shrimp and better bacterial constitution in the soil.

Keywords: shrimp farming, water quality, soil analysis, microbial community, bioaugmentation.

1 - INTRODUÇÃO

Mesmo com a crise da pandemia de COVID-19 que assolou todo o mundo, a aquicultura marinha mundial continuou crescendo e produziu 87,5 milhões de toneladas de animais aquáticos no ano de 2020. Desse total, 11,237 milhões de toneladas são procedentes da produção de crustáceos, onde a espécie *Penaeus vannamei* apresentou cerca de seis milhões de toneladas desse total. Representando assim 51,7% de toda produção mundial aquícola de crustáceos. (FAO, 2022). Porém se essa atividade econômica for mal gerida, pode contribuir para a degradação ambiental durante o processo produtivo resultando na contaminação do solo e da água (Carvalho Pereira et al., 2022).

Com base nos dados obtidos pela FAO (2022), podemos afirmar que a carcinicultura está em crescente aumento e para dar suporte a esse aumento estão sendo aprimoradas e/ou desenvolvidas novas tecnologias de cultivo. Como exemplo dessas tecnologias podemos citar o uso da biorremediação ou bioaugmentação, com a utilização de probióticos, que visa reduzir a produção de resíduos e contaminações.

Os sistemas semi-intensivos e intensivos de cultivo consistem na utilização de densidades maiores de indivíduos por área, quando comparado ao sistema extensivo, resultando em maior necessidade no fornecimento de alimentação suplementar (Tacon et al., 2013). Segundo Crab et al. (2007) em média aproximadamente 75% (ração não consumida e excreção) dos nutrientes contidos na ração acaba na água e consequentemente virando matéria orgânica.

Ao longo do ciclo de cultivo, com o aumento no fornecimento de ração, de metabólitos de camarão e outros compostos (organismos mortos), essa matéria orgânica vai se depositando no fundo do viveiro e com isso, deteriorando o solo. Essa matéria orgânica pode demandar oxigênio de forma excessiva, resultando em desequilíbrio no ambiente de cultivo, que pode prejudicar o crescimento e até a sobrevivência dos camarões, principalmente porque esses animais vivem na interface água-solo. Sendo assim, o solo de viveiros escavados pode ser um dos principais problemas para produção de camarões marinhos. Portanto, boa qualidade do solo irá auxiliar no controle e estabilidade das variáveis físico-químicas da coluna de água. (Boyd, 1990; Ritvo et al., 1998; Avnimelech e Ritvo, 2003; Avnimelech et al., 2004; Lemonnier et al., 2004).

Tradicionalmente, os solos de viveiros são tratados com secagem por exposição ao sol e calagem. Para secagem do solo, o viveiro é drenado e exposto ao sol durante período entre sete e quinze dias aproximadamente, a fim de reduzir a matéria orgânica no solo do fundo do viveiro. O tratamento com o calcário (calagem) é utilizado para neutralização da acidez no solo do viveiro. Esses procedimentos resultam em arejamento do solo e redução ou eliminação os organismos indesejáveis (Boyd, 1990).

Atualmente são utilizados também outros tratamentos de solo, como por exemplo a biorremediação, que é denominada como o processo, através do qual a aceleração da degradação dos compostos indesejáveis no cultivo se dá por intermédio da remoção ou redução biológica dos poluentes, compostos nitrogenados e fosfatados, sulfeto de hidrogênio, matéria orgânica do solo e outros (Vezzulli et al., 2004; Wu et al., 2016; Coelho, 2018). No processo de biorremediação pode ser usado microrganismos alóctones, que são adquiridos por meio de cultura ou outras fontes externas, mais comumente chamados na aquicultura como probióticos (Aguilar, 2018). Uma das técnicas de biorremediação é a bioaugmentação que pode ser definida como a inoculação de microrganismos externos do meio ambiente, tais como: fungos e bactérias (probióticos), a fim de tratar locais contaminados ou decompor poluentes alvo (Gaylarde et al., 2005; Bisognin et al., 2018).

Durante as últimas décadas foram observados surtos de doenças que impactaram negativamente os sistemas tradicionais de cultivo de camarões. Isso foi devido principalmente à intensificação dos sistemas de produção a fim de aumentar a produtividade, prejudicando a gestão operacional das fazendas em todo o mundo, ocasionando grandes perdas econômicas em detrimento da alta mortalidade (Lightner & Redman, 1998; Mishra et al., 2008). Como exemplo dessas doenças podem ser citados o vírus da síndrome da mancha branca (WSSV), o vírus da síndrome de taura (TSV) e o vírus da cabeça amarela (YHV) (Lo, et al., 2012; Cowley, et al., 2012; Sookruksawong, et al., 2013). Infecções bacterianas oportunistas também causam sérias perdas nos ambientes de criação de camarões marinhos. Algumas espécies de *Vibrio spp.* foram relatadas como patogênicas. As vibrioses estão em evidência quando falamos de doenças com origem bacteriana, que podem ser encontradas na água e no solo do cultivo e que também podem estar presentes na microbiota intestinal de camarões sadios (Dourado, 2009).

Em relação a doenças que podem acometer o *P. vannamei* podemos citar a doença da necrose hepatopancreática aguda (AHPND), também conhecida como síndrome da mortalidade precoce (EMS), que é uma doença aguda que pode causar mortalidade de até 90% dos animais em 35 dias em viveiros infectados (Donald et al., 2012). A AHPND causa uma descamação aguda de células epiteliais do túbulo hepatopancreático (Lightner et al., 2012). Foi identificado como agente causador dessa doença um plasmídeo que possui a toxina PirAB^{vp} (FAO, 2013) e que pode estar presente na bactéria *Vibrio parahaemolyticus* e transferir esse plasmídeo para outras espécies de *Vibrio sp.* (Lee et al., 2015; Dong et al., 2019).

Para prevenir e controlar os problemas que estão relacionados a doenças na carcinicultura, começou a se fazer uso de agentes químicos (antibióticos), acreditando que era a melhor opção para isso. Porém, esses agentes químicos possuem efeitos paralelos, resultando na resistência das bactérias patogênicas e podendo causar danos à saúde humana. (Kumar et al., 2020).

Devido ao uso generalizado e inadequado de antimicrobianos, gerou um risco de resistência dos patógenos para humanos e animais aquáticos. O uso de antibióticos em pequenas concentrações, como promotor de crescimento, pode levar a resistência de bactérias no intestino humano e de organismos aquáticos (Amagliani e Schiavano, 2012; Gastalho et al., 2014). Isso pode se tornar um fator de risco para os consumidores, pois resíduos de antibióticos podem gerar toxicidade e/ou alergias.

Nguyen et al. (2016) evidenciaram em estudo que bactérias resistentes podem ser transferidas para humanos por meio do consumo de produtos procedentes da aquicultura ou por transferência genética indireta. Devido à preocupação com os antibióticos surgiu uma procura por uma nova tecnologia que diminuísse o risco no consumo de animais cultivados e o impacto sobre o meio ambiente.

Entre essas tecnologias surgiu a aplicação de probióticos nos sistemas de cultivo. Os probióticos na aquicultura são organismos que podem ser cultivados ou suplementos microbianos vivos que possuem efeitos benéficos sobre os seus hospedeiros, podendo alterar sua comunidade microbiana intestinal, melhorando suas respostas imunes (Verschuere et al., 2000). Por exemplo, as espécies *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* são bactérias formadoras de esporos e vêm sendo amplamente utilizadas na aquicultura para aumentar o crescimento e a resistência a doenças em camarões cultivados (Cutting,

2011). O uso de probióticos surgiu como uma alternativa segura frente aos surtos de doenças, na qualidade de agente profilático (Balcázar et al., 2006). Os probióticos do gênero *Bacillus spp.* tendem a diminuir a contagem de *Vibrio spp.* (bactérias patogênicas), através da competição por nutrientes e espaço, e aumenta a contagem de bactérias ácido lácticas, além de aumentar a sua proporção na microbiota intestinal da espécie cultivada (Ramirez et al., 2013; Verschuere et al., 2000).

Hostins et al. (2017) verificaram que nos tratamentos com adição de probióticos, foram encontradas maiores concentrações de bactérias benéficas (*Bacillus spp.*) no intestino dos camarões em relação a bactérias patogênicas (*Vibrio spp.*). E nos tratamentos sem adição de probióticos, foram encontradas maiores concentrações das bactérias patogênicas. Krummenauer et al. (2014) utilizaram camarões que foram cultivados em sistema berçário e que possuíam lesões fluorescentes (bacterianas) na região caudal, onde foi observado que os camarões estavam infectados por *V. parahaemolyticus*, esses camarões foram transferidos para fase de engorda e cultivados utilizando probióticos. Posteriormente, essas lesões não foram mais encontradas, sendo que no tratamento sem adição de probiótico essas lesões persistiram.

Vieira et al. (2010) verificaram que camarões infectados com *V. harveyi* e alimentados com ração suplementada com probióticos apresentam sobrevivência maior do que os camarões alimentados sem a ração suplementada, confirmando o efeito imunoestimulante dos probióticos frente a agentes patogênicos. Nimrat et al. (2008) e Pantjara & Kristanto (2020) confirmaram que a adição de probióticos ao solo do viveiro associado à secagem ou manejo do solo, contribuem para redução das bactérias patogênicas (*Vibrio* e *Pseudomonas*), melhora a qualidade da água e as características físicas do solo (pH e matéria orgânica), na degradação de lodo orgânico tóxico em matéria orgânica estabilizada, aumenta as taxas de sobrevivência, produtividade e melhorando a conversão alimentar dos camarões.

A carcinicultura brasileira está em crescente aumento e isso vem se intensificando, no ano de 2021 foram produzidas 78,637 mil toneladas de camarão, resultando em um aumento de 18,14% quando comparado com a produção de 2020 (IBGE, 2022). Esse aumento pode trazer consequências não intencionais, como a gestão do impacto ambiental das águas residuais e do solo do cultivo (Iber e Kasan 2021). Em decorrência desse aumento da produção aquícola, há um aumento na quantidade de águas residuais

eutróficas a serem tratadas. Vem sendo muito utilizados e estudados métodos físicos, químicos e biológicos para remediação da água e sedimentos ricos em nutrientes (Wang et al. 2017). Sendo assim, pesquisas como o presente estudo, que buscam avanços no manejo dos resíduos da carcinicultura, são de extrema importância, pois ajuda a tornar a aquicultura uma prática agrícola sustentável a longo prazo.

Atualmente, existe uma lacuna a ser preenchida com informações técnico-científicas que comprovem os efeitos da utilização de probióticos em sistemas semi-intensivos de cultivo e no solo, pois a maioria dos trabalhos realizados com probióticos são em sistemas intensivos e superintensivos de cultivo e para o solo são em escala laboratorial e não no próprio ambiente de cultivo.

Nesse contexto, o objetivo com o presente estudo é avaliar os efeitos da utilização de diferentes doses de um probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* na água, na ração e no solo em sistema semi-intensivo de cultivo de camarão *Penaeus vannamei*.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Geral

O objetivo geral com esse trabalho é avaliar a influência do uso de diferentes doses de probiótico comercial à base de *Bacillus spp.* no cultivo semi-intensivo do camarão *Penaeus vannamei* e a influência dele no solo pós despesca.

3.2 – Objetivos Específicos

1 - Avaliar a influência do uso de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* e suas diferentes doses na água, solo e matéria orgânica do solo de viveiro de cultivo semi-intensivo de *P. vannamei*.

2 - Avaliar a influência do uso de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* e suas diferentes doses na água do cultivo semi-intensivo de camarão *P. vannamei* sobre as variáveis de qualidade da água.

3 - Avaliar a influência do uso de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* e suas diferentes doses na água e ração sobre o desempenho zootécnico dos camarões em cultivo semi-intensivo de *P. vannamei*.

4 - Avaliar a influência do uso de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* e suas diferentes doses no cultivo semi-intensivo de camarão *P. vannamei* sobre a comunidade microbiana da coluna d'água e solo.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho experimental

O experimento foi realizado durante 79 dias, no Laboratório de Carcinocultura da Estação Marinha de Aquacultura “Professor Marcos Alberto Marchiori”, pertencente ao Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande-FURG (EMA/IO-FURG), localizado na cidade do Rio Grande, RS, Brasil. O experimento foi dividido em duas fases, sendo que a primeira fase do experimento ocorreu durante 49 dias, período de um ciclo de cultivo e a segunda fase de acompanhamento do solo durante 30 dias após a despesca dos camarões.

Foram utilizados juvenis do camarão *Penaeus vannamei* procedentes do laboratório Aquatec Ltda, localizado no município de Canguaretama – Rio Grande do Norte. Após o recebimento, as larvas foram mantidas em um tanque berçário de 237 m² por 30 dias. Posteriormente, os camarões foram transferidos para 12 unidades experimentais, com volume útil de 1.000 L e área de fundo de 1,40 m². Os camarões foram estocados com peso médio inicial de $1,67 \pm 0,32$ g na densidade de 50 camarões m², totalizando 70 camarões por unidade experimental (Figura 1).



Figura 1 – Contagem das pós-larvas de camarões para estocagem nas unidades experimentais (A), Pós-larvas de camarões prontas para serem estocadas (B). (Fonte: Hélder Lima)



Figura 2 – Unidade experimental no início do experimento (A) e unidade experimental ao final do experimento (B). (Fonte: Hélder Lima)

Na primeira fase, os tanques receberam solo arenoso e solo contendo matéria orgânica oriunda de um viveiro de cultivo de camarões (figura 2). Consistindo em 70% de solo arenoso e 30 % de solo com matéria orgânica, misturados e depois transferidos para as unidades experimentais, ficando com uma espessura de 10 cm. Posteriormente, todas as unidades experimentais foram enchidas com água em salinidade 30 (figura 3). Durante o ciclo produtivo foram realizadas trocas de água, seguindo uma metodologia adaptada descrita por Tacon et al. (2005), era renovado a água sempre que a amônia atingia $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e a transparência da água 20 cm.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e contou com três tratamentos e três repetições cada: Controle - CO (Cultivo de *P. vannamei* sem adição de probiótico), L50 (Cultivo de *P. vannamei* e adição de probiótico na metade da concentração sugerida pelo fabricante) e L100 (Cultivo de *P. vannamei* e adição de probiótico na concentração total sugerida pelo fabricante).

A composição do probiótico comercial utilizado está descrita na Tabela 1. A dosagem de probiótico do tratamento L100 foi de $0,3 \text{ kg ton}^{-1}$ na ração e de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ semana⁻¹ na água. Após a drenagem foi aplicada uma dose de probiótico no solo na concentração de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$. O tratamento L50 recebeu a metade da dosagem do L100. Para uso na ração o probiótico após ser pesado, foi adicionado 10 mL de água destilada para sua diluição e depois misturado a ração, esse processo era realizado uma vez por dia na alimentação da tarde. Para uso na água, foi adicionado 50 mL de água destilada para sua diluição e depois distribuído ao longo do tanque de cultivo uma vez por semana. Para uso no solo, foi adicionado 500 mL de água destilada para sua diluição e depois distribuído ao longo do tanque de cultivo uma vez, no dia seguinte após a drenagem dos tanques.

Tabela 1 – Composição do probiótico comercial utilizado no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo.

Composição do probiótico	Concentração
<i>Bacillus subtilis</i>	$4,0 \times 10^{10} \text{ ufc g}^{-1}$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$4,0 \times 10^{10} \text{ ufc g}^{-1}$
Flúor	28 mg kg^{-1}
Glucano	10 g kg^{-1}
Manano	10 g kg^{-1}
Magnésio	$4,8 \text{ g kg}^{-1}$

Sacarose	200 g kg ⁻¹
Sódio	11,9 g kg ⁻¹
Vitamina D	5.000.000UI kg ⁻¹
Vitamina E	10.000 UI kg ⁻¹



Figura 3 – Unidades experimentais prontas para receberem as pós-larvas. (A) Unidades cheias com água do mar em salinidade 30, (B) Sistema de cultivo pronto para início do experimento, com aeração em pleno funcionamento e telas para evitar escape.

A segunda fase foi realizada após o ciclo de engorda e da drenagem das unidades experimentais, a qual consistiu em um tratamento do solo com o mesmo probiótico. Nas unidades experimentais (excetuando-se o tratamento controle), houve aplicação dele no solo no dia seguinte após a drenagem. O período de acompanhamento foi de 30 dias, sendo coletadas amostras de solo no dia da despesca, sete, quatorze e trinta dias após a despesca. Após a despesca, a cada cinco dias o solo era molhado com dois litros de água para evitar a sua dessecação e morte dos microrganismos.

Manejo Alimentar

Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial GUABI® (40 %). Com o objetivo de controlar o consumo, foram colocados 10 % da quantidade da ração em bandejas de alimentação e o restante distribuído a lanço no

tanque. A taxa de arraçoamento no início do cultivo seguiu de acordo com uma tabela de alimentação descrita em artigo de revisão de Jory et al. (2001). Depois de duas semanas de cultivo os ajustes nas taxas de arraçoamento foram realizados seguindo a metodologia de Garza de Yta et al. (2004).

Análises de Qualidade de Água

Diariamente foram mensuradas as variáveis da água, temperatura e oxigênio dissolvido as 08:00 e 16:00 h; salinidade e pH as 08:00 h com auxílio de oxímetro digital (YSI® Pro-20), refratômetro e pHmetro digital (Mettler Toledo®). Valores de amônia total (N-AT mg L⁻¹), nitrogênio do nitrito (N-NO₂⁻ mg L⁻¹) e a transparência da água (cm) foram medidos a cada três dias, sólidos suspensos totais (SST), nitrogênio do nitrato (N-NO₃⁻), ortofosfato (P-PO₄⁻³) e alcalinidade a cada sete dias. As análises de amônia total seguiram metodologia descrita em UNESCO (1983), nitrogênio do nitrito pela metodologia descrita em Bendschneider & Robinson (1952), para mensurar a transparência da água foi utilizado disco de Secchi, nitrogênio do nitrato e ortofosfato por Aminot & Chaussepied (1983). A alcalinidade foi determinada seguindo a metodologia descrita em APHA (1998). Baseando-se no método de Strickland & Parsons (1972) foi coletada água para análise de sólidos em suspensão (partículas maiores que 45 µm), onde o peso dos sólidos suspensos totais foi determinado por gravimetria a partir da filtração 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 em estufa por aproximadamente 24 h, a 60 °C e, posteriormente, pesados em balança analítica (Sartorius MC1, Analytic AC 210 S) com precisão de 0,0001 g para determinação do peso final (AOAC, 2000).

Desempenho Zootécnico

O peso médio dos camarões foi monitorado quinzenalmente para determinar o crescimento e ajuste da quantidade de ração ofertada. Ao final do experimento, todos os camarões foram pesados para determinar o ganho de biomassa (g), taxa de crescimento semanal, peso médio final (g), conversão alimentar aparente (CAA), sobrevivência (%) e produtividade (kg/m³), determinados com base nas seguintes equações:

- Ganho de biomassa (g) = biomassa final (g) – biomassa inicial (g);

- Taxa de crescimento semanal = [peso final (g) – peso inicial (g)] * tempo (semanas)⁻¹;
- Peso final (g) = biomassa final (g) * número de indivíduos ao final do cultivo⁻¹;
- CAA = alimento consumido (peso seco) * ganho de biomassa⁻¹;
- Sobrevivência (%) = (número de indivíduos ao fim do experimento * número inicial de indivíduos⁻¹) x 100;
- Produtividade (kg m⁻³) = biomassa final*volume da unidade experimental (m³)⁻¹.

Análise do solo das unidades experimentais

Amostras de solo das unidades experimentais foram coletadas em sacos plásticos esterilizados e transportadas para o Laboratório de Análise de Solos pertencente ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Pelotas, RS. As análises realizadas no laboratório de solos foram: pH, matéria orgânica (digestão úmida), micronutrientes e relações molares (Ca: Mg, Ca: K e Mg: K). Para as análises de solo foram utilizados: diagnóstico para acidez do solo (pH em água 1: 1; Ca, Mg trocáveis extraídos com KCL 1,0 mol/L e CTC a pH 7,0); matéria orgânica por ingestão úmida; diagnóstico para micronutrientes e relações molares (S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P). As coletas de solo foram realizadas no dia do povoamento (dia zero), metade do período experimental (dia 25), no dia da despesca (dia 49), sete dias após a despesca (dia 56), quatorze dias após a despesca (dia 63) e trinta dias após a despesca (dia 79). Após a despesca, o solo das unidades experimentais foi mantido úmido para evitar a dessecação a morte dos microrganismos.

Análise de Bactérias

Para a quantificação das bactérias presentes na água de cultivo foram coletadas amostras de água (18 mL), uma vez por semana, de cada unidade experimental. Para a quantificação dos microrganismos presentes no solo de cultivo foram coletadas amostras de 10 mL de solo e 8,0 mL de solução salina, uma vez por semana, de cada unidade experimental.

As amostras foram fixadas em formalina 4,0 % e mantidas em frascos âmbar para posterior análise. Posteriormente, as amostras previamente fixadas foram filtradas em filtros de membrana de policarbonato (Nuclepore, 0,2 µm de poro e 2,5 mm de diâmetro)

previamente escurecidos com irgalan black e coradas com laranja de acridina 1,0 % (figura 4 e 5), na concentração de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Hobbie et al. 1977). As bactérias presentes foram fotografadas com uso de câmera fotográfica acoplada a microscópio de epifluorescência (Axioplan Zeiss), com magnificação de 1000X, para posterior contagem de 30 campos escolhidos aleatoriamente (Utermöhl, 1958).

As bactérias foram classificadas pelo seu formato e divididas em quatro grupos: Cocoides, Filamentosas, Bacilos e Vibrios. Para determinar a abundância foi utilizado a seguinte fórmula: $\text{organismos mL}^{-1} = n^{\circ} \text{ médio de bactérias por campo} \times F$, onde $F = \{(\text{área de filtração}/\text{área do campo de contagem}) / \text{volume amostra filtrada em mL}\}$. Já para dominância (%) foi determinado a partir da seguinte fórmula: $V_g V_t^{-1} \times 100$, Onde V_g é o valor de cada classificação de bactérias presentes na amostra, V_t é o valor total de todas as bactérias presentes na amostra.



Figura 4 – Placa de Petri com irgalan black para escurecer os filtros (A) e Seringas com laranja de acridina, óleo de imersão e água destilada (B). (Fonte: Hélder Lima)

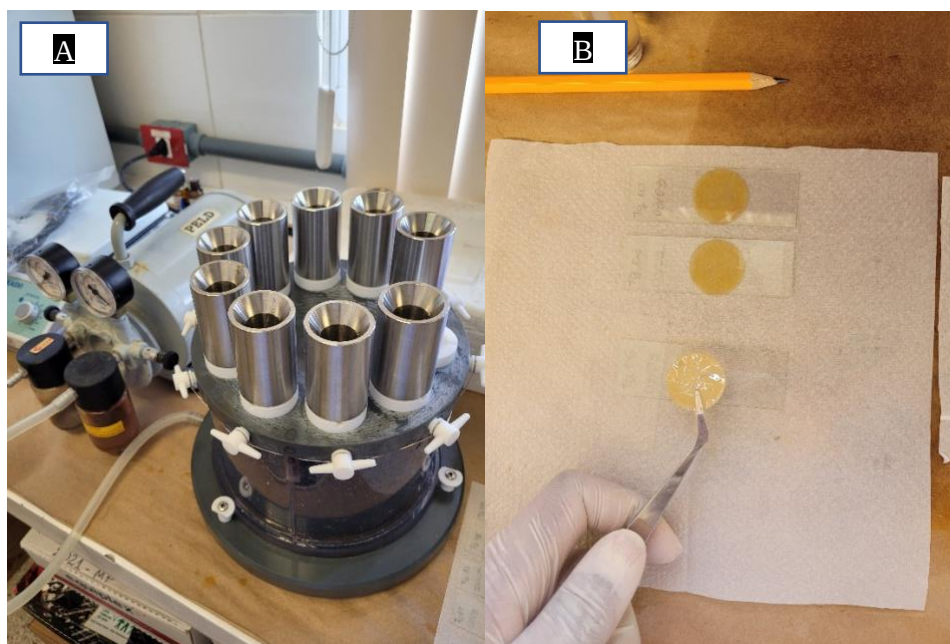


Figura 5 – Torres onde ficam localizados os filtros para secarem através da bomba a vácuo (A); Filtros sendo colocados nas lâminas para posterior análise (B). (Fonte: Hélder Lima)

Análise Estatística dos Dados

A homoscedasticidade das variâncias e normalidade dos dados foram testados pelos testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Para comparação entre os tratamentos ao longo do tempo foi utilizada ANOVA de uma via e quando observada diferença entre os tratamentos, utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para satisfazer os pressupostos da ANOVA, os dados de sobrevivência foram convertidos em arco seno da raiz quadrada (Zar, 2010).

5 - RESULTADOS

As variáveis físico-químicas da água (médias e desvios padrão) estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Variáveis físico-químicas da água no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Variáveis	Tratamentos		
	CO	L50	L100
Temperatura Manhã (°C)	25,33±2,28	25,45±2,30	25,71±2,31
Temperatura Tarde (°C)	28,79±2,77	28,92±2,80	29,04±2,80
OD Tarde (mg L ⁻¹)	6,23±0,59	6,27±0,55	6,03±0,72
OD Manhã (mg L ⁻¹)	5,91±0,75	5,92±0,77	6,26±1,06
Salinidade (g L ⁻¹)	35,09±2,00	35,16±2,09	34,76±2,07
pH	8,00±0,13	8,03±0,14	7,97±0,18
Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	729,58±302,80	789,38±377,45	727,50±359,10
Transparência (cm)	24,69±5,70	23,08±4,68	24,37±5,43
NAT (mg L ⁻¹)	1,09±0,74	1,44±0,84	1,42±1,02
N-Nitrito (mg L ⁻¹)	1,36±1,27	1,73±1,40	1,17±0,92
N-Nitrato (mg L ⁻¹)	1,27±1,23	0,71±0,70	0,96±0,83
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	170,41±12,40	180,42±14,41	177,92±4,69
Ortofosfato (mg L ⁻¹)	0,38±0,17	0,46±0,25	0,34±0,16
Uso de água (%)	10,2±3,4	10,8±3,5	9,8±3,18

Oxigênio Dissolvido (OD), Nitrogênio Amoniacal Total (NAT).

Com relação as análises de qualidade de água, pôde ser observado que não houve diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos para as variáveis analisadas. Abaixo podemos observar os gráficos com as variações do nitrogênio amoniacal total (Figura 6), nitrogênio do nitrito (Figura 7), alcalinidade (Figura 8), sólidos suspensos (Figura 9) e transparência da água (Figura 10) ao longo do período experimental.

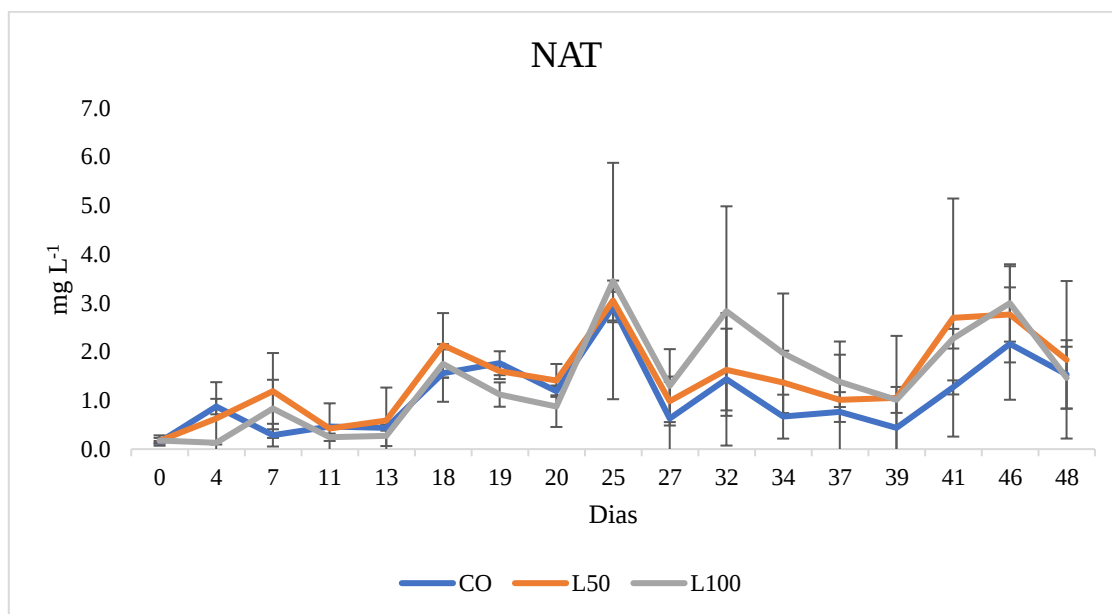


Figura 6 - Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) de NAT (Nitrogênio Amoniacal Total) no cultivo de camarão *P. vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial

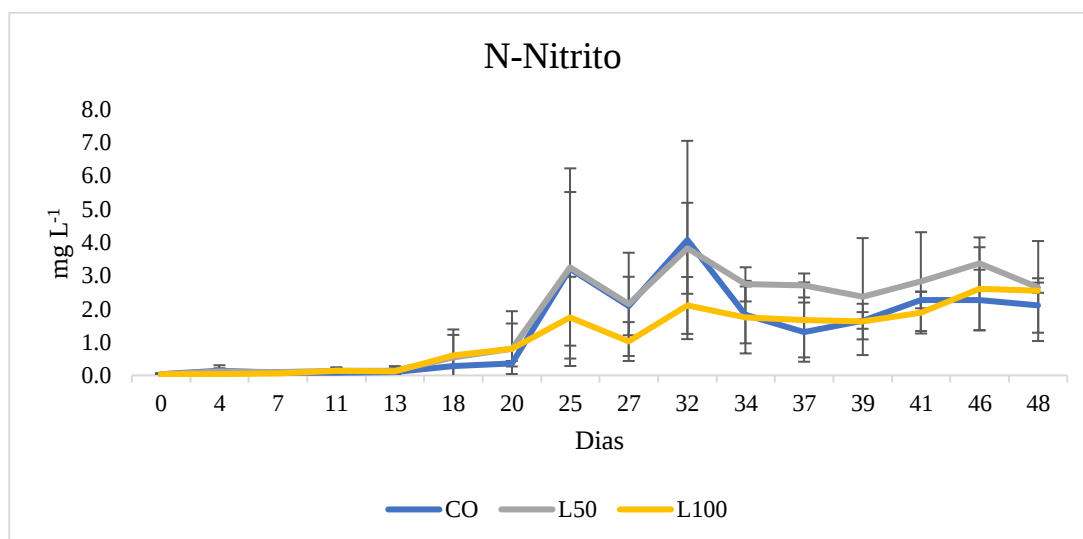


Figura 7- Concentrações (média $\pm$ desvio padrão) de nitrogênio-nitrito no cultivo de camarão *P. vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

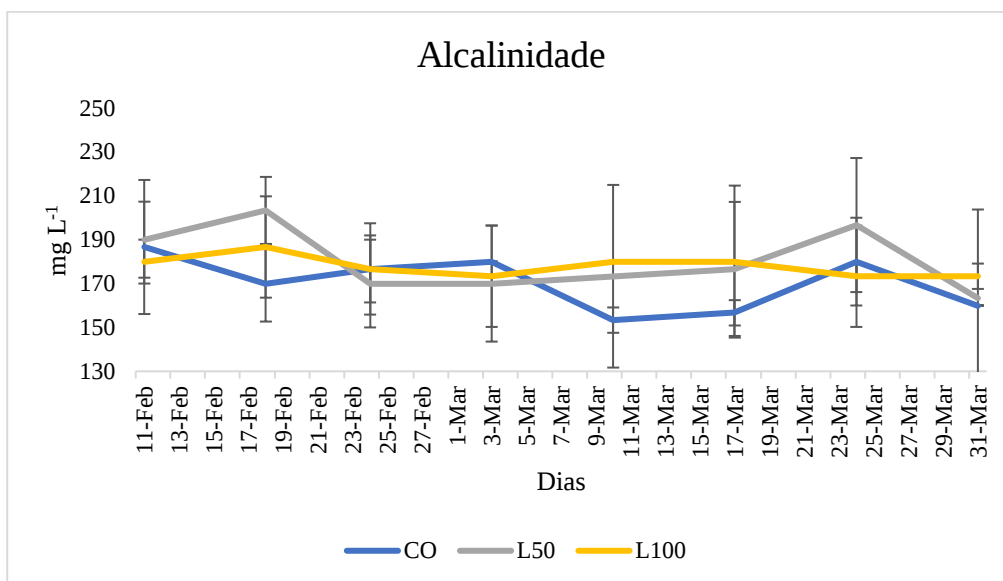


Figura 8 - Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) da alcalinidade no cultivo de camarão *P. vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

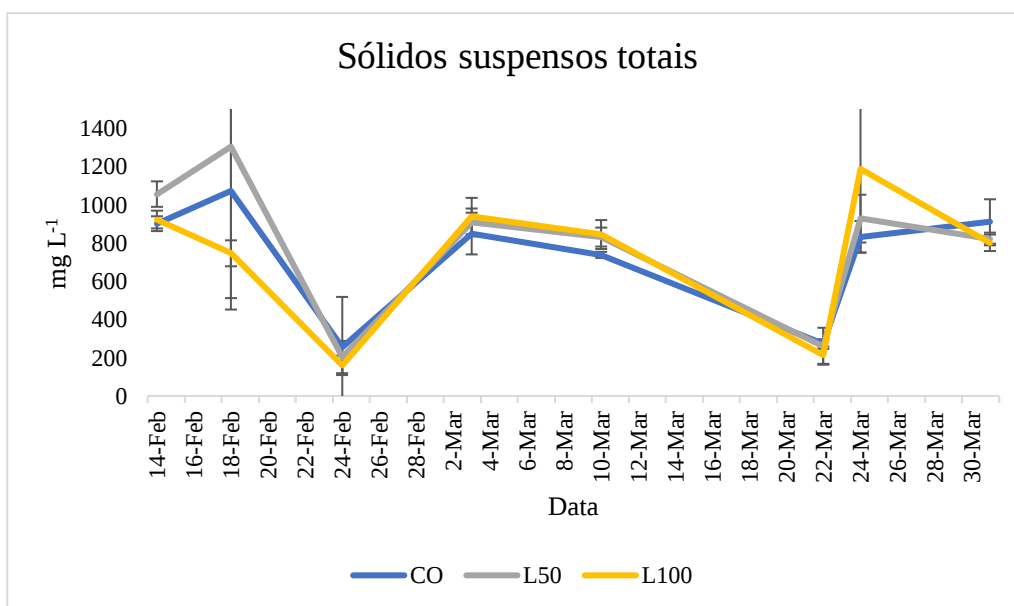


Figura 9 - Concentrações (médias $\pm$ desvios padrão) da quantidade de sólidos suspensos totais na água no cultivo de camarão *P. vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

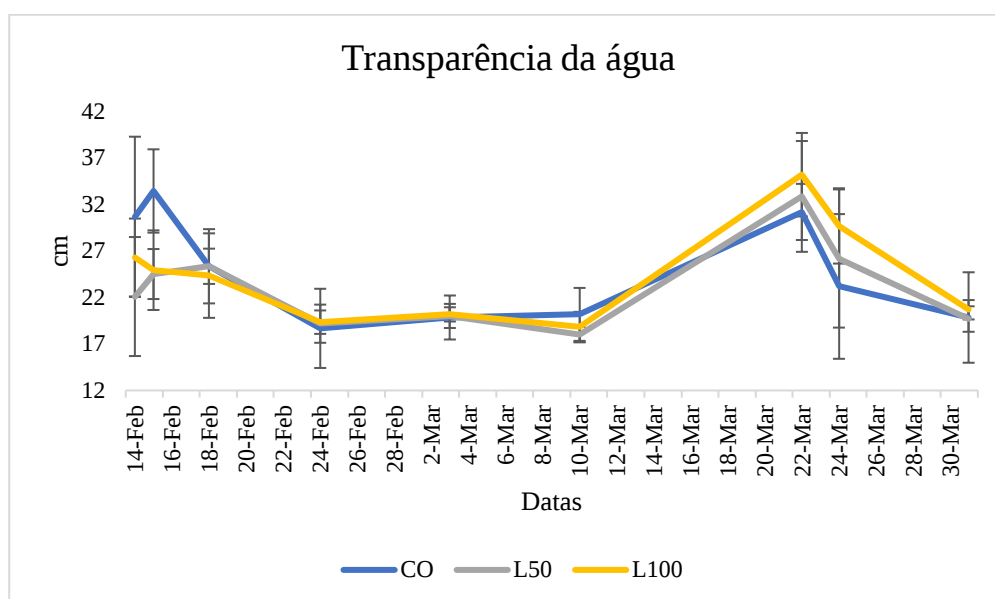


Figura 10 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da transparência da água no cultivo de camarão *P. vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Os parâmetros do desempenho zootécnico estão descritos na Tabela 3, e como pode ser observado os tratamentos que foram utilizados probióticos (L50 e L100) obtiveram um melhor desempenho zootécnico (maior peso final, crescimento semanal, sobrevivência, produtividade, biomassa e conversão alimentar) quando comparado com o tratamento CO.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenho zootécnico de camarões *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Parâmetros	Tratamentos		
	CO	L50	L100
Peso Inicial (g)	1,67 $\pm$ 0,32	1,67 $\pm$ 0,32	1,67 $\pm$ 0,32
Peso Final (g)	11,19 $\pm$ 1,89 ^b	13,01 $\pm$ 1,91 ^a	13,47 $\pm$ 1,93 ^a
Crescimento Semanal (g)	1,36 $\pm$ 0,13 ^b	1,62 $\pm$ 0,10 ^a	1,69 $\pm$ 0,10 ^a
Sobrevivência (%)	79,34 $\pm$ 2,52 ^b	90,61 $\pm$ 2,86 ^a	92,22 $\pm$ 1,78 ^a
Produtividade (kg/ha)	4.439 $\pm$ 672 ^b	5.895 $\pm$ 412 ^a	6.212 $\pm$ 783 ^a
Biomassa (kg/tq)	0,62 $\pm$ 0,11 ^b	0,83 $\pm$ 0,08 ^a	0,87 $\pm$ 0,04 ^a
Ração (kg)	1,02 $\pm$ 0,09	1,02 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,04
Conversão Alimentar	2,03 $\pm$ 0,1 ^b	1,44 $\pm$ 0,07 ^a	1,36 $\pm$ 0,06 ^a

Observações: Os dados correspondem a média de réplicas $\pm$ desvio padrão. Os resultados foram avaliados pela ANOVA e o teste de Tukey. Os valores médios na mesma linha com diferentes letras representam diferenças significativas ($p < 0.05$).

Houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para os seguintes parâmetros: peso final, crescimento semanal, sobrevivência, produtividade, biomassa e conversão alimentar. Onde os tratamentos L50 e L100 apresentaram o melhor desempenho e diferiram estatisticamente do tratamento CO.

A figura 11 apresenta os pesos médios finais, na qual podem ser observadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$), sendo que os tratamentos com aplicação de probiótico alcançaram maiores pesos finais.

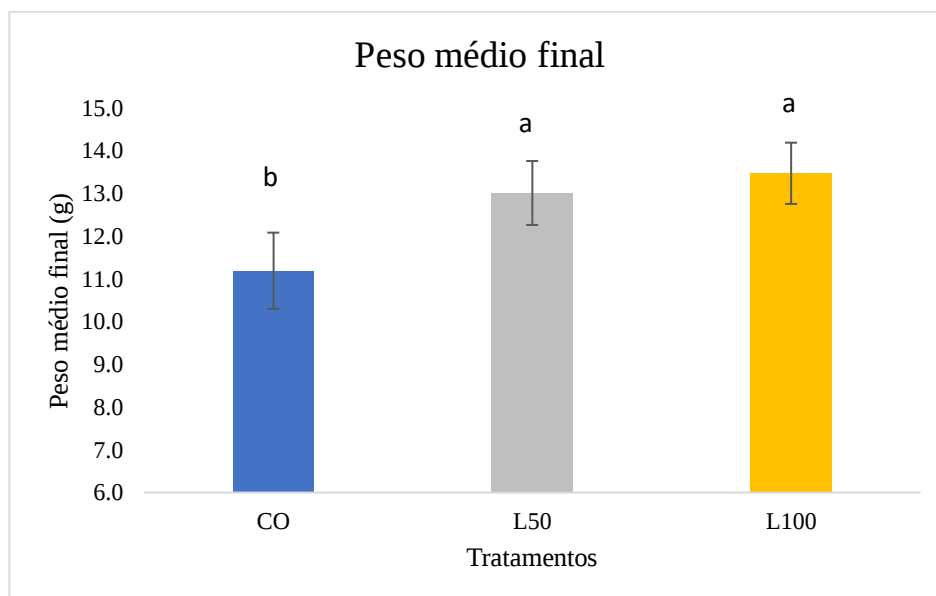


Figura 11 - Valores (média $\pm$ desvio padrão) do peso final no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

A figura 12 está apresenta o gráfico da sobrevivência, que pode ser observado a diferença estatística ($p < 0,05$), onde nos tratamentos com aplicação de probiótico obtiveram uma melhor sobrevivência.

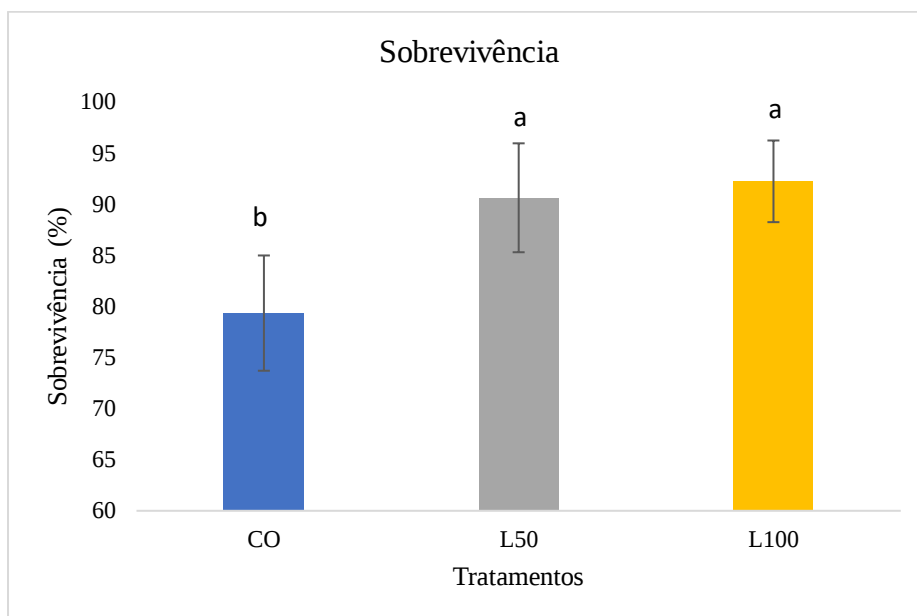


Figura 12 - Valores (média $\pm$ desvio padrão) da sobrevivência no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Na figura 13 está representado o gráfico da conversão alimentar aparente, que pode ser observado a diferença estatística ($p < 0,05$), onde nos tratamentos com aplicação de probiótico obtiveram um menor fator de conversão alimentar.

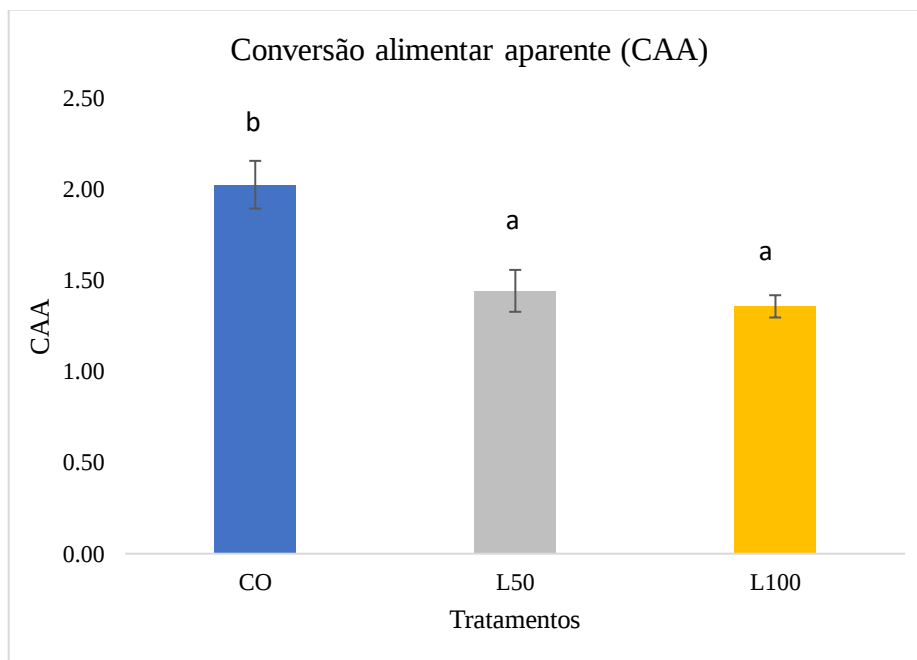


Figura 13 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da conversão alimentar aparente no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Na Tabela 4 pode ser observado os dados da análise do solo na fase 1 do período experimental. Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) para as variáveis analisadas. O pH do solo se mostrou alcalino em ambas as fases do experimento (Tabela 4 e 5).

Tabela 4 - Variáveis físico-químicas do solo no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 1, durante o ciclo produtivo).

Variáveis	Tratamentos		
	CO	L50	L100
M.O.	0,47±0,07	0,44±0,09	0,44±0,08
pH	8,27±0,12	8,37±0,07	8,34±0,14
S	130,9±59,2	127,9±66,7	116,1±48,8
CTC pH7	25,20±7,28	22,37±5,59	20,03±10,58
Ca/Mg	1,05±0,08	1,07±0,26	0,96±0,19
Ca/K	5,75±3,00	6,15±3,12	6,20±3,34
Mg/K	5,58±2,57	5,75±2,60	6,37±2,20

Os dados correspondem às médias $\pm$ desvio padrão. Matéria orgânica (M.O.), Enxofre (S), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Potássio (K), capacidade de troca de cátions (CTC).

Conforme pode ser observado na tabela 5, não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) para as variáveis analisadas.

Tabela 5 - Variáveis físico-químicas do solo após o cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 2, após a despesca).

Variáveis	Tratamentos		
	CO	L50	L100
M.O.	0,45±0,09	0,45±0,07	0,44±0,18
pH	8,42±0,11	8,50±0,03	8,48±0,10
S	154,0±37,4	159,7±25,0	171,3±17,8
CTC pH7	25,21±14,92	24,54±14,41	27,82±17,50
Ca/Mg	1,30±0,62	1,21±0,67	1,15±0,60
Ca/K	4,78±0,96	4,63±1,53	4,50±1,35
Mg/K	4,07±0,98	4,21±0,85	4,24±0,83

Os dados correspondem a média de réplicas $\pm$ desvio padrão. Matéria Orgânica (M.O.), Enxofre (S), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Potássio (K), Capacidade de Troca de Cátions (CTC).

Na figura 14 está representado o gráfico da matéria orgânica no solo durante as duas fases do experimento. Como pode ser observado no gráfico abaixo vemos que na primeira fase do experimento, no 25º dia de cultivo houve uma diminuição da matéria orgânica nos tratamentos com adição de probiótico.

Observando a segunda fase do experimento, os valores de matéria orgânica foram menores após a aplicação do probiótico no solo (sete dias após o cultivo) e que esses valores foram aumentando conforme o tempo. O que nos mostra que após o cultivo com a aplicação do probiótico no solo com a função de biorremediador depois de sete dias da aplicação houve uma redução de 50% na matéria orgânica no tratamento L100.

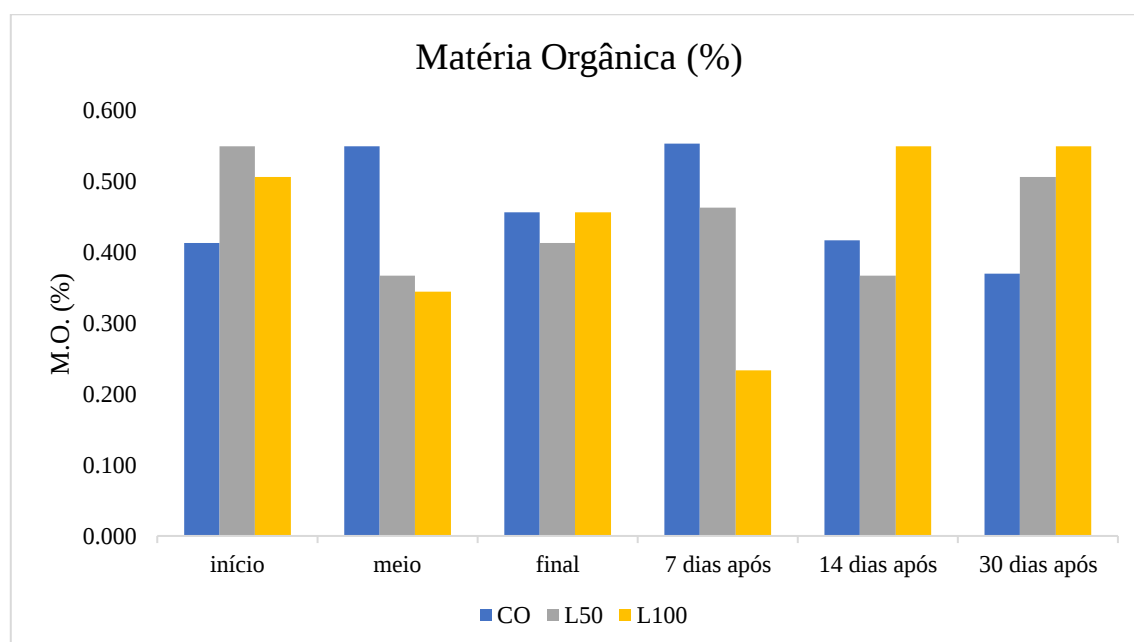


Figura 14 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da matéria orgânica no cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Os dados relacionados as bactérias presentes na água do cultivo (valores médios e desvios padrão) estão descritos na Tabela 6. Como pode ser observado, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 6 – Densidade absoluta média (org mL^{-1}) das bactérias presentes na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Bactérias	Tratamentos
-----------	-------------

(organismo/ml)	CO	L50	L100
Cocoide	$31,82 \times 10^5 \pm 25,66 \times 10^5$	$42,00 \times 10^5 \pm 38,24 \times 10^5$	$13,03 \times 10^6 \pm 17,75 \times 10^6$
Filamentosa	$53,6 \times 10^4 \pm 51,2 \times 10^4$	$67,5 \times 10^4 \pm 72,3 \times 10^4$	$31,04 \times 10^5 \pm 46,21 \times 10^5$
Vibrio	$27,5 \times 10^4 \pm 23,0 \times 10^4$	$10,8 \times 10^4 \pm 07,3 \times 10^4$	$16,8 \times 10^4 \pm 11,9 \times 10^4$
Bacilo	$12,2 \times 10^4 \pm 09,1 \times 10^4$	$74,2 \times 10^4 \pm 62,9 \times 10^4$	$29,72 \times 10^5 \pm 41,67 \times 10^5$

Os dados correspondem a média de réplicas $\pm$ desvio padrão.

Analisando os gráficos da dominância (Figura 15, 16 e 17) de vibrios e bacilos durante o cultivo, podemos observar que houve um aumento na porcentagem de vibrios e uma diminuição de bacilos no tratamento CO; já nos tratamentos que foram adicionados probióticos, obtiveram um efeito contrário diminuindo a dominância de vibrios, quando comparamos as amostras iniciais com a final. Os tratamentos L50 e L100 apresentaram uma maior dominância de bacilos no final do cultivo quando comparados ao tratamento controle.

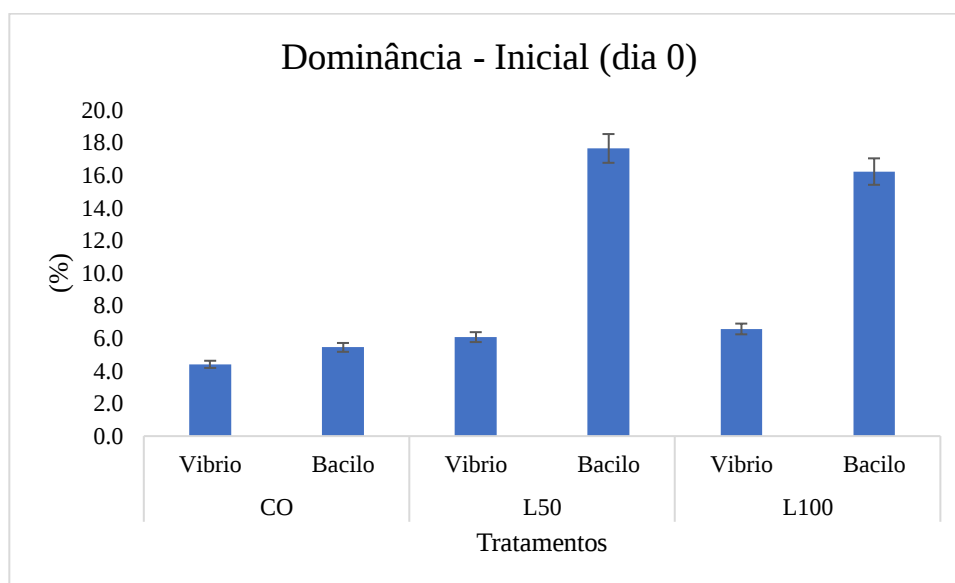


Figura 15 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância inicial de vibrios e bacilos na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

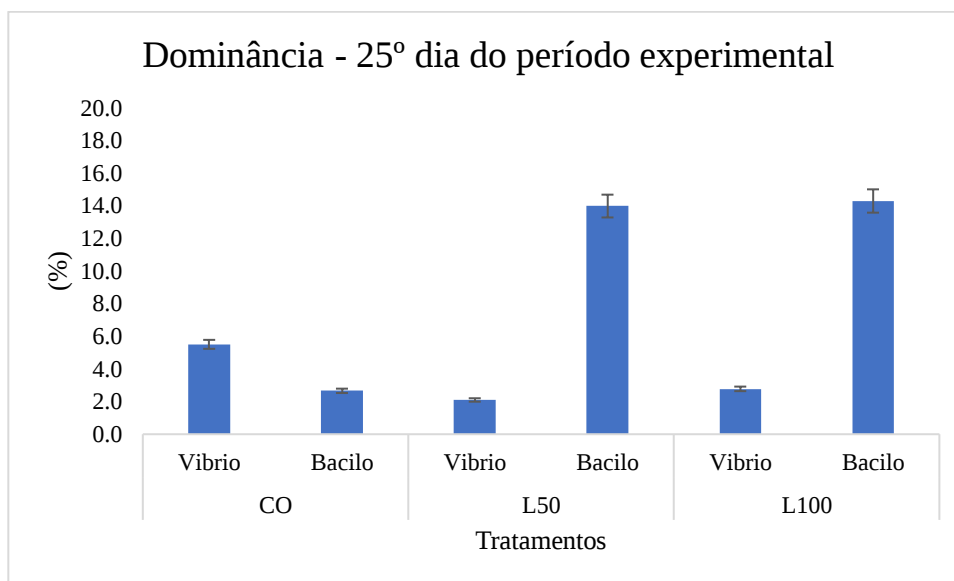


Figura 16 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância na metade do período experimental de vibrios e bacilos na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

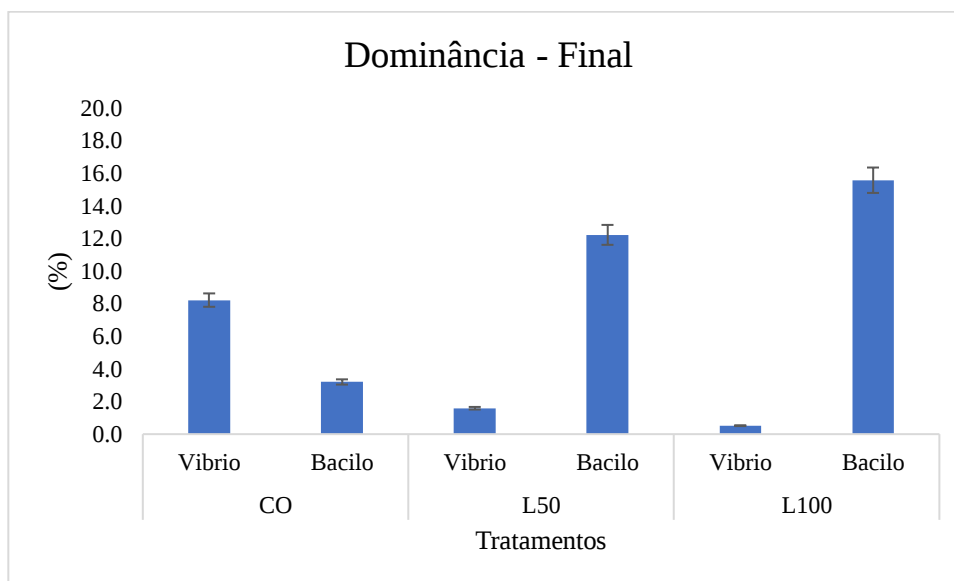


Figura 17 – Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância final de vibrios e bacilos na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Nas figuras 18 e 19 estão representados os gráficos da abundância inicial e final de vibrios e bacilos, presentes na água do cultivo.

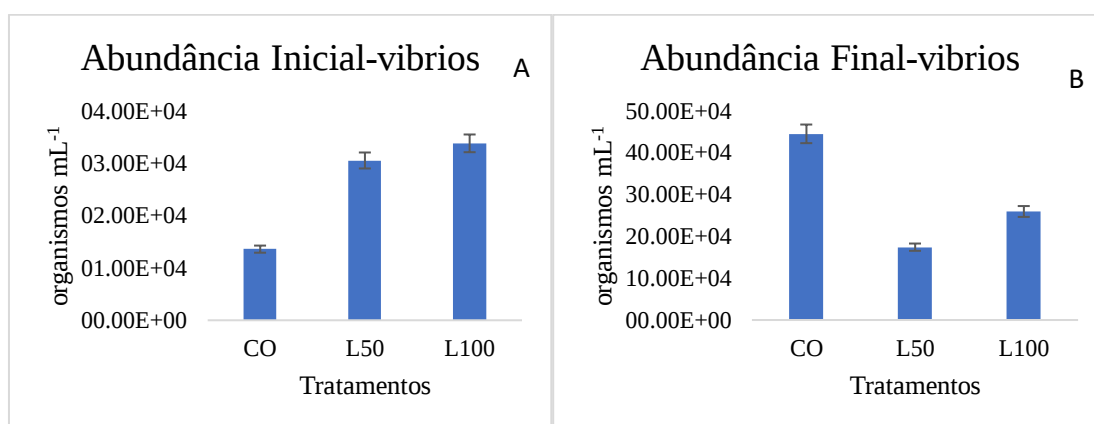


Figura 18 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial (A) e final (B) de vibrios na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial. Note diferença nas escalas entre a amostra inicial e final do experimento.

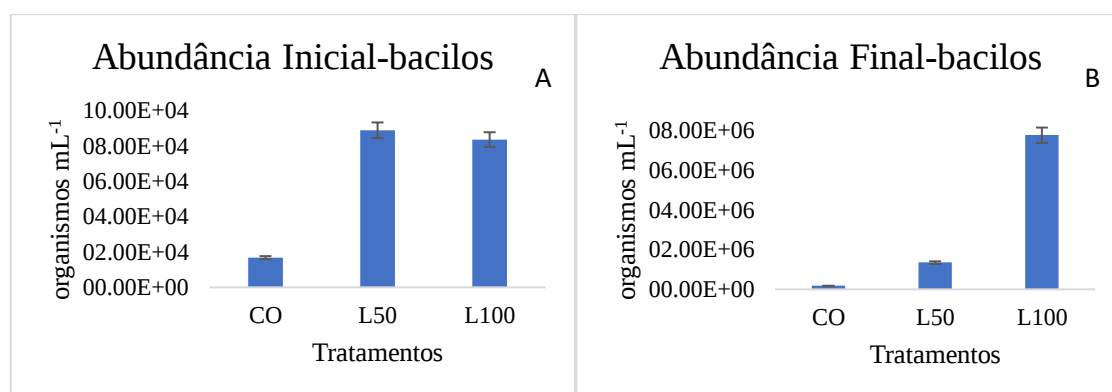


Figura 19 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial (A) e final (B) de bacilos na água do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial. Note diferença nas escalas entre a amostra inicial e final do experimento.

Os dados relacionados as bactérias presentes no solo no cultivo (médias e desvios padrão) durante a fase 1 do período experimental estão descritos na tabela 7. Como pode ser observado na tabela abaixo, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para os bacilos, onde nos tratamentos que foi adicionado probiótico (L50 e L100) apresentaram uma maior concentração dessas bactérias.

Tabela 7 – Densidade absoluta média (org mL⁻¹) das bactérias presentes no solo durante o cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 1, durante o ciclo produtivo)

Bactérias	Tratamentos		
	CO	L50	L100
Cocoide	87,53x10 ⁴ ±58,85x10 ⁴	11,23x10 ⁵ ±73,63x10 ⁴	11,72x10 ⁵ ±40,40x10 ⁴
Filamentosa	15,99x10 ⁴ ±3,47x10 ⁴	14,76x10 ⁴ ±9,85x10 ⁴	10,52x10 ⁴ ±6,51x10 ⁴
Vibrio	69,70x10 ³ ±28,9x10 ³	57,40x10 ³ ±23,19x10 ³	35,53x10 ³ ±22,58x10 ³
Bacilo	28,70x10 ³ ±17,39x10 ^{3b}	19,47x10 ⁴ ±6,08x10 ^{4a}	20,63x10 ⁴ ±9,09x10 ^{4a}

Os dados correspondem a média de réplicas ± desvio padrão.

Analizando os gráficos (Figura 20) da dominância de vibrios e bacilos no solo durante o cultivo, mostra que houve uma diminuição na porcentagem de vibrios em todos os tratamentos quando comparamos as amostras iniciais e finais. Porém quando analisamos os bacilos, foi observado uma diminuição apenas no tratamento CO, os tratamentos L50 e L100 apresentaram valores maiores quando comparamos as amostras iniciais e finais.

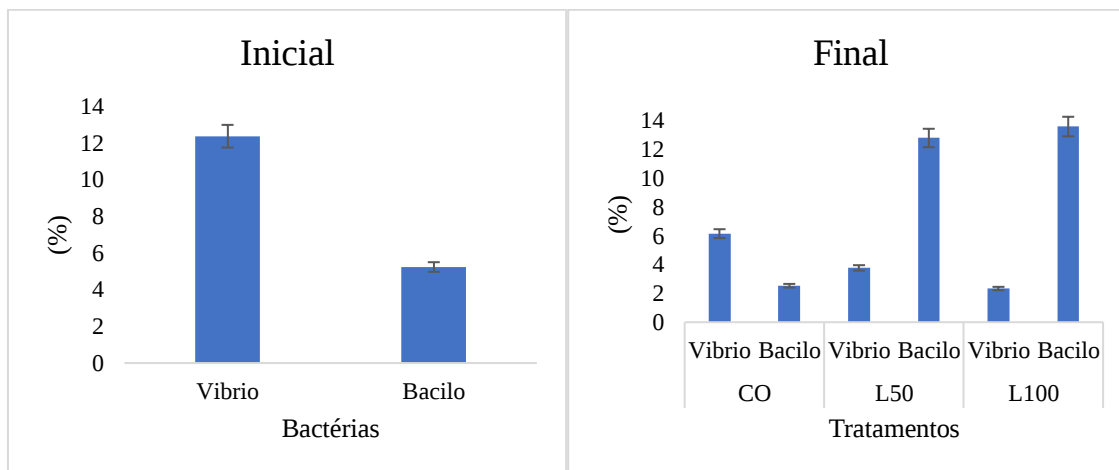


Figura 20 - Valores (médias ± desvios padrão) da dominância de vibrios e bacilos inicial e final no solo do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Com relação a abundância absoluta (Figura 21), podemos observar que houve um aumento de vibrios no tratamento CO quando comparamos as amostras iniciais e finais. Os tratamentos que tiveram adição de bactérias probióticas houve uma menor concentração de bactérias do gênero *Vibrio* e um aumento de bactérias do gênero *Bacillus*.

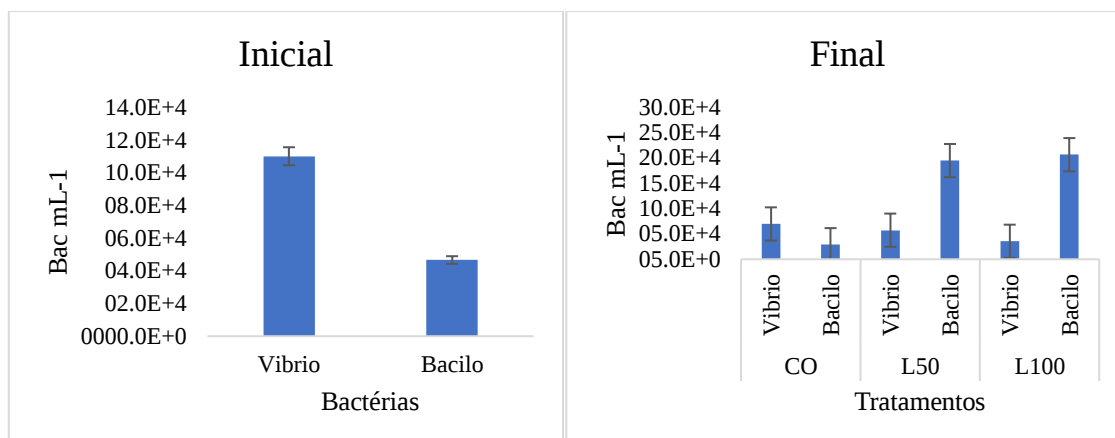


Figura 21 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância absoluta inicial e final de vibrios e bacilos no solo durante o cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

Os dados relacionados as bactérias presentes no solo após o cultivo (médias e desvios padrão) estão descritos na tabela 8 (fase 2 do período experimental). Como pode ser observado na tabela abaixo, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para os bacilos, os tratamentos L50 e L100 (que receberam aplicação de probióticos) apresentaram maior densidade absoluta do que os tratamentos controle.

Tabela 8 – Densidade absoluta média (org ml⁻¹) das bactérias presentes no solo do cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial (Fase 2, após a despesca).

Bactérias (organismo/ml)	Tratamentos		
	CO	L50	L100
Cocoide	$17,20 \times 10^5 \pm 7,43 \times 10^5$	$19,60 \times 10^5 \pm 11,10 \times 10^5$	$17,83 \times 10^5 \pm 4,45 \times 10^5$
Filamentosa	$18,14 \times 10^4 \pm 15,30 \times 10^4$	$88,83 \times 10^3 \pm 55,80 \times 10^3$	$12,53 \times 10^4 \pm 8,94 \times 10^4$
Vibrio	$43,87 \times 10^4 \pm 22,65 \times 10^4$	$20,36 \times 10^4 \pm 14,06 \times 10^4$	$18,07 \times 10^4 \pm 9,73 \times 10^4$
Bacilo	$27,98 \times 10^4 \pm 20,52 \times 10^4$ ^b	$66,07 \times 10^4 \pm 34,53 \times 10^4$ ^a	$67,06 \times 10^4 \pm 14,19 \times 10^4$ ^a

Os dados correspondem a média de réplicas $\pm$ desvio padrão.

Com relação ao gráfico da abundância absoluta (Figura 22), podemos observar que no tratamento CO houve uma diminuição de vibrios, e bacilos quando comparamos as amostras iniciais e finais. Os tratamentos que tiveram adição de bactérias probióticas

houve uma diminuição na concentração de bactérias do gênero vibrio e um aumento de bactérias do gênero bacilos.

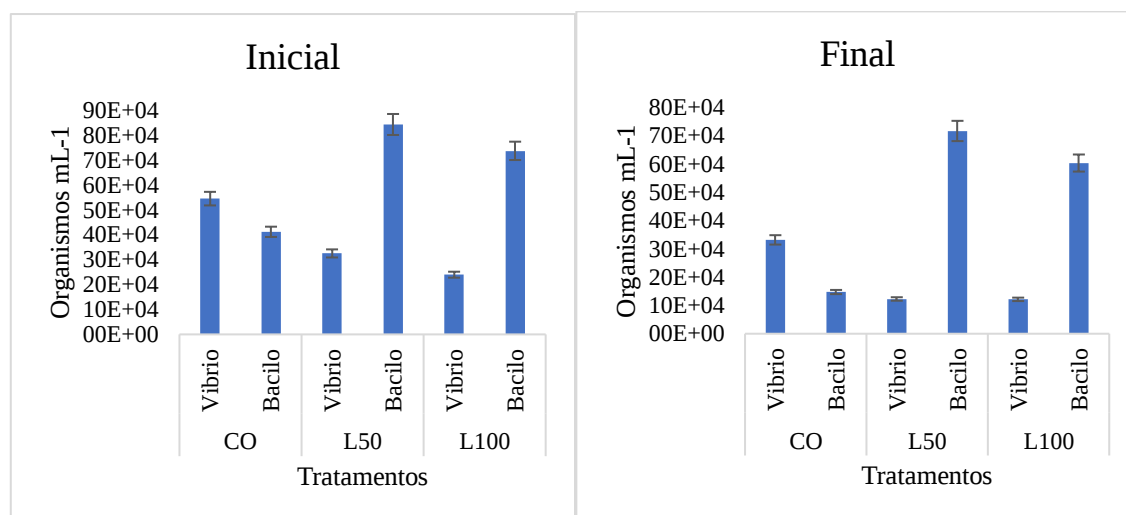


Figura 22 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da abundância relativa inicial e final de vibrios e bacilos no solo após o de cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial

Analisando os gráficos da dominância de vibrios e bacilos no solo após o cultivo, mostra que houve uma redução na dominância de vibrios e bacilos no tratamento CO quando comparamos as amostras iniciais e finais, porém a concentração de vibrios em ambos os tratamentos eram maiores do que a de bacilos; já nos tratamentos que foram adicionados probióticos, obtiveram um efeito contrário diminuindo a dominância de vibrios, quando comparamos as amostras iniciais com a final. Os tratamentos L50 e L100 seguiram os mesmos resultados que foram apresentados nas amostras de água, uma maior dominância de bacilos no final do cultivo quando comparados ao tratamento controle.

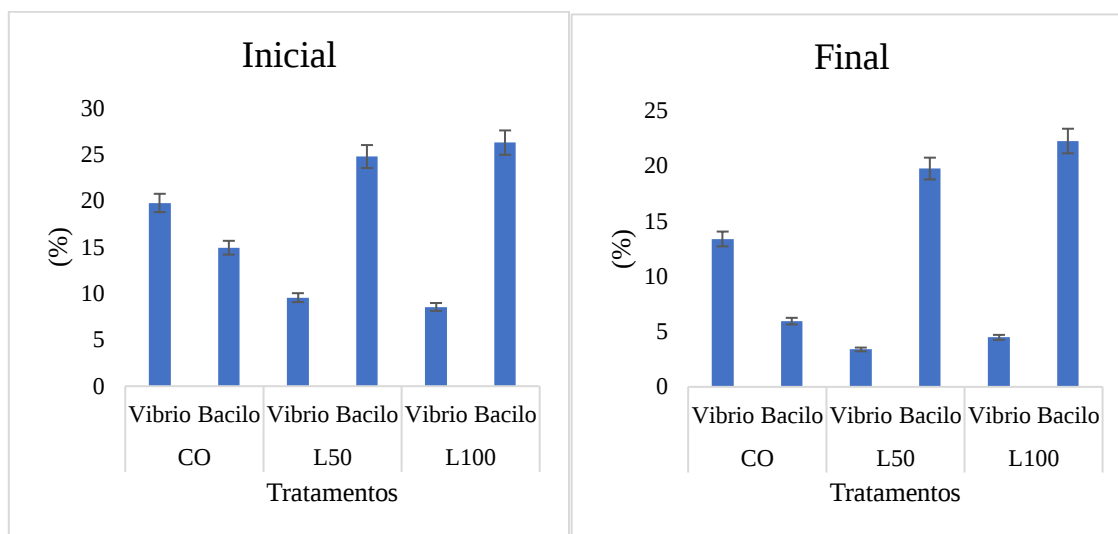


Figura 23 - Valores (médias $\pm$ desvios padrão) da dominância inicial e final de vibrios e bacilos no solo após o cultivo de camarão *Penaeus vannamei* em sistema semi-intensivo com e sem adição de probiótico comercial.

6 – DISCUSSÃO

As variáveis físico-químicas da água possuem um importante papel na manutenção da qualidade da água do viveiro e no bem-estar dos camarões (George, 2018) e foram cuidadosamente medidos em intervalos regulares. As médias de temperatura no cultivo variaram entre 25,33 e 29,04 °C, estando dentro da faixa recomendada de 24 a 30 °C sugerida por Lucas e Southgate. (2012).

O oxigênio dissolvido em todos os tratamentos ficou acima de 5,0 mg L⁻¹, o que Carbajal-Hernández et al. (2013) descreve ser um nível ótimo para o desenvolvimento de camarões marinhos, além de considerar como a mais crítica variável de qualidade de água. Páez-Osuna, (2001) descreve que os valores adequados para um bom crescimento variam de 4,0 a 6,0 mg L⁻¹, e que valores abaixo de 2,0 mg L⁻¹ podem vir a causar mortalidade no cultivo. O pH em todos os tratamentos apresentaram médias em torno de 8, ficando dentro da faixa sugerida por Boyd (2020) 6 - 9 e Chen et al. (2006) 7 – 9. Já as médias de alcalinidade ficaram acima de 170 mg L⁻¹ em todos os tratamentos, estando dentro dos níveis recomendados por Van Wyk e Scarpa (1999).

Os valores de amônia no cultivo ficaram em torno de 1,4 mg L⁻¹. A amônia é excretada pelos organismos aquáticos como resultado do seu metabolismo das proteínas pelos animais cultivados (Barbieri e Ostrensky, 2002), ou seja a amônia é o resultado final do metabolismo de proteínas (Romano e Zeng, 2013) e o acúmulo desse composto no

sistema de cultivo é tóxico para estes organismos. Organismos aquáticos requerem alimentos com alto teor de proteínas, mas nem toda essa proteína fica retida em seu corpo (Dauda et al., 2019). A maioria dos nutrientes são transferidos para a água de cultivo e viram resíduos (Piedrahita, 2003). Lin e Chen (2001) sugerem que o nível de segurança da amônia para camarões marinhos é de $3,95 \text{ mg L}^{-1}$, em todos os tratamentos foram obtidos valores menores que o sugerido pelos autores. Larasati et al. (2021) utilizaram cepas probióticas do gênero *Bacillus sp.* em seu estudo e observaram valores semelhantes aos nossos para as seguintes variáveis: pH, temperatura, oxigênio dissolvido e amônia.

Lin e Chen (2003) estabeleceram em seu estudo um nível de segurança de $25,7 \text{ mg L}^{-1}$ para o nitrito. Neste presente estudo a maior concentração de nitrito foi de $1,73 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento L50 e a menor no tratamento L100 ($1,17 \text{ mg L}^{-1}$), ficando abaixo do nível de segurança estabelecido. Todos os tratamentos ficaram abaixo do nível de segurança, sendo um bom resultado pois uma alta concentração de nitrito pode causar problemas, pois interfere na capacidade de transporte do oxigênio dos animais aquáticos e pode levar a condições anêmicas e eventual mortalidade (Alcaraz e Espina, 1995).

A partir do 21º dia de cultivo até o 41º dia de cultivo o tratamento L100 apresentou valores menores para o nitrito, o que pode indicar que 100% da dose do probiótico, pode causar uma diminuição desse composto químico, o que pôde ser observado por Lalloo et al. (2007) que isolaram espécies de *Bacillus spp.* e obtiveram resultados que a aplicação das espécies poderia agir como agentes biológicos, sinergicamente ou isoladas prevenindo a acumulação e diminuição dos níveis de nitrito no meio. O que também foi observado por Yi et al. (2021), os resultados mostraram que os tratamentos com probióticos apresentaram uma menor concentração de nitrito na água.

Devido ao custo mais baixo quando comparado aos métodos físico-químicos, a biorremediação vem sendo amplamente utilizada para tratar efluentes ricos em nutrientes da aquicultura (Xia et al. 2020). Nimrat et al. (2012) concluiu que bactérias probióticas podem melhorar a qualidade da água, resultando em uma água com menor carga de nutrientes.

Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) para o nitrato, todos os valores apresentados ficaram abaixo do nível de segurança. O nitrato é o resultado do processo de nitrificação, quando comparado com a amônia e nitrito ele não é tão tóxico. Sua concentração pode chegar a 200 mg L^{-1} no sistema de cultivo sem causar danos aos

organismos cultivados (Akinwale et al., 2016). Porém, se essa concentração passar do nível de segurança, pode reduzir o crescimento e a sobrevivência dos animais cultivados no sistema. Quando se é adicionado bactérias probióticas do gênero *Bacillus spp.* na água de cultivo, pode auxiliar a manter as variáveis físico-químicas da água dentro dos limites de segurança para as espécies alvo (Zokaeifar et al. 2014; Dash et al. 2018).

Foi observado uma elevada concentração de sólidos suspensos totais em todos os tratamentos, o que pode ter ocorrido devido ao tipo de aeração utilizada durante o período experimental. Isso foi observado em relação as transparências da água, os sólidos em suspensão fizeram com que a transparência da água fosse reduzida.

Os resíduos sólidos ou lodo podem ser divididos em duas categorias: sólidos em suspensão e sólidos sedimentados. Os sólidos suspensos são partículas finas que permanecem suspensas na água de cultivo, sendo este tipo de lodo o mais difícil de ser retirado da água de cultivo (Cripps e Bergheim, 2000). No entanto, ambos os tipos de resíduos sólidos são nocivos no sistema de cultivo e necessitam de remoção pois eles se acumulam na água de cultivo e podem deteriorar a qualidade da água (Latt, 2002). Isso ocorre porque o lodo contém alto volume de sólidos totais e sólidos totais dissolvidos que possuem alta concentração de compostos nitrogenados. Resultando num aumento da atividade bacteriana aeróbica, que eventualmente pode vir a reduzir a quantidade de oxigênio na água de cultivo (Akinwale et al., 2016).

Para tentar diminuir esse problema com os sólidos e melhorar a qualidade da água foi seguida uma metodologia adaptada proposta por Tacon et al. (2005) para renovação de água. Nos dias que foram realizadas as renovações, essas variáveis (SST e Transparência) apresentaram uma melhora significativa. Quando se fala em criação de organismos aquáticos sabemos o quanto a renovação de água é importante, pois com o passar do tempo essa água vai se deteriorando e acumulando resíduos metabólicos, restos e decomposição de alimentos não consumidos e que vão se transformando em matéria orgânica ao longo do tempo e aumentando a quantidade de sólidos suspensos na água (Das et al., 2006). Não houve diferença estatística com relação a renovação de água. Tacon et al. (2005) sugere que a taxa de renovação diária deve variar de cinco a 20%, todos os tratamentos ficaram dentro da taxa estabelecida por esse autor.

Zhou et al. (2009) verificaram que os tratamentos com aplicação de probiótico obtiveram uma maior taxa de sobrevivência (acima de 80%), o que também pôde ser

observado em nosso cultivo. Alguns autores também relataram que o uso de probióticos nas rações é eficiente pois o animal consome esse alimento e os microrganismos colonizam o trato gastrointestinal, liberando enzimas e nutrientes que melhoram o processo metabólico do organismo cultivado (Günther & Jiménez-Montealegre 2004, Kumar et al. 2008). No presente estudo foi observado que a adição de bactérias probióticas a ração contribui para um melhor desempenho zootécnico dos camarões, e que isso pode ter sido acarretado com o encontrado em outros estudos. Larasati et al. (2021) utilizaram cepas probióticas do gênero *Bacillus sp.* (10^8 UFC g⁻¹) e encontraram resultados semelhantes aos nossos no desempenho zootécnico (conversão alimentar, sobrevivência e crescimento) com a aplicação do probiótico na concentração de 1,0 mg L⁻¹ na água. A aplicação do probiótico comercial melhorou significativamente o desempenho zootécnico no nosso cultivo.

Venkat et al. (2004) relataram que a ração suplementada com probiótico pode melhorar o fator de conversão alimentar, prevenir problemas gastrointestinais e a pré digestão de fatores antinutricionais que podem estar presentes nos ingredientes da ração e este pode ser o mecanismo que contribui para o melhor desempenho nos tratamentos com o uso do probiótico. O consumo de ração determina a entrada de nutrientes no organismo do animal e seu uso para o crescimento, sendo assim ela influencia o peso final do camarão. Os *Lactobacillus sp.* podem aumentar o apetite do animal que o consome, e com isso melhorar o aproveitamento nutricional com a ajuda do *Bacillus sp.* que tem ação proteolítica (Nadhif, 2016).

Não é apenas a qualidade da água que pode interferir na produtividade em um sistema de cultivo, mas também a qualidade do solo e sedimento (Lemonnier et al., 2004). De acordo com Avnimelech e Ritvo (2003) ocorre um aumento da matéria orgânica durante o ciclo de cultivo, em decorrência do acúmulo de detritos que vão se depositando no sedimento. Quando comparamos as amostras do dia 0 com a do 25º dia de cultivo, podemos observar que os tratamentos com aplicação de probiótico ajudaram a reduzir um percentual de matéria orgânica no sistema durante o cultivo. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis analisadas do solo em ambas as fases do experimento. Nimrat, (2012) descreve que os probióticos podem atuar como bioremediadores no sistema melhorando a qualidade da água e do solo no ambiente de cultivo, porém em nosso estudo isso não fica muito claro, mesmo que em algumas coletas

os valores de matéria orgânica sejam menores que o do controle, quando comparamos as médias não foi observado diferença estatística entre os tratamentos. Os camarões têm como habitat a interface solo-água e uma boa qualidade do solo é primordial para o seu bom desenvolvimento, pois boa parte do crescimento desse animal é no fundo dos viveiros, se alimentando de detritos que vão se depositando no ambiente (Avnimelech e Ritvo, 2003).

O pH do solo relacionado à alcalinidade ou acidez do solo é um importante fator para a fertilidade do solo (Hossain, 2023), com a decomposição da matéria orgânica é produzido ácidos orgânicos que podem levar a acidificação do solo (Cheng et al., 2016), além de que as bactérias do gênero *Bacillus spp.* também podem alterar os valores de pH pela produção de ácidos orgânicos (Verschuere, 2000). Porém em nosso estudo não foi identificado essa acidificação, o pH do solo e em ambas as fases o solo foi alcalino. E esse é um ótimo resultado pois segundo Lemonnier et al. (2004) o aumento da acidez está associado a um aumento do estresse do camarão.

As bactérias do gênero *Bacillus sp.*, podem atuar como bioremediadores no sistema de cultivo, elas são bactérias que formam esporos, Gram + e de trânsito livre, que através da degradação da matéria orgânica, remoção do lodo e redução dos nutrientes da água, auxiliam na manutenção das variáveis de qualidade da água e do solo (Nimrat et al., 2011; Lukwambe et al., 2015). Analisando as bactérias do gênero *Bacillus sp.* presentes na água, elas obtiveram densidades expressivas nos tratamentos onde houve aplicação do probiótico e segundo Decamp et al. (2002) para se manter organismos desejáveis e benéficos no cultivo, através da competição por nutrientes, deve se fazer uso de probióticos, pois eles ajudam a controlar a ocorrência de microrganismos patogênicos ou indesejáveis. As cepas também podem liberar substâncias inibitórias e criar competição com outros gêneros de bactérias (Farzanfar, 2006).

As bactérias dos gêneros *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. cereus* possuem a capacidade de se reproduzir e se desenvolver em uma ampla faixa de temperaturas, pH, salinidades e níveis de amônia, bem como ter sua ação efetivada (Devaraja et al., 2013; Rahiman et al., 2010).

O que pôde ser observado nos resultados de bactérias do gênero *Vibrio sp.* presentes na água do cultivo, houve uma diminuição desse grupo nos tratamentos com aplicação de probióticos quando comparado com o tratamento CO, Sakkaravarthi et. al

(2010) fazendo uso regular de bactérias probióticas obtiveram resultados semelhantes, diminuição das bactérias do gênero *Vibrio sp.*, sendo assim um ótimo resultado pois esse gênero de bactérias é patogênica oportunista que apresenta crescimento acelerado em função de sua habilidade em se adaptar a condições estressantes, associado ao estresse esse gênero pode ocasionar doenças aos organismos cultivados (vibrioses) (Rahman et al., 2009; Rajinikanth et al., 2010; Karthik et al., 2014).

Em relação a dominância de vibrios e bacilos na água, foi observado que houve uma competição entre esses gêneros, pois quando um estava em alta ou o outro estava em baixa dominância. Os probióticos possuem a capacidade de evitar o crescimento de bactérias patogênicas, como as do gênero *Vibrio sp.*, bactérias essas que são gram-negativas e podem ser responsáveis por severas doenças nos camarões (Chatterjee e Haldar, 2012).

George et al. (2018) constatou que cepas probióticas do gênero *Bacillus spp.* conseguem inibir o crescimento de vibrios. Eles também testaram cepas probióticas em camarões infectados e esses camarões se recuperaram das infecções e mantiveram uma boa sobrevivência. Os *Bacillus spp.* possuem efeitos inibitórios e isso pode ser devido à produção de antibióticos, bacteriocinas, lisozimas, proteases e peróxido de hidrogênio (Verschuere, 2000).

Analisando as bactérias presentes no solo de cultivo na fase 1, podemos observar que houve diferença estatística ($p > 0,05$) significativa entre os tratamentos para os bacilos. Onde nos tratamentos L50 e L100 houve uma maior concentração de bacilos e uma menor concentração de vibrios. Em relação a dominância de vibrios e bacilos no solo, foi observado que houve uma competição entre esses gêneros, pois quando um estava em alta ou o outro estava em baixa dominância. Nos tratamentos L50 e L100 obtiveram maiores porcentagens de bacilos quando comparados com vibrios, indicando um antagonismo entre esses dois gêneros. As bactérias probióticas possuem a capacidade de competir e eliminar microrganismos patogênicos, se sobrepondo ou eliminando-os através de competição por nutrientes, evitando assim o desenvolvimento de grupos patogênicos na água ou no solo (Balcázar et al., 2006; Lazado et al., 2011).

Já para fase 2 após a despesca dos camarões, período onde o solo ficou exposto e foi tratado com probiótico. Houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para os bacilos nos tratamentos L50 e L100 quando comparados ao CO, onde mostrou que o

tratamento do solo com probiótico resultou em um aumento na contagem de bacilos em relação ao tratamento CO. Em relação a dominância, podemos observar que houve uma redução da porcentagem de vibrios e aumento de bacilos quando comparamos as amostras iniciais e finais.

Os *Bacillus spp.* vem sendo amplamente utilizados como agentes de biocontrole para reduzir vibrios em sistemas de cultivo de camarão (Rengpipat et al., 2000), as bactérias do gênero *Bacillus spp.* antagonizam com as bactérias do gênero *Vibrio spp.* pela produção de agentes inibidores ou pela competição por espaço ou nutrientes (Verschuere et al., 2000).

Esse antagonismo também foi identificado por Hoffling (2021) analisando diferentes protocolos para multiplicação de probiótico comercial em sistemas aquícolas, nesse estudo foi verificado que com a alta abundância de bactérias do gênero *Bacillus spp.* pode ter dificultado o surgimento de *Vibrios* através de competição, ou os valores desse gênero podem ter ficado abaixo dos limites de detecção.

Alguns autores relataram que a abundância de *Vibrio* está positivamente correlacionada com a quantidade de matéria orgânica (Lemonnier et al. 2010; Thickman e Gobler, 2017), o que pode ser um fator adicional para a menor abundância desse gênero nos tratamentos com adição de probiótico, pois os solos tratados com 100% da dose apresentaram uma redução de 50% da matéria orgânica no sétimo dia após a despesca.

7 – CONCLUSÕES

Conclui-se que aplicação de probiótico comercial a base de *Bacillus spp.* no sistema semi-intensivo de cultivo de camarões:

- Melhorou o desempenho zootécnico, onde os tratamentos com inóculo de probiótico apresentaram um melhor desempenho quando comparado ao tratamento controle.
- Contribuiu com uma redução da matéria orgânica de 50% no sétimo dia após o tratamento do solo.
- Ajudaram no aumento da densidade de bactérias benéficas do gênero *bacillus spp.* no cultivo.

8 - BIBLIOGRAFIA

- AGUILAR, N. C., 2018. Isolamento e caracterização de bactérias resistentes a arsênio com potencial de aplicação em processos de biorremediação. [Tese (Doutorado Multicêntrico em Química) – Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni]. UFVJM. <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2188>
Acessado em: 10/01/2023
- AKINWOLE, A.O., DAUDA, A.B., OLOLADE, A.O., 2016. Haematological response of *Clarias gariepinus* juveniles reared in treated wastewater after waste solid s removal using alum or Moringa oleifera seed powder. Int. J. Aquac. 6: 1–8
- ALCARAZ, G., ESPINA, S., 1995. Acute toxicity of nitrite in juvenile grass carp modified by weight and temperature. B. Environ. Contam. Tox. 55: 473–478
- AMAGLIANI, G. B. G.; SCHIAVANO, G. F., 2012. Incidence and role of Salmonella in seafood safety. Food Research International. 45(2): 780-788
- AMINOT, A.; CHAUSSEPIED, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Editions Jouve, CNEXO, 1-395
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2000. Official Methods of Analysis of AOAC. Patricia Cunniff (Ed.), 16th ed.
- APHA (American Public Health Association), 1998. Standard methods. 19st Edition. American Public Health Association: 1-1193
- AVNIMELECH, Y. e RITVO, G., 2003. Shrimp and fish pond soils: processes and management. Aquaculture, Amsterdam, 220: 549-567
- AVNIMELECH, Y.; RITVO, G.; KOCHBA, M., 2004. Evaluating the active redox and organic fractions in pond bottom soils: EOM, easily oxidized material. Aquaculture, Amsterdam, 233: 283-292
- BALCÁZAR, J.L, DE BLAS, I, RUIZ-ZARZUELA, I, CUNNINGHAM, D, VENDRELL, D, MÚZQUIZ, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. Vet Microbiol. May 31, 114(3-4):1 73-86. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.01.009. Epub 2006 Feb 21. PMID: 16490324

- BARBIERI JUNIOR, R.C., OSTRENSKY NETO, A. 2002. Camarões marinhos – Engorda. Aprenda Fácil Editora. Viçosa-MG. 337 pp.
- BENDSCHNEIDER, K.; ROBINSON, R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. University of Washington, Technical Report No. 8.
- BISOGNIN, R.P., LÓPEZ, D.A.R., MULLER, M.V.G., RIEGER, A. 2018. Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. Engenharia Sanitária e Ambiental 23: 517-526
- BOYD, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Alabama: Auburn University, 482 pp.
- BOYD, C.E. 2020. Water quality: An introduction. Third edition. Auburn, Alabama, USA. Springer. 447 pp.
- CARVALHO PEREIRA, J., LEMOINE A., NEUBAUER P., JUNNE, S. 2022. Perspectives for improving circular economy in brackish shrimp aquaculture. Aquaculture Research 53 (4): 1169–80
- CARBAJAL-HERNÁNDEZ, J.J., SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, L.P., VILLAVARGAS, L.A., CARRASCO-OCHOA, J.A., MARTÍNEZ-TRINIDAD, J.F. 2013. Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. Ecological Indicators, 29: 148-158
- CHATTERJEE, S., HALDAR, S. 2012. Vibrio Related Diseases in Aquaculture and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. J Marine Sci Res Dev 1: 002
- CHEN, S.; LING, J.; BLANCHETON, J.P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. Aquacultural Engineering, 34(3): 179-197
- CHENG, W., PADRE, A. T., SATO, C., SHIONO, H., HATTORI, S., KAJIHARA, A., AOYAMA, M., TAWARAYA, K., KUMAGAI, K. 2016. Changes in The Soil C and N Contents, C Decomposition and N Mineralization Potentials in a Rice Paddy after Long-term Application of Inorganic Fertilizers and Organic Matter. Soil Science and Plant Nutrition Journal 62(2): 212-219

- COELHO, R.S., TEIXEIRA, M.C. 2020. Biorremediação de solos contaminados com arsênio por meio de lavagem de solo usando biossurfactantes. *Engenharia Sanitária e Ambiental* 25: 543-553
- COWLEY, J.A., DIMMOCK, C.M., SPANN, K.M., WALKER, P.J. FAMILY RONIVIRIDAE. IN: KING, A.M.Q., ADAMS, M.J., CARSTENS, E.B., LEFKOWITZ, E.J. 2012. (Eds.), *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, 829-834
- CRAB, R., AVNIMELECH, Y., DEFOIRDT, T., BOSSIER, P., VERSTRAETE, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270: 1–14
- CRIPPS, S.J., BERGHEIM, A. 2000. Solids management and removal for intensive land based aquaculture production systems. *Aquac. Eng.* 22: 33–56
- CUTTING, S. M. 2011 *Bacillus* probiotics. *Food Microbiology*, Amsterdam, 28(2): 214-220
- DAUDA, A.B. 2019. Biofloc technology: a review on the microbial interactions, operational parameters and implications to disease and health management of cultured aquatic animals. *Rev. Aquac.* 1–18.
- DAS, S.; LYLA, P.S.; KHAN, S.A. 2006. Application of *Streptomyces* as a probiotic in the laboratory culture of *Penaeus monodon* (Fabricius). *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgheh* 58(3): 198-204
- DASH, P., TANDEL, R.S., BHAT, R.A. H., MALLIK, S., PANDEY, N.N., SINGH, A.K., SARMA, D. 2018. The addition of probiotic bacteria to microbial floc: water quality, growth, non-specific immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* in mid-Himalayan altitude. *Aquaculture* 495: 961–969
- DECAMP, O., CONQUEST, L. FORSTER, I. TACON, A.G.J. 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: roles of eukaryotic microorganisms. *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. World Aquaculture Society.

- DEVARAJA, T.; BANERJEE, S.; YUSOFF, F.; SHARIFF, M.; KHATOON, H. 2013. A holistic approach for selection of *Bacillus* spp. as a bioremediator for shrimp postlarvae culture. *Turkish Journal of Biology* 37: 92-100
- DOURADO, J. 2009. Vibriose em camarões marinhos (*Penaeus vannamei*, Boone 1931) cultivados no litoral de Pernambuco, Brasil. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 47 pp.
- DONALD, V.L.; REDMAN, R.M.; PANTOJA, C.R.; NOBLE, B.L.; TRAN, L. 2012. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Advocate*, 15: 40
- DONG X, SONG J, CHEN J, BI D, WANG W, REN Y, WANG H, WANG G, TANG KFJ, WANG X, HUANG J. 2019. Conjugative transfer of the pVA1-type plasmid carrying the *pirAB^{VP}* genes results in the formation of new AHPND-causing *Vibrio*. *Front Cell Infect Microbiol* 9: 195
- FAO - Food and Agriculture Organization. 2013. FAO fisheries and aquaculture report no. 1053. Report of the FAO/MARD technical workshop on early mortality syndrome (EMS) or acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS) of cultured shrimp (under TCP/VIE/3304). Hanoi, Viet Nam, on 25–27 June 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture. Towards Blue Transformation. Rome.
- FARZANFAR, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 48(2): 149–58
- FLORES-VALENZUELA, E., MIRANDA-BAEZA, A., RIVAS-VEGA, M.E.; MIRANDA-ARIZMENDI, V., BELTRÁN-RAMÍREZ, O., EMERENCIANO, M.G.C. 2021. Water quality and productive response of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc with addition of commercial strains of nitrifying bacteria and *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture* 542: 736869
- GASTALHO, S. et al. 2014. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: impacto em saúde pública. *Acta Farmacêutica Portuguesa*, 3: 29-45
- GARZA DE YTA, A., ROUSE, D. B. AND A. D. DAVIS. 2004. Influence of nursery period on the growth and survival of *Penaeus vannamei* under pond production conditions. *Journal of the World Aquaculture Society* 35: 357–365

- GAYLARDE, C.C., BELLINASSO, M.L., MANFIO, G.P. 2005. Biorremediação – Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento* 34: 36-43
- GEORGE, E.G.J., JEYARAJ G.P., ARUMUGHAM, V.R. 2018. Bioconfronting efficacy of the *Bacillus* probiotic strains of NOVIB™ in controlling vibriosis on low saline semi-intensive pond culture system of the white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 7(05): 2639-2651.
- GÜNTHER, J., JIMÉNEZ-MONTEALEGRE, R. 2004. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. *Revista de Biología Tropical* 52: 937-943
- HOBBIE, J.E., DALEY, R.J., JASPES, S. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*: 1225-1228
- HOFFLING, F.B. 2021. Análise de diferentes protocolos para multiplicação de probiótico comercial em sistemas aquícolas. [Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande] FURG. https://ppgaquicultura.furg.br/images/Dissertacoes/2021/Dissertacao_Flavia_Hoffling_2021.pdf
- HOSSAIN, M.A., ISLAM, S.M.S., HASAN, M.M. 2023. Changes in Soil Properties with Combined Use of Probiotic Cultures and Organic Farming Practices in Degraded Soils of Bangladesh. *Sustainability* 15: 4430. <https://doi.org/10.3390/su15054430>
- HOSTINS, B., LARA, G., DECAMP, O., CESAR, D.E., WASIELESKY, W.J. 2017. Efficacy and variations in bacterial density in the gut of *Penaeus vannamei* reared in a BFT system and in clear water supplemented with a commercial probiotic mixture. *Aquaculture* 480: 58-64
- IBER, B. T; KASAN, N. A. 2021. Recent advances in Shrimp aquaculture wastewater management. *Heliyon* 7 (11): e08283
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2022. Pesquisa pecuária municipal. IBGE. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940>>. Acesso em: 01 de agosto de 2023.

- JORY, E.D., CABRERA, T.R., DUGGER, D.M., et al. 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. In: C.L. BROWDY & D.E. JORY. The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A., USA, 104–152
- KARTHIK, R., HUSSAIN, A.J., MUTHEZHILAN, R. 2014. Effectiveness of *Lactobacillus* sp (AMET1506) as Probiotic against Vibriosis in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* Shrimp Aquaculture. Biosciences Biotechnology Research Asia 11: 297-305
- KUMAR, M., N.S. SWARNAKUMAR, K. SIVAKUMAR; T. THANGARADJOU, L. KANNAN. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. Indian Journal of Microbiology 48: 299-308
- KUMAR, R., NG, T.H., WANG, H.C. 2020. Acute hepatopancreatic necrosis disease in penaeid shrimp. Rev. Aquac. 12: 1867–1880
- KRUMMENAUER, D., POERSCH, L., ROMANO, L.A., LARA, G.R., ENCARNÇÃO, P., WASIELESKY, W. 2014. The Effect of Probiotics in a *Penaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*, Journal of Applied Aquaculture, 26(4): 370-379
- LALLOO, R., RAMCHURAN, S., RAMDUTH, D., GÖRGENS, J., GARDINER, N. 2007. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. Journal of Applied Microbiology 103(5): 1471-1479
- LARASATI, L.G., NIMITKUL, S., DEWI, N.N. 2021. The effects of various doses of probiotics on growth and survival rates of white shrimp larvae (*Litopenaeus vannamei*). IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 718: 012097.
- LATT, U.W., 2002. Shrimp pond waste management. Aquac. Asia 7: 11–48
- LAZADO, C.C., CAIPANG C. M.A., BRINCHMANN M.F., KIRON V. 2011. In vitro adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. Vet. Microbiol. 148: 252–259
- LEMONNIER, H., BERNARD, E., BOGLIO, E., GOARANT, C., COCHARD, J. 2004. Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect. Aquaculture, Amsterdam, 240: 297-312

- LEMONNIER, H., COURTIES, C., MUGNIER, C., TORRÉTON, J.P., HERBLAND, A. 2010. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis. *Marine Pollution Bulletin* 60 (3): 402–11
- LIGHTNER, D.V., REDMAN, R.M. 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164: 201-220
- LIN, Y.C., CHEN, J.C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Penaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259(1): 109-119
- LIN, Y.C.; CHEN, J.C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Penaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* (Amsterdam, Netherlands), 224(1-4): 193-201
- LO, C.F., AOKI, T., BONAMI, J.R., FLEGEL, T., LEU, J.H., LIGHTNER, D.V., STENTIFORD, G., SÖDERHÄLL, K., WALKER, P.J., WANG, H.C., XUN, X., YANG, F., VLAK, J.M. 2012. Nimaviridae. in: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (Eds.), *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier, New York ,229-234
- LUCAS, J.S., SOUTHGATE, P.C. 2012. *Marine shrimp: aquaculture: farming aquatic animals and plants*. Wiley-Blackwell, Chichester 2 ed.: 1-643
- LUKWAMBE, B., QIUQIAN, L., WU, J., ZHANG, D., WANG, K., ZHENG, Z. 2015. The effects of commercial microbial agents (probiotics) on phytoplankton community structure in intensive white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture ponds. *Aquaculture International* 23(6): 1443–1455.
- MISHRA, J.K., SAMOCHA, T.M., PATNAIK, S., SPEED, M., GANDY, R.L., ALI, A.M. 2008. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, under limited discharge condition. *Aquacultural Engineering* 38(1): 2-15
- NADHIF, M. 2016. Pengaruh Pemberian Probiotik pada Pakan dalam berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan dan Mortalitas Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).
- NIMRAT, S., SUKSAWAT, S., MALEEWEACH, P., VUTHIPHANDCHAI, V. 2008. Effect of different shrimp pond bottom soil treatments on the change of physical

- characteristics and pathogenic bacteria in pond bottom soil. *Aquaculture* 285: 123–129
- NIMRAT, S., BOONTHAI, T. VUTHIPHANDCHAI, V. 2011. Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and post larvae, *Animal Feed Science and Technology* 169(3-4): 244– 258
- NIMRAT, S., SUKSAWAT, S., BOONTHAI, T., VUTHIPHANDCHAI, V. 2012. Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary Microbiology* 159(3-4): 443–450
- NGUYEN, D.T.A. et al. 2016. Prevalence, antibiotic resistance, and extended-spectrum and AmpC β -lactamase productivity of *Salmonella* isolates from raw meat and seafood samples in Ho Chi Minh City, Vietnam. *International Journal of Food Microbiology* 236: 115-122
- PÁEZ-OSUNA, F. 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects and mitigating alternatives. *Environmental Management* 28: 131–140
- PANTJARA, B.; KRISTANTO, A.H. 2020. Pond bottom management and probiotic application in extensive Tiger prawn (*Penaeus monodon*) culture on acid sulfate soil. *AACL Bioflux* 13(2): 974-983
- PIEDRAHITA, R.H., 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture* 226: 35–44
- RAHIMAN, K.M.M.; JESMI, Y.; THOMAS, A.P.; HATHA, A.A.M. 2010. Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research* 41(9): 120-134
- RAHMAN, S., KHAN, S.N., NASER, M.N., AND KARIM, M.M. 2009. Application of probiotic bacteria: a novel approach towards ensuring food safety in shrimp aquaculture, *Journal of Bangladesh Academy of Sciences* 33(1): 139-144

- RAJINIKANTH, T., RAMASAMY, P. AND RAVI, V. 2010. Efficacy of probiotics, growth promoters and disinfectants in shrimp grow out farms. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 7(3): 347–354
- RAMIREZ, N.B.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F. do N.; MOURIÑO, J.L.P.; JESUS, G.F.A.; FERREIRA, G.S.; ANDREATTA, E.R. 2013. Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48(8): 913-919
- RENGIPIPAT, S., RUKPRATANPORN S.; PIYATIRATITIVORAKUL S.; MENASAVETA, P. 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*. 191: 271–288
- RITVO, G.; SAMOCHA, T.; LAWRENCE, A.; NEILL, W. 1998. Growth of *Penaeus vannamei* on soils from various Texas shrimp farms, under laboratory conditions. *Aquaculture*, Amsterdam, 163: 101-110
- ROMANO, N., ZENG, C. 2013. Toxic effects of ammonia, nitrite, and nitrate to decapod crustaceans: a review on factors influencing their toxicity, physiological consequences, and coping mechanisms. *Rev. Fish. Sci.* 21: 1–21
- SAKKARAVARTHI K., SANKAR G., RAMAMOORTHY K., LAKSHMANAN R., 2010 Effect of soil probiotics in the shrimp culture. *ABAH Bioflux* 2(2): 99-105
- SON, S. H.; YANG, S. J.; JEON, H. L.; YU, H. S.; LEE, N. K.; PARK, Y. S.; PAIK, H. D. 2018. Antioxidant and immunostimulatory effect of potential probiotic *Lactobacillus paraplantarum* SC61 isolated from Korean traditional fermented food, jangajji. *Microbial Pathogenesis* 125: 486–492
- SOOKRUKSAWONG, S., SUN, F., LIU, Z., TASSANAKAJON, A. 2013. RNA-Seq analysis reveals genes associated with resistance to Taura syndrome virus (TSV) in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Devel Comp Immunol.* 41: 523-533
- STRICKLAND J.D.H.; PARSONS, T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Canada, Ottawa: Fishery Research Board. 1-310
- TACON, A.G.J., NATES, S.F.; MCNEIL, R.J. 2005. Feeding strategies vary for shrimp producers. *Global Aquaculture Advocate*, 8(2): 79–81

- TACON, A.G.J.; JORY, D.; NUNES, A. 2013. Shrimp feed management: issues and perspectives. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, Roma, 1(583): 481-488
- THICKMAN, J. D.; GOBLER, C. J. 2017. The ability of algal organic matter and surface runoff to promote the abundance of pathogenic and non-pathogenic strains of *Vibrio parahaemolyticus* in Long Island Sound, USA. Plos One 1(10): e0185994
- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides, Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France. 1-53
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton metthodic. Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte. Limnologie 9: 1-38
- VAN WYK P., SCARPA J. 1999. Water Quality and Management. Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, 128–138
- VENKAT, H.K., SAHU P.N., JAIN, K.K. 2004. Effect of feeding Lactobacillus-based probiotics on the gut microflora, growth and survival of post larvae of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquacult. Res. 35: 501-507
- VERSCHURE, L., ROMBAUT, G., SORGELOOS, P., VERSTRACT, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and molecular biology reviews, December vol 64(4): 655-671
- VEZZULLI, L., PERUZZO, C., FABIANO, M. 2004. Response of the bacterial community to in situ bioremediation of organic-rich sediments. Mar. Pollut. Bull. 49: 740–751
- VIEIRA, F.N.; BUGLIONE, C.C.; MOURIÑO, J.P.L.; JATOBÁ, A.; MARTINS, M.L.; SCHLEDER, D.D.; ANDREATTA, E.R.; BARRACO, M.A.; VINATEA, L.A. 2010. Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec 62(3): 631-638
- WANG, C., GAO, J. & GU, C. 2017. Rapid destruction of tetrabromobisphenol A by iron (III)-tetraamidomacrocyclic ligand/layered double hydroxide composite/H₂O₂ system. Environmental Science & Technology 51 (1): 488–496

- WU, M., DICK, W.A., LI, W., WANG, X., YANG, Q., WANG, T., CHEN, L. 2016. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 107: 158-164
- XIA, L., LI, X., FAN, W.; WANG, J. 2020. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge. *Bioresource Technology* 301: 122749
- YI, M., WANG, C., WANG, H., ZHUA, X., LIU, Z., GAO, F., KEA, X., CAO, J., WANG, M., LIUC, Y., LIA, M. 2021. The in situ remediation of aquaculture water and sediment by commercial probiotics immobilized on different carriers. *Water Reuse* 11(4): 572
- ZAR, J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River.
- ZOKAEIFAR, H., BABAEI, N., CHE, R.S., KAMARUDIN, M.S., SIJAM, K., BALCAZAR, J.L. 2014. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 36 (1): 68–74