

REVISTA DA



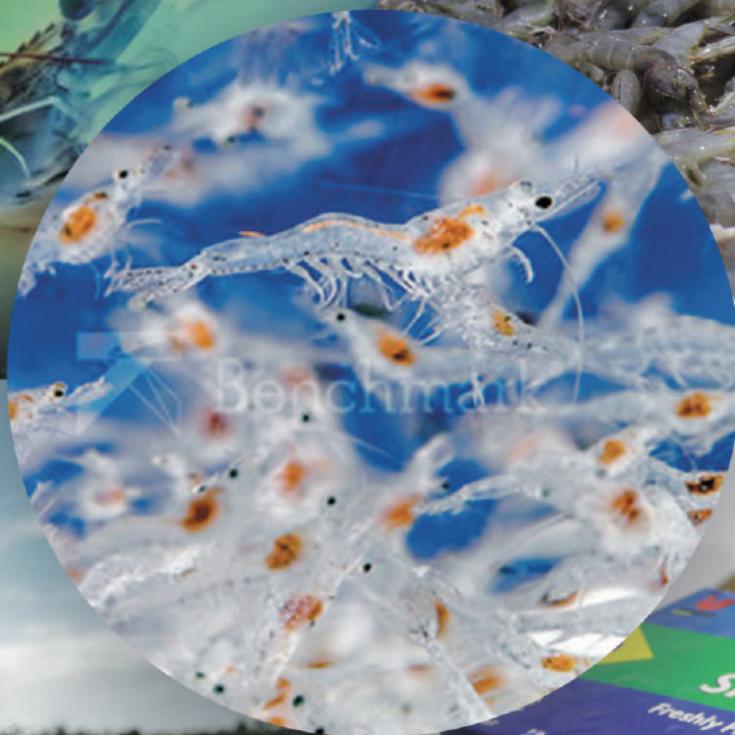
ABCC
Associação Brasileira
de Criadores de Camarão

ISSN 1982-4823

ANO XXIII Nº 3 JUNHO DE 2021

DESAFIOS PARA A CARCINICULTURA BRASILEIRA VOLTAR A SER COMPETITIVA:

UTILIZAR PÓS-LARVAS (SPF/SPR) DE ALTA PERFORMANCE E RETORNAR AO MERCADO INTERNACIONAL



CADASTRE-SE / ABCCAM.COM.BR



Utilização da Fertilização Simbiótica nos Berçários de Camarões Marinhas

Luis Otavio Brito da Silva*; Priscilla Celes Maciel de Lima*; Danielle Alves da Silva*; Gênisson Carneiro Silva*; Agatha Catharina Limeira*; Dijaci Araújo Ferreira**; Reginaldo Florêncio da Silva Júnior***, Suzianny Maria Bezerra Cabral Silva* e Alfredo Olivera Gálvez*

* Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura

** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas da UFRPE

*** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco Campus Vitória de Santo Antão

Nos últimos 20 anos, a carcinicultura se tornou um dos ramos da aquicultura que mais cresceu no mundo. No entanto, sua rápida expansão depende de fatores que incluem redução e convivência com surtos de doenças, controle dos custos de produção e comercialização. Particularmente, em relação aos desafios sanitários, as vibrioses, provocadas por *Vibrio harveyi* e *V. parahaemolyticus* e, as doenças virais (WSSD - síndrome da mancha branca e IMN – Mionecrose infecciosa), têm culminado com elevadas taxas de mortalidade e significativo impacto sobre a rentabilidade do setor.

Tradicionalmente, as estratégias utilizadas para o controle de doenças bacterianas incluíam o uso de antimicrobianos e quimioterápicos, porém a administração indiscriminada desses produtos, tem colaborado significativamente para que as bactérias se tornem resistentes. Desse modo, a busca por estratégias de manejo e produtos para diminuir a incidência de surtos de vibriose e promover uma melhora nos índices zootécnicos são cada vez mais recorrentes. Dentro destas estratégias, destaca-se o recente uso de prebióticos e probióticos associados a processos de fertilização simbiótica. Probióticos são definidos por Collins e Gibson (1999), como ingredientes não digeríveis, que afetam de maneira benéfica o intestino do animal, estimulando o crescimento de bactérias benéficas no trato intestinal, enquanto que os probióticos são suplementos microbianos vivos que têm efeito benéfico ao hospedeiro, através da modificação da sua comunidade microbiana ou no ambiente (biorremediador), o que proporciona maior eficiência na utilização dos alimentos, incluindo o fortalecimento imunológico contra doenças e a melhoria da qualidade da água (Verschuere et al., 2000).

Já a fertilização simbiótica, constitui-se uma técnica resultante da decomposição de produtos de origem vegetal que na sua maioria são farelo de trigo, soja ou arroz, por bactérias (*Bacillus*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*) e/ou leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), em um processo aeróbio e/ou anaeróbio controlado, que produz ácidos orgânicos, vitaminas do grupo do complexo B ou antibióticos naturais, melhorando a solubilidade das fontes de carboidratos (monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos).

Os polissacarídeos utilizados (prebióticos) constituem um grupo de carboidratos que não são facilmente digeríveis pelos vibrios, diferente das bactérias e/ou microrganismos probióticos que têm maior capacidade de utilizar essa fonte de carboidratos. Essa comunidade microbiana ao utilizar uma fonte de

carbono orgânico na água, assimila os compostos nitrogenados tóxicos presentes na água transformando-os em proteína microbiana, fornecendo, assim, uma fonte de suplementação alimentar, que tem um efeito positivo na restauração da microbiota no intestino e hepatopâncreas dos camarões cultivados, estimulando a melhoria dos seus sistemas imunológicos. Esse manejo de fertilização também é caracterizado pela melhoria da qualidade de água, diminuição da concentração de matéria orgânica, melhoria do desempenho produtivo e resultados econômicos promissores.

Dentre os vários microrganismos que podemos utilizar na fertilização simbiótica, podemos destacar:

1. Bactérias ácido-láticas de diferentes espécies dos gêneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*; *Bifidobacterium*, *Enterococcus*; etc;
2. Bactérias gram-positivas formadoras de esporos de diferentes espécies como *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. amyloliquefaciens*, *B. clausii*, *B. megaterium*, etc;
3. Fungos, como é o caso das leveduras (principalmente espécies dos Gêneros *Saccharomyces*);

As bactérias ácido-láticas são importantes para aquicultura por produzirem compostos antimicrobianos (bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, ácido lático e ácidos orgânicos) que inibem o crescimento de muitas bactérias patogênicas Gram-negativas e estimulam o sistema imunológico do hospedeiro, gerando uma resposta imune não específica. Semelhante às bactérias ácido-láticas, os microrganismos do gênero *Bacillus* se destacam pelas suas características de reduzir e/ou inibir a proliferação de *Vibriosis spp.*, por meio da produção de antibióticos naturais e competitividade com os patógenos por nutrientes. Dentre as leveduras, as espécies do gênero *Saccharomyces* são amplamente empregadas na produção de processos fermentativos úteis na indústria de alimentos.

A *Saccharomyces* é uma levedura ascomicética e anaeróbia facultativa. Graças a sua habilidade em converter açúcares em etanol e em dióxido de carbono, esta espécie pode ser utilizada como probiótico, na alimentação animal. Além disso, esse gênero de levedura tem a capacidade de reduzir bactérias patogênicas no trato digestivo dos camarões e estimular seus sistemas imunológicos.

O uso de processos anaeróbios (fermentação) e/ou aeróbios (respiração) com microrganismos (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Saccharomyces*, entre outros) está entre as formas de aumentar a disponibilidade de nutrientes de uma matéria-prima, especialmente os cereais. Durante a fermentação, há uma redução do teor de fibra e um aumento da biomassa microbiana. Esses microrganismos transformam os constituintes químicos das matérias-primas através da quebra de moléculas orgânicas complexas, como polissacarídeos, em moléculas mais simples, aumentando assim a biodisponibilidade e solubilidade dos nutrientes, tornando-os mais nutritivos.

Os processos de fermentação e respiração resultam na formação de uma série de produtos, incluindo a formação de ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiônico, ácido palmítico, ácido pirúvico, ácido málico, ácidos fórmico e butírico), álcool (etanol), aldeídos, cetonas e bacteriocinas. Os ácidos produzidos reduzem o pH, alterando assim o equilíbrio da microbiota intestinal, pois a maioria dos microrganismos patogênicos observados não pode sobreviver ao baixo pH, portanto, a produção de ácido láctico tem sido usada para reduzir o crescimento de microrganismos patogênicos.

Na fermentação, os microrganismos produzem enzimas (amilases, proteases, fitases e lipases) que modificam os produtos alimentares primários através da hidrólise de polissacarídeos, proteínas, fitatos e lipídios, respectivamente. Após a fermentação, a quantidade e qualidade das proteínas, vitaminas solúveis, aminoácidos e ácidos graxos essenciais são geralmente aumentados. Por outro lado, o ácido fítico e taninos diminuem durante a fermentação, levando ao aumento da biodisponibilidade de minerais (cálcio, fósforo, zinco e ferro), bem como, aminoácidos e açúcares simples. No entanto, os produtos gerados e o crescimento microbiano podem ser afetados pela composição do meio (fonte de carboidratos, concentração de açúcar e fatores de crescimento), a presença de oxigênio, pH e concentração do produto.

As bactérias ácido lácticas são consideradas anaeróbios tolerantes a oxigênio com metabolismo fermentativo. O cultivo aeróbico de *Lactobacillus plantarum* altera o metabolismo central redirecionando a piruvato, gerando um acúmulo de acetato, entretanto em meio anaeróbico tem o lactato como principal produto final. Em meio anaeróbico, a concentração de lactato pode ser até 8 vezes maior do que a concentração de acetato. Com relação ao crescimento microbiano, o cultivo em meio aeróbico não proporciona aumento da taxa de crescimento para *Lactobacillus* em comparação ao anaeróbico.

Já *Bacillus* sp., possuem maior crescimento quando cultivadas em meio aeróbico, mesmos as espécies que podem crescer por fermentação e anaerobiose, na presença de nitrato, nitrito ou piruvato, como *Bacillus subtilis*. Sob condição anaeróbica, algumas espécies apresentam alta taxa de conversão de glicose em ácido láctico de alta pureza entre 96,8 e 99%, mas devido ao

acúmulo deste ácido, a eficiência de sua produção diminui com o aumento do tempo de fermentação.

As leveduras, anaeróbias facultativas, crescem tanto em meio aeróbico quanto anaeróbico. Em meio aeróbico (respiração), o açúcar (glicose, frutose, sacarose ou maltose) é oxidado, resultando gás carbônico e água, já em meio anaeróbico (fermentação) o açúcar é oxidado, resultando etanol e dióxido de carbono, e esses processos podem ocorrer simultaneamente.

Para a produção do fertilizante simbiótico são utilizados alguns insumos, tais como: Farelo (arroz, trigo e/ou soja), enzimas (protease, amilase, lipase), melaço de açúcar e/ou açúcar, um alcalinizante (buffer NaHCO₃ - bicarbonato de sódio ou CaCO₃ - calcáreos, hidróxido de cálcio, *Lithothamnium* entre outros equivalentes de carbonato de cálcio) e água tratada. As dosagens variam dependendo da densidade de cultivo, oxigênio dissolvido na água, pH, transparência, coloração da água, ORP (potencial de Oxidação/Redução - capacidade de oxidação ou de redução de substâncias) e presença de vírios.

O farelo de arroz é utilizado como substrato sólido para o crescimento das bactérias e leveduras, além de ser uma fonte de carbono orgânico (polissacarídeo) de difícil assimilação pelos vírios. As enzimas, também conhecidas como biocatalisadores, são uma substância biológica que inicia ou acelera a taxa de uma reação bioquímica, sem que ele mesmo seja consumido na reação. Semelhante a outros catalisadores químicos, as enzimas também são altamente eficazes em aumentar a taxa de reações bioquímicas que, de outra forma, ocorrem muito lentamente, ou em alguns casos, de forma alguma. Um exemplo comum é a quebra de alimentos, que inclui principalmente proteínas, carboidratos e gorduras, em seus constituintes básicos.

O melaço de cana de açúcar e/ou açúcar é utilizado como fonte de carboidrato no sistema, favorecendo mais rapidamente o crescimento dos microrganismos probióticos, podendo estar ausente na preparação do fertilizante, caso ocorra o uso de enzimas. Somado a estes insumos, utiliza-se água tratada a fim de minimizar o risco da entrada de microrganismos não desejáveis no cultivo, visto que insumos como melaço estimulam o crescimento de bactérias, sejam elas benéficas ou patogênicas para o sistema.

Esse fertilizante é produzido por meio da mistura de todos os insumos e em uma ou duas fases, 12-24h anaeróbica e/ou 12-24h aeróbica. Durante a preparação do fertilizante simbiótico, as condições de temperatura e pH influenciam diretamente no crescimento microbiano.

A temperatura por sua vez, influencia diretamente no crescimento dos microrganismos, uma vez que todos os processos de crescimento são dependentes de reações químicas que são afetadas pela temperatura. As bactérias e leveduras são classificadas como mesófilas, na qual sua faixa de maior crescimento varia de 30 a 45°C. Já em relação ao pH ideal para o crescimento microbiano das leveduras e *Lactobacillus* está na faixa entre 4-5, enquanto para *Bacillus* entre 5-7. Essas faixas devem ser entendidas pelo produtor, antes da preparação do fertilizante simbiótico.

Diversos experimentos estão sendo realizados no Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco para entender o papel da fertilização simbiótica no controle da qualidade da água e na modificação da microbiota do hepatopâncreas e intestino dos camarões cultivados. Até o presente momento foram testados diferentes protocolos.

Previamente aos cultivos, em água do mar ($30 - 35 \text{ g L}^{-1}$) ou baixa salinidade ($2 - 5 \text{ g L}^{-1}$), a água passou por uma filtração ($250 \mu\text{m}$), seguida de cloração com hipoclorito de cálcio a 15 ppm (65% de cloro ativo). Após esse processo, foram realizadas as fertilizações de acordo com as tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Protocolos de fertilização utilizados nos experimentos (berçários) de água do mar.

	Artigo publicado na Aquaculture (doi.2020.735913) pág. 2	Artigo publicado na Aquaculture (doi.2020.736335) pág. 2	Artigo publicado na Aquaculture Research (doi.10.1111/are.15276) pág. 2	Artigo publicado na Aquaculture (doi. 2021.736669) pág. 2
Fertilização inorgânica				
Ureia	4,5 g m ⁻³ N	4,5 g m ⁻³ N	4,5 g m ⁻³ N	-
Superfosfato triplo	0,3 g m ⁻³ P	0,45 g m ⁻³ P	0,23 g m ⁻³ P	-
Silicato de sódio	0,23 g m ⁻³ Si	0,23 g m ⁻³ Si	3,0 g m ⁻³ Si	-
Fertilização orgânica				
Fonte de carbono	Farelo de arroz (20,0 g m ⁻³)	Farelo de trigo (22,5 g m ⁻³)	Farelo de trigo (50,0 g m ⁻³)	Farelo de arroz (20,0 – 10 g m ⁻³)
	Melaço de cana de açúcar (2,0 g m ⁻³)	Melaço de cana de açúcar (12,0 g m ⁻³)	Melaço de cana de açúcar (25,0 g m ⁻³)	Melaço de cana de açúcar (2,0 – 1,0 g m ⁻³)
Bicarbonato de sódio	4,0 g m ⁻³	4,5 g m ⁻³	10,0 g m ⁻³	4,0 – 2,0 g m ⁻³
Mix de bactérias*	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>Saccharomyces</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. 0,05 g m ⁻³ 5,5 a 6,5 x 10 ⁷ CFU g ⁻¹	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>Saccharomyces</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. 0,5 g m ⁻³ 7,7 x 10 ⁸ CFU g ⁻¹	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>Lactobacillus</i> sp. 0,5 g m ⁻³ 7,7 x 10 ⁸ CFU g ⁻¹	<i>Bacillus</i> sp., <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> 0,1 g m ⁻³ 7,4 x 10 ⁹ CFU g ⁻¹
Preparação	24h anaeróbico 24h aeróbico	48h anaeróbico 24h aeróbico	48h anaeróbico 24h aeróbico	24h anaeróbico 24h aeróbico
Nº de aplicações ¹ (Preparação da água)	12	15	10	6

* Produtos Kayros Agrícola e Ambiental, São Paulo, Brasil.
¹ Número de aplicações de simbiótico realizadas para a fertilização inicial da água.

Tabela 2. Protocolos de fertilização utilizados nos experimentos em baixa salinidade.

	Dissertação defendida no PPG-RPAq	Dados de dissertação ainda não publicado -PPG-RPAq
Fertilização orgânica		
Fonte de carbono	Farelo de arroz (20,0 g m ⁻³)	Farelo de arroz (20,0 – 10,0 g m ⁻³)
	Melaço de cana de açúcar (2,0 g m ⁻³)	Açúcar (2,0 g m ⁻³)
Bicarbonato de sódio	4,0 g m ⁻³	4,0 g m ⁻³
Fermento biológico	-	0,25 g m ⁻³
Mix de bactérias*	<i>Bacillus</i> sp., <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> 0,5 g m ⁻³ - 6,5 x 10 ⁷ CFU g ⁻¹	<i>Bacillus</i> sp., <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> 0,5 g m ⁻³ - 7,4 x 10 ⁹ CFU g ⁻¹
Preparação	24 h anaeróbico 24 h aeróbico	24 h anaeróbico 24 h aeróbico
Nº de aplicações (Preparação da água)	7	10

* Produtos Kayros Agrícola e Ambiental, São Paulo, Brasil.
¹ Número de aplicações de simbiótico realizadas para a fertilização inicial da água.

Os protocolos de fertilização simbiótica (anaeróbica e aeróbica) utilizados nesses experimentos provaram-se uma estratégia eficiente para produção de juvenis de *L. vannamei* (Figura 1). As fertilizações foram utilizadas três a quatro vezes por semana e suspensas quando os sólidos sedimentáveis atingiam entre 5-10 mL L⁻¹.



Figura 1. Juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em sistema com fertilização simbiótica.

As variáveis de qualidade de água encontradas nestes estudos permaneceram na faixa ideal para carcinicultura intensiva (SAMOCHA et al., 2019), colaborando para o controle de compostos nitrogenados na fase de berçário que em níveis altos podem influenciar o crescimento dos camarões cultivados e até mesmo levá-los a morte.

Esses protocolos de fertilização simbiótica também proporcionaram melhoria na microbiota do trato digestório de camarões marinhos cultivados. Reduzindo as colônias sacarose negativa (Figura 2) no hepatopâncreas que são relatadas como patogênicas ao cultivo de camarão, somando-se ao aumento do gênero *Bacillus* ao final dos experimentos no intestino dos camarões (Figura 3).

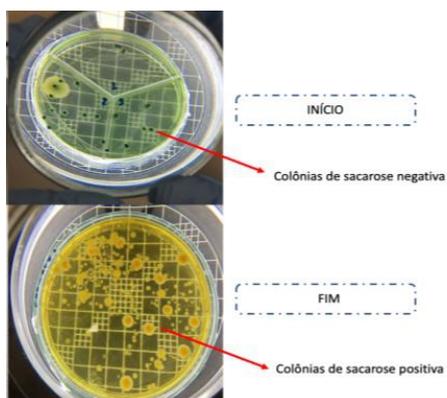


Figura 2. Plaqueamento do hepatopâncreas de *L. vannamei* para contagem e caracterização de *Vibrio* sp. no início e término do experimento.

Dessa forma, a UFRPE e o IFPE estão promovendo a transferência de tecnologia como componente do processo de inovação, impulsionando a produção, por meio do uso de soluções tecnológicas. A troca de conhecimento pela validação tecnológica vem sendo dialogada, o que possibilita adaptações na construção do conhecimento coletivo.

Protocolos utilizados em fazendas comerciais (berçários).

As fertilizações simbióticas vêm sendo empregadas em fazendas comerciais em diferentes sistemas de cultivo. Os protocolos variam significativamente entre as fazendas por orientação das empresas fornecedoras de probióticos/biorremediadores ou pelo responsável técnico das fazendas. Os produtos comerciais trazem "pools" de microrganismos na sua composição, demandando processos específicos, além de serem enriquecidos com aminoácidos essenciais (lisina, metionina), vitaminas (colina, vitamina C e E), carboidratos (dextrose e mananoligossacarídeos) e aditivos naturais que atuam no trato intestinal dos camarões.

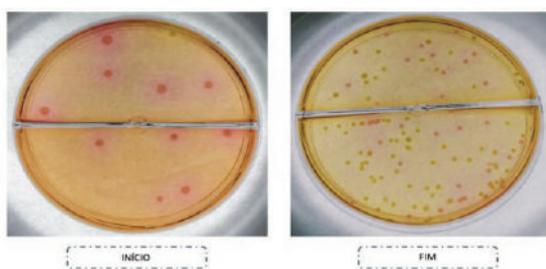


Figura 3. Plaqueamento do intestino de *L. vannamei* para contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Bacillus* no início e ao fim do experimento.

*Análises microbiológicas realizadas pela Equipe da profª Suzianny Cabral – Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos - LASAQ/DEPAq/UFRPE.

Geralmente, a preparação do fertilizante simbiótico consiste na mistura de um farelo (trigo, arroz ou soja), probiótico, uma fonte de sacarose (açúcar ou melado de cana-de-açúcar), bicarbonato de sódio e água, como sugerido abaixo no protocolo para tanques comerciais de 50m³. Ressalta-se a importância da utilização do bicarbonato de sódio para a manutenção do pH em níveis adequados para o melhor desenvolvimento bacteriano e a não utilização de açúcar refinado em razão da menor quantidade de vitaminas, sais minerais e enxofre.

Protocolo inicial para tanques de cultivo com 50m³:

1. 2,5 kg de farelo de arroz
2. 250 g de açúcar
3. 400 g de bicarbonato de sódio
4. 25 g de probiótico
5. 25 litros de água esterilizada

Protocolo de manutenção

1. 1,0 kg de farelo de arroz
2. 100 g de açúcar
3. 200 g de bicarbonato de sódio
4. 25 g de probiótico
5. 10 litros de água esterilizada

Após a mistura dos insumos, ocorre o processo anaeróbico e, em seguida, o processo aeróbico (aeração por 24 horas), além da adição de bicarbonato de sódio para manter o pH entre 5 e 6 (Figura 4). Nos primeiros 15 dias são realizadas de duas a três aplicações semanais. Nesse período, é observado um excesso de espuma que se acumula na superfície da água devido ao material orgânico dissolvido e a comunidade bacteriana insuficiente para degradá-lo. Posteriormente, a espuma desaparece, a água torna-se acastanhada devido ao desenvolvimento das bactérias e nos dias seguintes a proliferação do zooplâncton é bastante intensa (protozoários, rotíferos, nematoides, entre outros), sendo visualizados com auxílio de um microscópio nadando livres ou agregados ao floco bacteriano. Inicialmente não há uma dominância do floco, porém, dependendo da entrada da matéria orgânica e da intensidade da aeração esse agregado microbiano irá aumentar. Com a entrada de camarões no sistema e, conseqüentemente, oferta de ração, a fertilização simbiótica vai sendo acompanhada de acordo com a quantidade de sólidos (floco microbiano) formados na coluna d'água. Uma concentração de 5-10 mL/L no cone de Imhoff é um alerta para a suspensão das fertilizações.



Figura 4. Preparação anaeróbica e aeróbica do fertilizante simbiótico aplicado em berçários comerciais de *L. vannamei*.

Conclusões

A administração combinada de farelo vegetal (anaeróbico e aeróbico) como fonte de carbono orgânico e probióticos (simbiótico), proporciona um controle dos compostos de nitrogênio (NAT e NO₂-N) e promove uma série de efeitos positivos na microbiota do hepatopâncreas e intestino dos camarões cultivados, além do bom desempenho zootécnico de *L. vannamei* na fase de berçário.