



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

Efeito da suplementação combinada de mananoligossacarídeo (MOS) e nucleotídeos sobre a resposta imunológica do camarão-branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) desafiado experimentalmente com IMNV

Maria Raissa Coelho Marchetti Trindade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção de título de Mestre.

Prof.^a Dr.^a Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva
(Orientadora)

Prof. Dr. Luis Otávio Brito da Silva
(Co-orientador)

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

Efeito da suplementação combinada de mananoligossacarídeo (MOS) e nucleotídeos sobre a resposta imunológica do camarão-branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) desafiado experimentalmente com IMNV

Maria Raissa Coelho Marchetti Trindade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção de título de Mestre

Prof.^a Dr.^a. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva

Orientadora

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a. Gelcirene de Albuquerque Costa

Membro Externo

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Alfredo Oliveira Gálvez

Membro Interno

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

T832e Trindade, Maria Raissa Coelho Marchetti.
Efeito da suplementação combinada de mananoligossacarídeo (MOS) e nucleotídeos sobre a resposta imunológica do camarão-branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) desafiado experimentalmente com IMNV / Maria Raissa Coelho Marchetti Trindade. – Recife, 2024.
47 f.; il.

Orientador(a): Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva.

Co-orientador(a): Luis Otávio Brito da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, BR-PE, 2025.

Inclui referências.

1. Suplementação alimentar. 2. Imunologia de camarões. 3. Aquicultura. 4. Vírus da mionecrose infecciosa I. Silva, Suzianny Maria Bezerra Cabral da, orient. II. Silva, Luis Otávio Brito da, coorient. III. Título

CDD 639.3

Dedicatória

"O verdadeiro herói não é aquele que sabe tudo, mas aquele que está disposto a aprender."

— Rick Riordan, *Percy Jackson e os Olimpianos: O Ladrão de Raios*.

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Suzianny Cabral, pela orientação precisa, paciência e incentivo ao longo deste trabalho, e ao meu coorientador, Prof. Dr. Luis Otávio, pelas valiosas contribuições em momentos decisivos.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo suporte acadêmico, ao CNPq, pela bolsa de mestrado que viabilizou este estudo, e à Biorigin, pela oportunidade de desenvolvimento científico e pela parceria fundamental neste projeto.

Ao Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos, e a todos que contribuíram para tornar esta jornada produtiva. Agradeço especialmente aos colegas da graduação, Maria Eduarda, Sérgio, Maria Eunice, Ednaldo e Vinícius, com destaque à Maria Eduarda e ao Júlio, pela dedicação aos experimentos, e à Klarissa, cujo apoio incansável foi essencial em todas as etapas.

Aos colegas da pós-graduação, Gisely, Larissa, Paloma, Flávia e Gabriel, pela troca de conhecimentos e pelo incentivo constante.

Ao Laboratório de Citopatologia, representado por Aluanan, pelo auxílio técnico, e ao Professor Fernando Leandro, pelas orientações que enriqueceram este estudo.

Ao pessoal do LACAR, pela colaboração indispensável. Um agradecimento especial ao Gênisson, cuja dedicação e leveza tornaram até o trabalho durante o Natal uma lembrança marcante.

Por fim, aos meus amigos e familiares, pelo apoio emocional, mesmo em forma de piadas como a "fenda do biquíni 2.0". Obrigada por acreditarem em mim e por estarem ao meu lado em cada etapa deste percurso.

A todos vocês, minha mais sincera gratidão. Este trabalho é reflexo de um esforço coletivo e do apoio incondicional de pessoas incríveis.

Resumo

A aquicultura tem crescido significativamente nas últimas décadas, com destaque para a carcinicultura, especialmente no cultivo do camarão branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*). No entanto, surtos de doenças virais, como o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV), têm impactado negativamente a produtividade, tornando necessária a implementação de estratégias para fortalecer a resposta imunológica desses organismos. A suplementação alimentar com mananoligossacarídeos (MOS) e nucleotídeos (NT) tem mostrado benefícios, mas os efeitos de sua combinação ainda são pouco explorados. Este estudo avaliou a suplementação isolada e combinada de um produto à base de MOS (0,54 g/kg) e outro à base de NT (0,3 g/kg) sobre o desempenho zootécnico, a imunidade e a resistência ao IMNV em *P. vannamei*. Juvenis foram alimentados com dietas experimentais por 30 dias, seguidos de um desafio viral de 21 dias. Não foram observadas diferenças significativas no ganho de biomassa, peso final ou taxa de crescimento específico entre os tratamentos durante a fase de berçário. No entanto, a sobrevivência foi maior no grupo alimentado com MOS isolado (99,70%) em comparação ao controle (89,11%). A combinação de MOS e NT (NM) resultou na maior contagem de hemócitos ($6,72 \times 10^6$ células/mL), superando os grupos com MOS ou NT isolados ($3,07 \times 10^6$ células/mL). No desafio viral, a sobrevivência foi maior nos grupos alimentados com MOS (30,56%) e NT (26,67%), em comparação ao controle (15,56%) e à combinação NM (11,11%). Esses resultados sugerem que a suplementação com MOS e NT isoladamente pode melhorar a resistência ao IMNV, enquanto a combinação não mostrou efeito sinérgico positivo. Conclui-se que, embora a combinação de MOS e NT não tenha potencializado os benefícios, a suplementação isolada de MOS pode contribuir significativamente para a saúde e a imunidade de *P. vannamei* em sistemas simbióticos frente ao IMNV.

Palavras-chave: Suplementação alimentar, imunologia de camarões, aquicultura, Vírus da Mionecrose Infecciosa.

Abstract

Aquaculture has experienced significant growth in recent decades, with shrimp farming standing out, particularly in the culture of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). However, viral outbreaks, such as the Infectious Myonecrosis Virus (IMNV), have negatively affected productivity, emphasizing the need for strategies to enhance the immune response of these organisms. Dietary supplementation with mannan oligosaccharides (MOS) and nucleotides (NT) has shown promising benefits, but the effects of their combined use remain underexplored. This study evaluated the isolated and combined supplementation of MOS (0.54 g/kg) and NT (0.3 g/kg) on zootechnical performance, immunity, and resistance to IMNV in *P. vannamei*. Juvenile shrimp were fed experimental diets for 30 days, followed by a 15-day viral challenge. No significant differences were observed in biomass gain, final weight, or specific growth rate across treatments in the nursery phase. However, survival was higher in the MOS-fed group (99.70%) compared to the control (89.11%). The combination of MOS and NT (NM) resulted in the highest hemocyte count (6.72×10^6 cells/mL), surpassing the MOS and NT groups (3.07×10^6 cells/mL each). During the viral challenge, survival was higher in the MOS (30.56%) and NT (26.67%) groups compared to the control (15.56%) and the NM combination (11.11%). These findings suggest that isolated supplementation with MOS or NT can enhance resistance to IMNV, while their combination did not exhibit a synergistic effect. It is concluded that, although the combined supplementation of MOS and NT did not enhance the observed benefits, isolated MOS supplementation may significantly improve the health and immunity of *P. vannamei* in synbiotic systems in the IMNV challenge.

Keywords: Food supplementation, shrimp immunology, aquaculture, Infectious Myonecrosis Virus.

Lista de Figuras

Figura 1. Sobrevivência (em porcentagem) diária de juvenis de <i>P. vannamei</i> desafiados com IMNV.	30
Figura 2. Imagens microscópicas (x10) do tecido abdominal do <i>P. vannamei</i> , mostrando infiltrações hemocíticas nos diferentes tratamentos. A) Tratamento com Nucleotídeo - Não Infiltrado; B) Tratamento com MOS - Infiltração Moderada; C) Tratamento com Nucleotídeo e MOS (NM) - Não Infiltrado; D) Controle - Infiltração Leve.	31

Lista de Tabelas

Tabela 1. Variáveis de qualidade de água dos berçários de <i>P. vannamei</i> alimentados com as dietas experimentais durante 30 dias.	27
Tabela 2. Variáveis de desempenho zootécnico de <i>P. vannamei</i> na fase de berçário após a oferta de dietas com inclusão de aditivos durante 30 dias.	27
Tabela 3. Contagem de total de hemócitos dos juvenis de <i>P. vannamei</i> após 30 dias de oferta de ração com aditivos.	28
Tabela 4. Morfologia intestinal de juvenis de <i>P. vannamei</i> após 30 dias de oferta de ração com aditivos.	29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. OBJETIVOS	14
GERAL	14
ESPECÍFICOS	14
HIPÓTESES	14
1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
2. Artigo Científico	18
2.1. Resumo	18
2.2. INTRODUÇÃO	19
2.3. MATERIAL E MÉTODOS	21
2.4. RESULTADOS	26
2.5. DISCUSSÃO	31
2.6. CONCLUSÕES	36
2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

Em 2022, a produção mundial de animais aquáticos atingiu 178,5 milhões de toneladas, com 88,7 milhões de toneladas provenientes da aquicultura, sendo 165 milhões de toneladas deste total destinadas ao consumo humano direto e também sendo a primeira vez na história em que a produção aquícola global ultrapassou a produção por captura (FAO, 2024). Esse aumento na produção é resultado da crescente demanda impulsionada pelo crescimento populacional, que gera uma necessidade de mais alimentos, especialmente de origem aquática, cujo consumo aumentou significativamente nos últimos anos (FAO, 2024).

A carcinicultura desempenha um papel crucial para o crescimento da produção aquícola, pois é responsável por 12,7 milhões de toneladas. Dentre as espécies produzidas, destacam-se os peneídeos (em especial, *Penaeus vannamei*) (7,9 milhões), que representam 62,2% da produção de crustáceos (FAO, 2024).

No Brasil, também se observa o crescimento na produção do camarão marinho *P. vannamei*, que atingiu em 2022, aproximadamente 127,4 mil toneladas, com um aumento de 139% em relação a 2020, a qual foi de 53,3 mil toneladas. A principal região responsável pela produção desta espécie é o Nordeste, sendo responsável por 99,45% da produção do país, sendo as maiores concentrações nos Estados do Ceará (64,5 mil toneladas) e Rio Grande do Norte (33,2 mil toneladas) (IBGE, 2023).

Apesar do crescimento na produção, a produtividade média de 3.000 kg/ha/ano mostra um valor bem inferior às produtividades antes dos surtos virais, obtidas em 2003, que foram da ordem de 6.000 kg/ha/ano (ROCHA et al., 2004; ABCC, 2022; IBGE, 2023). Um dos principais fatores que contribuiu para esse decréscimo na produtividade de camarões marinhos no Brasil, foram os surtos do Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) e Síndrome da Mancha Branca (WSSV) (ABCCAM, 2022; NATORI et al., 2011; ROCHA et al., 2004).

O primeiro registro do IMNV ocorreu em 2002, quando os camarões da espécie *P. vannamei* na região do nordeste (estado do Piauí) começaram a apresentar uma opacidade na musculatura abdominal, e uma mortalidade diária a partir de 7g. A primeira hipótese associou esse quadro clínico com uma enfermidade denominada de Doença do Algodão causada por microsporídios (parasitas intracelulares) e, após a análise histopatológica, foi denominada de Necrose Idiopática Muscular (NIM). Em 2004, deu-se a confirmação da natureza infecciosa viral, com auxílio da microscopia eletrônica e análise genômica, que identificou um vírus pertencente à família Totiviridae, o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) (NEVES &

MARTIM, 2021; SARDOU et al., 2022; POULOS et al., 2006; LIGHTNER e PANTOJA, 2004).

Após sucessivos casos de mortalidade durante o surto de IMNV nas fazendas de camarão marinhos, os produtores tentaram adotar estratégias para combater essas infecções, dentre essas, a aplicação de diversas boas práticas de manejo e uso de quimioterapia para combater infecções bacterianas oportunistas (antibióticos) (LUNA-GONZÁLEZ et al., 2012). Contudo, devido à gradual proibição dos antibióticos, decorrente do potencial desenvolvimento de bactérias resistentes, presença de resíduos de antibióticos, impacto ambiental e supressão do sistema imunológico dos animais aquáticos, têm-se aplicado, alternativamente, promotores de crescimento e saúde na alimentação, tais como probióticos, prebióticos, simbióticos e imunoestimulantes, além dos fitoterápicos e plantas medicinais (LUNA-GONZÁLEZ et al., 2012; PARTIDA-ARANGURE et al., 2013).

Em sua fase de criação no berçário, os camarões necessitam de uma alimentação rica em proteínas e de suplementos específicos. A utilização de simbióticos, farelos fermentados combinados com probióticos, tem demonstrado ser uma estratégia eficiente para fomentar a saúde intestinal, reprimir agentes patogênicos e acelerar o crescimento. Ademais, tal procedimento aprimora a assimilação de nutrientes e reforça a resistência imunológica dos animais (BERMÚDEZ-ALMADA et al., 2017).

Outra utilidade significativa dos simbióticos é na função de fertilizantes orgânicos no meio aquático. Essa metodologia, que envolve a adição direta de farelos fermentados e probióticos à água, auxilia na complementação de nutrientes do ambiente, aumenta a produtividade de microrganismos e aprimora a qualidade da água, sendo especialmente eficiente na eliminação de compostos nitrogenados, tais como amônia e nitrito (SOUZA et al., 2012).

Além dos simbióticos, a aplicação de outros aditivos que visem o fortalecimento do sistema imune, mostram-se uma alternativa promissora à convivência com os patógenos. O sistema imune dos camarões é inato, composto por hemócitos e hemolinfa, e, a principal característica desse sistema, é sua capacidade de responder rapidamente a uma ampla gama de patógenos sem a necessidade de reconhecimento prévio, através da detecção de padrões moleculares associados a agentes patogênicos, conhecidos como PAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos), por meio de receptores chamados PRRs (Padrões Reconhecedores de Patógenos), como os receptores Toll-like (SONG & LI, 2014; MEDZHITOV & JANEWAY, 2000; JIRAVANICHPAISAL et al., 2006; TYAGI et al., 2007; MAITI et al., 2010; BANERJEE et al., 2015; LI et al., 2019). No entanto, devido à simplicidade do sistema

imune dos camarões em comparação com o sistema imunológico de mamíferos, não há a presença de respostas imunes duradouras (memória imunológica) e específicas (KULKARNI et al. 2020). Neste sentido, prebióticos e nucleotídeos têm sido aplicados à suplementação alimentar de crustáceos com resultados positivos em termos de desempenho zootécnico e resposta imune.

O prebiótico, um tipo de aditivo, foi definido pela primeira vez como uma fibra não digerível que pode aumentar o crescimento e a atividade de bactérias promotoras da saúde no intestino e afetar benéficamente o hospedeiro (GIBSON & ROBERFROID, 1995). Posteriormente, Bindels et al. (2015), descreveram os prebióticos como “ingredientes alimentares não digeríveis que são decompostos em substâncias mais simples, aumentando o crescimento e a atividade de microrganismos preferenciais encontrados no trato gastrointestinal e beneficiando a saúde do hospedeiro”.

Os benefícios dos prebióticos à saúde do hospedeiro seriam resultados de sua metabolização por microrganismos no intestino, pois através de sua composição química proporciona uma fermentação seletiva realizada por bactérias anaeróbicas, levando à produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) e gases, bem como a proliferação de bactérias cujos produtos do metabolismo afetam diretamente o ambiente intestinal ou a expressão do gene do hospedeiro, o pH intestinal e a modulação da função imunológica (GIBSON et al., 2004).

Há diversos prebióticos utilizados na aquicultura, tais como frutooligossacarídeos (FOS) de cadeia curta, galacto-oligossacarídeos, inulina, mananoligossacarídeos (MOS), arabinoxilano-oligossacarídeos, β -glucano, xilooligossacarídeos e isomalto-oligossacarídeos (RINGØ et al., 2010; RINGØ et al., 2014; HOSEINIFAR et al., 2015; DAWOOD et al., 2020) e, dentre estes, o MOS tem-se mostrado capaz de melhorar o crescimento e as respostas imunes de camarões peneídeos através de seus usos isoladamente (BUTT et al., 2021).

Outro aditivo que tem resultado em melhora do desempenho zootécnico e resistência a infecções bacterianas em camarões são os nucleotídeos (HOSSAIN et al., 2020). Os nucleotídeos consistem em três componentes: uma base nitrogenada (purina ou pirimidina), um açúcar de cinco carbonos (ribose no RNA e desoxirribose no DNA) e um ou mais grupos fosfatos (SAENGER, 1973; BOWATER, 2005). Os efeitos dos nucleotídeos na aquicultura já foram observados na promoção do desenvolvimento da morfologia intestinal, como aumento da altura das dobras e da altura das microvilosidades, que melhoram a absorção de nutrientes e a saúde intestinal geral (BOWYER et al., 2019).

A suplementação com nucleotídeos melhorou significativamente as taxas de crescimento, a eficiência alimentar e o valor produtivo da proteína em juvenis de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) (ANDRINO et al., 2012). Além disso, em outro estudo, a taxa de crescimento específico e a eficiência de conversão alimentar foram melhores em *P. vannamei* alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos em comparação com dietas controle (ANDRINO et al., 2012).

Outro benefício observado foi que a adição de nucleotídeos na dieta aumentou a contagem total de hemócitos, a atividade respiratória e da fenoloxidase em *P. vannamei*, indicando uma melhor resposta imunológica (ANDRINO et al., 2012). Outro estudo determinou que os nucleotídeos melhoraram as atividades da lisozima e da superóxido dismutase, cruciais para combater infecções e manter a saúde (YONG et al., 2020).

Além disso, com a inclusão de 90 mg nucleotídeo/kg de ração, foi determinada a melhora na taxa de sobrevivência de *P. vannamei* quando desafiados com *Vibrio parahaemolyticus* (GUO et al., 2016). Andrino et al. (2012), ao alimentar *P. vannamei* com dietas com 0,2%, 0,4% e 0,6% kg^{-1} de concentração de nucleotídeos, determinaram que todos esses tratamentos exibiram maior resistência ao WSSV.

Similarmente, a suplementação com nucleotídeos induziu os camarões a resistir ao estresse por amônia, conforme evidenciado por taxas de sobrevivência mais altas e metabólitos modulados da hemolinfa sob condições de estresse (YONG et al., 2020). Entretanto, apesar dos efeitos benéficos determinados isoladamente para estes aditivos, não há estudos em *P. vannamei* acerca da combinação de mananoligossacarídeos (MOS) e nucleotídeos na dieta e como isto afetaria sua sobrevivência diante de uma infecção por IMNV em sistema simbiótico.

1.1. OBJETIVOS

GERAL

- Avaliar o efeito da dieta com mananoligossacarídeos e nucleotídeos sobre a resposta imunológica da pós-larva de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) desafiado experimentalmente com IMNV.

ESPECÍFICOS

- Analisar o desempenho zootécnico: ganho de biomassa, taxa de crescimento específico e fator de conversão alimentar dos camarões submetidos às dietas com aditivos na fase de berçário;
- Determinar os parâmetros hemato-imunológicos dos camarões desafiados com IMNV;
- Determinar a taxa de sobrevivência dos camarões submetidos ao desafio viral (IMNV) após a administração das dietas com aditivos e;
- Avaliar a presença de lesões sugestivas de infecção por IMNV via histologia de camarões desafiados.

HIPÓTESES

A utilização de aditivos à base de mananoligossacarídeos (MOS), nucleotídeos e sua combinação melhora o desempenho zootécnico das pós-larvas de camarão branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*).

A suplementação com MOS, nucleotídeos e a combinação de ambos aumenta a sobrevivência dos camarões desafiados com o IMNV.

1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC. Desafios e oportunidades para a carcinicultura brasileira em 2023. 2022. Disponível em: <https://abccam.com.br/2022/10/desafios-e-oportunidades-para-a-carcinicultura-brasileira-em-2023/> . Acesso em: 15 jul. 2024.

ANDRINO, K.; SERRANO, A.; CORRE, V. Effects of dietary nucleotides on the immune response and growth of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Asian Fisheries Science*, v. 25, p. 180-192, 2012.

BANERJEE, Debashis; MAITI, Biswajit; GIRISHA, Shivani Kallappa; VENUGOPAL, Moleyur Nagarajappa; KARUNASAGAR, Indrani. A crustin isoform from black tiger

shrimp, *Penaeus monodon*, exhibits broad spectrum anti-bacterial activity. *Aquaculture Reports*, v. 2, p. 106-111, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.08.009>

BERMÚDEZ-ALMADA, M. J.; PLASCENCIA-JATOMEA, M. Detección de *Vibrio* mediante la amplificación de genes de virulencia: su uso como indicador de patogenicidad en el camarón. *Aquaculture Research*, v. 48, n. 1, p. 100-113, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.12967>.

BOWATER, R. P. Nucleotídeos: Estrutura e função. *Trends in Biochemical Sciences*, v. 30, n. 2, p. 62-70, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001333.pub3>.

BOWYER, P. H.; EL-HAROON, E. R.; HASSAAN, M.; SALIM, H.; DAVIES, S. J. Dietary nucleotides enhance growth performance, feed efficiency and intestinal functional topography in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Research*, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ARE.14078>.

DAWOOD, Mahmoud A. O.; METWALLY, Abd El-Salam; EL-SHARAWY, Mohamed E.; ATTA, Ahmed M.; ELBIALY, Zizy I.; ABDEL-LATIF, Hany M. R.; PARAY, Bilal Ahamad. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, v. 523, p. 735205, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735205>.

DE ARAÚJO NEVES, S. R.; MARTINS, P. C. C. Surgimento das doenças virais na Carcinicultura Brasileira: impactos e estratégias da gestão de saúde. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 6, p. 61925-61944, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-529>.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2024: towards blue transformation. Rome: FAO, 2024.

FLORES MOLLO, M.; ARACENA PIZARRO, M. Sistema de monitoreo remoto de acuicultura en estanques. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 46, n. 2, p. 372-382, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3856/vol46-issue2-fulltext-18>.

GIBSON, Glenn R.; ROBERFROID, Marcel B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.

GIBSON, Glenn R.; PROBERT, Helen M.; VAN LOO, J.; RASTALL, Robert A.; ROBERFROID, Marcel B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, v. 17, n. 2, p. 259-275, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/NRR200479>.

GUO, Jingping; GUO, Benyue; ZHANG, Hanle; XU, Wei; ZHANG, Wenbing; MAI, Kangsen. Effects of nucleotides on growth performance, immune response, disease resistance and intestinal morphology in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed with a low fish meal diet. *Aquaculture International*, v. 24, p. 1007-1023, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9967-7>.

HOSEINIFAR, Seyed Hossein; ESTEVES, Ana Margarida; TAGHIZADEH, Vahid; SHIRAZI, Mohammad; RAJABINEJAD, Majid. Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives. *Reviews in Fisheries Science &*

Aquaculture, v. 23, n. 4, p. 315-328, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1052365>.

HUSSAIN, A.; MOHAMMAD, Deyaaedin A.; SALLAM, W. S.; SHOUKRY, N.; DAVIS, D. Effects of culturing the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) in “biofloc” vs “synbiotic” systems on the growth and immune system. *Aquaculture*, v. 542, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2021.736905>.

JIRAVANICHPAISAL, Prasert; LEE, Byung-Il; SÖDERHÄLL, Kenneth. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology*, v. 211, p. 213–236, 2006.

KULKARNI, Aniruddha; RAO, Bhaskar R.; SINGH, Vivek K.; TANEJA, Anshuman; ROY, Partha P.; DAS, Bidhan C. Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. *Reviews in Aquaculture*, v. 13, n. 1, p. 431-459, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/raq.12482>

LI, Chunyan; WENG, Shilu; HE, Jianguang. WSSV–host interaction: host response and immune evasion. *Fish and Shellfish Immunology*, v. 84, p. 558–571, 2019.

LIGHTNER, Donald V.; PANTOJA, Carmen R. Infectious Myonecrosis (IMNV): current status report on the biology of etiological agent and development of diagnostic methods. In: *FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO*, 2004, Rio Grande do Norte. Anais... Rio Grande do Norte, 2004. p. 22.

LUNA-GONZÁLEZ, Antonio; ALMARAZ-SALAS, Judith C.; FIERRO-CORONADO, Jesús A.; FLORES-MIRANDA, Ma. del Carmen; GONZÁLEZ-OCAMPO, Héctor A.; PERAZA-GÓMEZ, Viridiana. The prebiotic inulin increases the phenoloxidase activity and reduces the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*, v. 362–363, p. 28-32, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.002>.

MAITI, Biswajit; JENA, Janmejy; DAS, Soma; KARUNASAGAR, Indrani. Recombinant ferritin protein protects *Penaeus monodon* infected with pathogenic *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 88, p. 99–105, 2010.

MAGOUZ, Fekry; NASR, Mohamed A.; ABOUZOID, Reem M.; MOUSTAFA, Mahmoud A. Dietary nucleotides enhanced growth performance, carcass composition, blood biochemical, and histology features of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture Reports*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.100738>.

MEDZHITOV, Ruslan; JANEWAY, Charles J. Innate immunity. *The New England Journal of Medicine*, v. 343, p. 338–344, 2000.

NATORI, Maurício M.; CARVALHO, Diego S.; BARROS, Jorge A. C.; SILVA, Luiz P.; MOREIRA, Renata C. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. *Informações Econômicas*, v. 41, n. 2, p. 61-73, 2011.

PARTIDA-ARANGURE, Benjamín O.; GONZÁLEZ-MORENO, Carmen A.; IBARRA, Antonia M.; RODRÍGUEZ-JARAMILLO, Claudia; ÁLVAREZ, Rosa M.; ARIAS, Luis. Effect of inulin and probiotic bacteria on growth, survival, immune response, and prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology*, v. 12, p. 3366-3375, 2013.

POULOS, Benjamin T.; LIGHTNER, Donald V. Detection of infectious myonecrosis virus (IMNV) of penaeid shrimp by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 73, n. 1, p. 69-72, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/dao073069>.

RINGØ, Einar; LARSEN, Dorte L.; MATHESON, Richard; KUDALSKY, D.; WONG, T. T.; WANG, S. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, v. 16, n. 2, p. 117-136, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>.

RINGØ, Einar; WANG, Zhen; SHAO, Xuemei; RAHIMI, R.; NASIRI, F.; LARSON, K. Prebiotics in finfish: an update. In: *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*. p. 360-400, 2014.

ROCHA, Ingrid P.; RODRIGUES, José; AMORIM, Luiz A. Carcinicultura Brasileira em 2003. *Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC)*, v. 6, n. 1, p. 30-36, Natal, RN, Brasil. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/carcinicultura-brasileira-o-censo-de-2003/>.

SAENGER, Wolfgang. Structure and function of nucleosides and nucleotides. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 12, p. 591-601, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ANIE.197305911>.

SARDOU, Silvia de Souza Torres; MORAIS, Angela; SILVA, Renato; OLIVEIRA, Luciana. Ocorrência das principais doenças virais na carcinicultura brasileira – revisão de literatura. *Revista de Medicina Veterinária do UNIFESO*, v. 2, n. 01, 2022. ISSN 2764-3263..

SOUZA, D. M.; SUITA, S. M.; MOREIRA, J. B.; MATTOS, D. C. The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture International*, v. 20, n. 5, p. 861-871, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9504-4>.

SONG, Yen-Ling; LI, Ching-Yu. Shrimp immune system - special focus on penaeidin. *Journal of Marine Science and Technology*, v. 22, n. 1, Article 1, 2014. DOI: <https://doi.org/10.6119/JMST-013-0813-1>.

TYAGI, Anjana; KHUSHIRAMANI, Ramesh; KARUNASAGAR, Indrani; KARUNASAGAR, Iqbal. Antivibrio activity of recombinant lysozyme expressed from black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, v. 272, p. 246-253, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.040>.

YONG, A.; ZHANG, Y.; WANG, X.; LI, Y.; ZHANG, Q.; LIU, L.; LI, J. Effects of dietary nucleotides on growth, survival and metabolic response in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, against ammonia stress condition. *Aquaculture Research*, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.14570>.

2. Artigo Científico

Efeito da suplementação conjunta de mananoligossacarídeo (MOS) e nucleotídeos na resposta imune do camarão-branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) diante do desafio experimental com o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV)

2.1. Resumo

Desafios como os surtos virais e bacterianos estão impulsionando a busca por alimentos funcionais que possam contribuir na melhoria do sistema imune dos camarões. Desta forma, prebióticos (como o MOS) e nucleotídeos (NT), podem trazer benefícios no crescimento e na resposta imune dos camarões. No entanto, há escassez de estudos sobre a combinação desses aditivos em juvenis de *P. vannamei* desafiados frente ao Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV). Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da dieta com mananoligossacarídeos (MOS) e nucleotídeos (NT) sobre a resposta imunológica de juvenis de *P. vannamei* desafiados experimentalmente com IMNV. As pós-larvas (PL₂₀ ~ 10 mg) foram estocadas na densidade de 4500 PL m⁻³ e alimentadas com a dieta controle (sem adição de aditivos) até atingir 0,5 g de peso médio. Neste momento, foram redistribuídas em unidades experimentais com volume útil de 50 L (0,05m⁻³), onde foram ofertadas as dietas experimentais (grupo controle C – ração sem adição de aditivos; NT - adição de 0,3 g de nucleotídeo/kg de ração; MOS - adição de 0,54g de MOS/kg de ração; NM - adição de 0,3 g de nucleotídeo/kg e de 0,54g de MOS/kg de ração) por 30 dias para avaliação do desempenho zootécnico. Em seguida, os animais foram desafiados via injeção intramuscular com IMNV (21 dias). Durante os 30 dias da fase de berçário, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto à qualidade da água e os dados de crescimento, entretanto a sobrevivência foi superior no tratamento com adição de MOS de forma isolada. O uso de aditivo na morfologia intestinal não apresentou efeito positivo durante a fase de berçário. Em relação ao desafio com IMNV, foi observado aumento na contagem total de hemócitos com o uso de aditivo e um incremento na sobrevivência para os tratamentos MOS e NT. Desta forma, conclui-se que a combinação dos aditivos nas dosagens avaliadas não apresentou efeito sinérgico positivo, entretanto, de forma isolada, demonstraram um incremento na resistência ao desafio com IMNV.

Palavras-chave: Suplementos alimentares; Desafio viral; Prebióticos.

2.2. INTRODUÇÃO

A produção mundial aquícola tem experimentado um crescimento significativo, impulsionado pela crescente demanda por alimentos provenientes do meio aquático, especialmente devido ao aumento populacional. A carcinicultura desempenha um papel significativo no cenário global, contribuindo com 12,7 milhões de toneladas de produção, sendo os camarões do gênero *Penaeus* responsáveis por 62,2% dessa produção total (FAO, 2024). No Brasil, observa-se um crescimento expressivo na produção do camarão marinho *Penaeus vannamei*, que em 2022, atingiu uma produção de 127,4 mil toneladas, representando um aumento de 139% em relação a 2020. A maior parte dessa produção está concentrada na região Nordeste do país, que se destaca como a principal área produtora, com importantes contribuições de estados como Ceará e Rio Grande do Norte (IBGE, 2023).

A crescente demanda global por camarões exige sistemas de produção que sejam simultaneamente eficientes e sustentáveis. Nesse contexto, os sistemas intensivos e superintensivos destacam-se por maximizarem a produtividade em áreas reduzidas, oferecendo maior retorno econômico. Um exemplo disso pode ser observado no México, onde fazendas superintensivas apresentaram lucratividade 29% superior em comparação a outras atividades agrícolas (NOGUERA-MUÑOZ et al., 2021).

Em berçários intensivos, a densidade de estocagem frequentemente excede 300 pós-larvas por metro quadrado, uma estratégia que otimiza a utilização do espaço disponível. No entanto, essa prática exige um rigoroso controle para mitigar o estresse nos animais e prevenir enfermidades associadas ao aumento da carga orgânica e à competição por recursos (FLORES MOLLO e ARACENA PIZARRO, 2018).

Apesar do crescimento, a produtividade atual (3.000 kg/ha/ano) é bem inferior à de 2003 (6.000 kg/ha/ano), antes dos surtos de doenças virais como o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) e a Síndrome da Mancha Branca (WSSV) (ABCC, 2023). O IMNV foi identificado inicialmente em 2002 no Piauí, Nordeste do Brasil, sendo confirmado como um vírus pertencente à família Totiviridae em 2006 (NEVES & MARTIM, 2021; SARDOU et al., 2022; LIGHTNER & PANTOJA, 2004).

Durante os surtos de doenças virais como o IMNV na carcinicultura, produtores enfrentaram desafios significativos (Luna-González et al., 2012), sendo estratégico o fortalecimento do sistema imunológico dos camarões para mitigar os efeitos dos patógenos. Embora menos complexo que o sistema imunológico de mamíferos, o sistema imune inato dos

camarões desempenha um papel fundamental na defesa contra agentes patogênicos presentes no ambiente aquático (KULKARNI et al., 2021).

O sistema imune inato desses crustáceos é composto por células especializadas como hemócitos, além de moléculas como citocinas presentes na hemolinfa, que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos através de receptores (SONG & LI, 2014; MEDZHITOV & JANEWAY, 2000; JIRAVANICHPAISAL et al., 2006; TYAGI et al., 2007; MAITI et al., 2010; LI et al., 2019a). Desta forma, têm sido adotadas estratégias alternativas, como o uso de promotores de crescimento e saúde na alimentação, incluindo probióticos, prebióticos, simbióticos, imunostimulantes, fitoterápicos e plantas medicinais (LUNA-GONZÁLEZ et al., 2012; PARTIDA-ARANGURE et al., 2013).

Os prebióticos, como os mananoligossacarídeos (MOS), têm sido utilizados para promover o crescimento de bactérias benéficas no intestino dos camarões, melhorando assim sua saúde e resistência a doenças (GIBSON & ROBERFROID, 1995; BINDELS et al., 2015). Os prebióticos são compostos não digeríveis fermentados seletivamente por bactérias anaeróbicas, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), ácido lático e gases como hidrogênio, dióxido de carbono e metano. Esses metabólitos não apenas influenciam o pH intestinal, mas também modulam a função imunológica dos hospedeiros, melhorando sua saúde geral (GIBSON et al., 2004).

Na aquicultura, diversos prebióticos são utilizados, como frutooligossacarídeos (FOS), galacto-oligossacarídeos, inulina e outros, cada um com benefícios específicos na promoção da saúde intestinal e no aumento da resistência a doenças (RINGØ et al., 2010; RINGØ et al., 2014; HOSEINIFAR et al., 2015; DAWOOD et al., 2020). Especificamente, MOS tem demonstrado uma indução à melhora do crescimento e resposta imune dos camarões peneídeos quando utilizado isoladamente (BUTT et al., 2021).

Além dos prebióticos, nucleotídeos têm sido eficazes na aquicultura, promovendo o desenvolvimento da morfologia intestinal e melhorando a absorção de nutrientes. Esses compostos, essenciais para a estrutura dos ácidos nucleicos, demonstraram melhora significativa nas taxas de crescimento, eficiência alimentar e valor produtivo da proteína em juvenis de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) (BOWYER et al., 2019; MAGOUZ et al., 2021).

A suplementação de nucleotídeos em dietas de camarões resulta em melhorias significativas no crescimento, eficiência de conversão alimentar e resposta imunológica. Estudos apontam que camarões alimentados com dietas contendo nucleotídeos apresentaram taxa de crescimento específico e eficiência de conversão alimentar superiores em comparação

com a dieta controle (ANDRINO et al., 2012). Além disso, esses camarões apresentaram aumento na contagem total de hemócitos, atividade respiratória e da fenoloxidase, indicando uma resposta imunológica reforçada (ANDRINO et al., 2012). A adição de nucleotídeos também melhorou atividades enzimáticas chave, como lisozima e superóxido dismutase, cruciais para a defesa contra infecções e manutenção da saúde (YONG et al., 2020). Apesar destes estudos, não se encontram disponíveis informações sobre o efeito sinérgico de MOS e nucleotídeos nas dietas de *P. vannamei* sobre o desempenho zootécnico e resistência a IMNV em sistema simbiótico.

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

Desenho experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos: controle C – ração sem adição de aditivos; NT - adição de 0,3g de produto com nucleotídeo/kg de ração; MOS - adição de 0,54g de produto com MOS/kg de ração; NM - adição de 0,3 g de produto com nucleotídeo/kg e de 0,54g de produto com MOS/kg de ração, ambos com 4 repetições cada, perfazendo 16 unidades experimentais.

Condições experimentais durante a oferta das dietas

Antes da estocagem das pós-larvas, foi realizada a preparação da água. Inicialmente, a água foi clorada a 30 ppm (hipoclorito de cálcio com 65% de cloro ativo) e, em seguida, desclorada apenas com o uso da aeração para o início da fertilização. A preparação do simbiótico foi realizada a cada dois dias, por meio dos processos de ativação das bactérias de forma aeróbia (6 horas), fermentação (24 horas – fase anaeróbia) e respiração microbiana (24 horas – fase aeróbia), totalizando 10 aplicações. Para ativação da preparação do simbiótico, utilizou-se 0,4 g do probiótico comercial (UFC/g) composto por *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium* e *Bacillus pumilus* 10^9 UFC/g), 1,6g de açúcar e 28mL/m³ de água do mar limpa previamente tratada. Após 6 horas de ativação, foram adicionados 16 g de farelo de arroz e 72 mL de água limpa, o qual iniciou os processos de fermentação e, em seguida, respiração microbiana. Após a preparação do simbiótico, 6,25 ml do simbiótico foram distribuídos em cada unidade experimental. Após a estocagem das pós-larvas, a aplicação do simbiótico foi realizada a cada 3 dias.

As pós-larvas da espécie *P. vannamei* (PL₁₀) foram adquiridas em larvicultura comercial e aclimatadas durante 10 dias em tanques de fibra na densidade de 10.000 PL m⁻³.

Após a aclimação, as pós-larvas (PL₂₀ ~ 10 mg) foram estocadas numa densidade de 4.500 PL m⁻³ (225 PLs por unidade experimental) e cultivadas durante 30 dias. Em seguida, os animais foram redistribuídos em unidade experimental com volume útil de 50 L (0,05m⁻³) e densidade de 4PL/L, mantidos sob aeração constante (oxigênio dissolvido >5 mgL⁻¹), através de mangueiras aerotube (20 cm por unidade experimental) e fotoperíodo natural 12/12 h, para a oferta das dietas experimentais. O pH foi mantido entre 7,5 e 8,2 e a alcalinidade total acima de 100 mg CaCO₃/L, corrigida com hidróxido de cálcio e magnésio, na proporção 20 g/m³ a cada 5 (cinco) dias. Durante o experimento, não houve troca de água, exceto a adição de água doce clorada e desclorada para compensar as perdas por evaporação.

As dietas experimentais foram previamente preparadas com a adição de fontes comerciais de MOS e nucleotídeos. A fonte comercial de MOS utilizada apresentava 27,2% de mananas (Hypergen, Biorigin, São Paulo, Brasil), enquanto a fonte de nucleotídeos, derivada de *Saccharomyces cerevisiae*, continha 15% de RNA (Biotide Extra, Biorigin, São Paulo, Brasil). Essas fontes foram incorporadas a rações comerciais com granulometrias de 0,3 mm (49% de proteína bruta e 16% de lipídios, Epicore BioNetworks Inc.) e 0,6 mm (45% de proteína bruta e 9,5% de lipídios, ADM Animal Nutrition Company), utilizando um aglutinante comercial conforme as instruções do fabricante iAqua (São Paulo, Brazil).

Durante a oferta, entre o 1º e o 17º dias, os camarões foram alimentados com a granulometria de 0,3 mm, sendo adotada, a partir deste momento, a granulometria de 0,6 mm. Inicialmente, foi adotada uma taxa diária de alimentação de 35%, o que foi gradualmente reduzido para 6,5% do peso corporal ao final dos 30 dias. A taxa de alimentação foi ajustada baseada em Van Wyk et al. (1999).

Diariamente (às 8 e 16 horas), foram monitorados o oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (AT-160, Oxímetro Microprocessado, AlfaKit). Sólidos sedimentáveis (SS) foram mensurados com auxílio de cone Imhoff (AVNIMELECH, 2012) e pH (pHmetro Akso, Brazil) a cada cinco dias. O nitrogênio da amônia total (NAT), nitrogênio-nitrito (N-NO₂), nitrogênio do nitrato (N-NO₃) e alcalinidade total (CaCO₃) a cada dez dias (APHA, 2012).

Desempenho zootécnico e benefícios econômicos

Inicialmente e a cada dez dias até o final do experimento, foram realizadas biometrias para avaliar o desempenho zootécnico dos camarões. Ao final do experimento, todos os camarões foram pesados e contados para calcular as variáveis zootécnicas: ganho de biomassa,

peso médio final, taxa de crescimento específico, sobrevivência, produtividade e fator de conversão alimentar. Essas variáveis foram calculadas a partir das seguintes fórmulas:

$$\text{Ganho de Biomassa} = \text{Biomassa Final} - \text{Biomassa Inicial}$$

$$\text{Peso Médio Final} = \frac{\text{Biomassafinal (g)}}{\text{nº de animais ao final do experimento}}$$

$$\text{Taxa de Crescimento Específico} = \frac{\ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial}}{\text{Nº dias}} \times 100$$

$$\text{Sobrevivência (\%)} = \left(\frac{\text{nº final de animais}}{\text{nº inicial de animais}} \right) \times 100$$

$$\text{Produtividade (Kg / m³)} = \frac{(\text{Biomassafinal} \div 1000)}{\text{Volume utilizado no experimento (m³)}}$$

$$\text{Fator de Conversão Alimentar} = \frac{\text{Alimentação fornecida (Peso da ração)}}{\text{Ganho de Biomassa}}$$

Os custos dos aditivos e animais foram estimados da seguinte forma para fins de cálculos: USD 6.5 NT/kg; USD 9.5 MOS/kg; USD 16.5 /kg ração de berçário e USD 2.38 para 100.000 pós-larvas. Os benefícios econômicos na produção de *P. vannamei* foram calculados utilizando uma abordagem baseada na metodologia de Retorno sobre Investimento (ROI), conforme descrito por Phillips & Phillips (2019). A fórmula utilizada foi:

$$\text{USD/100.000 juvenis produzidos} = ((\text{números de PL estocadas} \times \text{sobrevivência} \times \text{peso final} \times \text{FCA} \times 0,001) \times \text{preço da ração}) + (\text{custo para 100.000 pós-larvas}) + \text{custo do aditivo} / \text{sobrevivência}$$

A análise das diferenças relativas entre os custos de produção foi realizada utilizando a fórmula descrita por Triola (2020):

$$\text{Diferença Relativa (\%)} = \frac{\text{Custo Controle} - \text{Custo Tratamento}}{\text{Custo Controle}} \times 100$$

Essa fórmula foi aplicada para comparar os tratamentos (NT, MOS e NM) em relação ao controle, permitindo calcular as reduções percentuais nos custos de produção. Essa

abordagem oferece uma interpretação quantitativa das diferenças econômicas observadas entre os grupos, mesmo na ausência de replicações estatísticas tradicionais.

Contagem total de hemócitos

Ao término do experimento de oferta das dietas com aditivos, foi efetuada a coleta de hemolinfa dos camarões (4 por tratamento), conforme o protocolo estabelecido por Guertler et al. (2013), para a contagem total de hemócitos. Para tanto, utilizaram-se 100 µl de hemolinfa coletada, que foi misturada com uma solução de anticoagulante modificada (MAS-Formol) contendo formaldeído a 4%. A estimativa do número de células foi realizada utilizando uma câmara de Neubauer, sendo as contagens executadas em triplicata.

Morfologia intestinal

Após o período de oferta das dietas com aditivos, foram coletados intestinos (4 camarões por tratamento) para análise da morfologia intestinal. Os intestinos coletados foram imersos em solução de Davidson (AFA) por 70 horas, seguida pela transferência para uma solução de etanol a 70% para a confecção das lâminas histológicas (micrótomo, Leica). Estas lâminas foram submetidas à coloração com hematoxilina e eosina (HE), conforme descrito por Lightner (1996). Os cortes histológicos foram analisados e fotografados utilizando um microscópio óptico (BX 41 OLYMPUS, Olympus Corporation, Tóquio, Japão) equipado com uma câmera Leica (K5) e objetivas de 40x e 100x.

As medições histomorfológicas do intestino foram realizadas utilizando o software ImageJ (1.46r), conforme descrito por Pérez-Pascual et al. (2017). Foram avaliados os seguintes parâmetros: (1) altura do vilo (VH), definida como a distância entre a membrana basal e o topo do vilo; (2) largura das vilosidades (VW), medida transversalmente na porção média do vilo; (3) altura da dobra intestinal (FH), determinada como a distância entre a membrana basal e o início da camada de enterócitos; e (4) altura dos enterócitos (EH), correspondente à espessura da camada de enterócitos. Para garantir a precisão das medições, foram analisadas todas as vilosidades visíveis em cada lâmina histológica.

Desafio viral

Após 30 dias do experimento de oferta das dietas com aditivos, foi realizado o desafio viral com IMNV, segundo Silva et al. (2015), através de injeção intramuscular usando um inóculo com carga viral de 10^6 cópias/µg de RNA total. Nesta etapa, os animais foram novamente transferidos para unidades de 15 L de volume útil, mantendo a densidade de 1

camarão/litro, utilizando-se a água da etapa de engorda (parâmetros da água utilizada: Amônia [mg N- (NH₄ + NH₃) L⁻¹] 2,65 ± 4,96, Nitrito (mg N-NO₂. L⁻¹) 2,71±2,99, Nitrato (mg N- NO₃. L⁻¹) 1,58 ± 1,8 e Ortofosfato (mg PO₄. L⁻¹) 30,36 ± 35,27).

O desafio viral durou 21 dias e, diariamente, os camarões foram monitorados para a observação de sinais clínicos de infecção por IMNV e mortalidade. Todos os camarões mortos e sobreviventes ao final do experimento foram coletados e estocados a -80°C, para análise de PCR visando a confirmação da infecção por IMNV. Os animais que apresentaram sinais e ficaram moribundos foram fixados para análise histopatológica.

Extração de RNA, síntese de cDNA e nested-PCR

A extração de RNA foi realizada utilizando Trizol®, conforme as instruções do fabricante, e a síntese de cDNA foi conduzida com o kit Improm-II™ Reverse Transcription System (Promega, Madison, WI, USA), usando 130 ng/μl de RNA total e 0.5 μg de oligo(dT)₁₅, seguindo os protocolos recomendados pelo fabricante. Para a nested-PCR foi utilizado o protocolo de Poulos e Lightner (2006).

Análise histopatológica

Na fase de desafio viral, os camarões moribundos de cada tratamento tiveram o tecido abdominal coletado. Os tecidos abdominais coletados foram imersos em solução de Davidson (AFA) por 70 horas, seguida pela transferência para uma solução de etanol a 70% para a confecção das lâminas histológicas, conforme descrito por Lightner (1996).

Para avaliar a infiltração hemocítica e a presença de necrose nos tecidos infectados, foi aplicada a metodologia de Cervellione et al. (2017). A infiltração celular e a necrose foram avaliadas como porcentagem da área total do tecido, calculada pela relação entre a área infiltrada ou necrosada e a área total do tecido analisado, com classificações estabelecidas a partir de Kumeiko et al. (2018) e Gomes et al. (2021) da seguinte forma: não infiltrado (< 10%), infiltração mínima ou ausente de resposta imunológica visível; infiltração Leve (10%-24%); infiltração Moderada (25% a 49%) e infiltração Avançada (>50%), indicando necrose avançada ou estágio final da infecção.

A captura de imagens das amostras histológicas foi realizada utilizando um microscópio Olympus equipado com uma câmera Leipzig e o software Future WinJoe. Posteriormente, as imagens foram analisadas por meio do software ImageJ versão 2.7.0 para a quantificação precisa das áreas de infiltração hemocítica em relação à área total do tecido.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos aos testes de homogeneidade (teste de Levene) e normalidade (teste de Shapiro-Wilk). A ANOVA unidirecional foi aplicada nas seguintes variáveis: contagem total de hemócitos, produtividade (kg/m^3), FCA, peso final, taxa de crescimento específico, sobrevivência ao final do desafio de IMNV e; para as variáveis de qualidade da água, alcalinidade, nitrogênio-nitrito, nitrogênio do nitrato e ortofosfato, foi utilizada ANOVA de medidas repetidas. Para a avaliação das diferenças entre as médias, foi utilizado o teste de Tukey (HSD - Honest Significant Difference).

Para os dados não paramétricos, foi utilizado o teste de Friedman em análises de parâmetros de qualidade de água como salinidade, pH, sólidos sedimentáveis e NAT amônia. O teste U de Mann-Whitney para amostras independentes e o teste de Kruskal-Wallis com a correção de Bonferroni (comparação pareada) foram utilizados para a sobrevivência durante a engorda e para análise das vilosidades do intestino (ZAR, 2013). Para todas as análises, foi considerado o nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do R, versão 4.4.0, via R Studio, versão 2024.04.1+748.

2.4. RESULTADOS

Qualidade de Água

Durante a fase de berçário, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos em relação às variáveis de qualidade da água (Tabela 1).

Desempenho Zootécnico

Os dados de desempenho dos camarões ao final da fase de berçário estão resumidos na Tabela 2. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para a produtividade (kg m^{-3}), FCA, peso final e TCE. Entretanto, a sobrevivência foi significativamente maior no tratamento com MOS (99,70%).

Tabela 1. Variáveis de qualidade de água dos berçários de *P. vannamei* alimentados com as dietas experimentais durante 30 dias.

Variáveis	Tratamentos			
	NT	MOS	NM	Controle (C)
Salinidade (gL ⁻¹)	30,94±2,25	30,82±2,19	30,97±2,19	30,85±2,50
pH	7,47±0,43	7,40±0,44	7,38±0,43	7,42±0,47
Sólidos sedimentáveis (mL L ⁻¹)	0,94±1,00	1,48±2,12	0,69±0,65	1,17±1,60
Amônia [mg N- (NH ₄ + NH ₃) L ⁻¹]	0,52±0,59	0,36±0,48	0,90±1,05	0,25±0,29
Nitrito (mg N-NO ₂ . L ⁻¹)	5,22±5,73	5,44±6,73	9,29±5,78	8,58±8,22
Nitrato (mg N- NO ₃ . L ⁻¹)	1,66±0,86	1,04±0,97	0,94±1,06	0,94±0,90
Ortofosfato (mg PO ₄ . L ⁻¹)	34,65±22,46	46,39±37,70	34,61±42,80	22,56±19,64
Alcalinidade (mg CaCO ₃ . L ⁻¹)	121,15±48,05	115,71±36,21	106,67±37,32	114,58±42,07
Oxigênio Dissolvido (mgL ⁻¹) (Manhã)	6,25±0,45	6,14±0,5	6,22±0,57	6,33±0,5
Oxigênio Dissolvido (mgL ⁻¹) (Tarde)	6,81±0,67	6,19±0,4	6,26±0,46	6,32±0,3
Temperatura (°C) (Manhã)	30,29±0,61	30,12±2,0	30,31±0,60	30,31±0,6
Temperatura (°C) (Tarde)	30,56±3,0	30,22±1,13	30,29±0,5	30,27±0,5

Os dados correspondem à média ± desvio padrão. Os resultados foram analisados por ANOVA de medidas repetidas ($p < 0,05$) seguido pelo teste de Tukey para dados paramétricos e teste de Friedman ($p \leq 0,05$) seguido pelo teste de comparações múltiplas de Conover com correção de Holm-Bonferroni para dados não paramétricos. Os valores médios na mesma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente.

Tabela 2. Variáveis de desempenho zootécnico de *P. vannamei* na fase de berçário após a oferta de dietas com inclusão de aditivos durante 30 dias.

Tratamentos	kg.m ³	Sobrevivência (%)	FCA	Peso Final (g)	TCE (%)
NT	1,81±0,10	89,63±2,96 ^b	1,33±0,07	0,45±0,03	12,68±0,20
MOS	1,79±0,05	99,70±0,26 ^a	1,34±0,03	0,40±0,01	12,30±0,08
NM	1,84±0,10	92,00±8,23 ^b	1,31±0,07	0,45±0,05	12,65±0,38
Controle (C)	1,79±0,25	89,11±1,56 ^b	1,36±0,20	0,45±0,06	12,63±0,41

Dados correspondem à média ± desvio padrão. Os resultados (kg.m³, FCA, peso final e TCE) foram analisados por meio da ANOVA ($p < 0,05$), seguido pelo teste de Tukey. A sobrevivência foi analisada por meio do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) com a correção de Bonferroni. Os valores médios na mesma coluna com sobrescritos diferentes diferem significativamente.

Benefícios econômicos

Em termos econômicos, os custos de produção de 100.000 juvenis de *Penaeus vannamei* foram: Controle - USD 1.276,89; NT - USD 1.261,27; MOS - USD 1.117,47; e NM - USD 1.224,85. Esses valores resultaram em ganhos econômicos de USD 15,62 (NT), USD 159,41 (MOS) e USD 52,03 (NM) quando comparados ao controle.

A análise das diferenças relativas revelou uma redução de 1,22% nos custos para o tratamento NT, 12,49% para o tratamento MOS e 4,08% para o tratamento NM em relação ao controle. Esses resultados indicam uma tendência de economia nos custos associada ao uso de aditivos, destacando o potencial benefício econômico desses tratamentos.

Contagem total de hemócitos após a oferta da dieta com aditivos

O tratamento com a combinação dos aditivos NT e MOS (NM) resultou em uma contagem de hemócitos significativamente superior ($4,77 \pm 1,77 \times 10^6$ células mL^{-1}) em relação aos demais tratamentos. Em contrapartida, os tratamentos com a adição isolada de nucleotídeo (NT) ($2,48 \pm 1,35 \times 10^6$ células mL^{-1}) e mananoligossacarídeos (MOS) ($2,37 \pm 1,62 \times 10^6$ células mL^{-1}) não tiveram diferença entre si, sendo o controle ($1,38 \pm 0,89 \times 10^6$ células mL^{-1}) o que apresentou as menores contagens entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem de total de hemócitos dos juvenis de *P. vannamei* após 30 dias de oferta de ração com aditivos.

Tratamentos	CTH ($\times 10^6$ células mL^{-1})
NT	$3,07 \pm 1,00^b$
MOS	$3,07 \pm 1,20^b$
NM	$6,72 \pm 0,54^a$
Controle	$1,71 \pm 0,78^c$

Dados correspondem à média $\pm$ desvio padrão. Os resultados foram analisados por meio da ANOVA ($p < 0,05$) seguido pelo teste de Tukey. Os valores médios na mesma coluna com sobrescritos diferentes diferem significativamente.

Morfologia intestinal

Os resultados da análise da morfologia intestinal dos juvenis de *P. vannamei* após 30 dias de tratamento com aditivos dietéticos mostraram variações significativas entre os

diferentes tratamentos. Os intestinos dos camarões do controle apresentaram uma das maiores alturas da dobra (18,55 μm), enquanto o tratamento NM apresentou a menor altura (7,72 μm), evidenciando uma diferença significativa entre esses tratamentos. Os tratamentos NT e MOS não mostraram diferenças significativas entre si na altura da dobra, com valores médios significativamente maiores que o tratamento NM, mas semelhantes ao controle (Tabela 4).

Em relação à altura dos enterócitos, altura e largura da vilosidade, o tratamento com MOS apresentou os maiores valores, sendo 6,64 μm , 11,92 μm e 11,42 μm , respectivamente. Contudo, MOS foi superior apenas na largura da vilosidade, enquanto o tratamento NM continuou apresentando os menores valores (3,24 μm , 5,60 μm e 6,01 μm , respectivamente), evidenciando os resultados inferiores desse tratamento. Na largura da vilosidade, foi observado que o tratamento MOS apresentou resultados semelhantes ao controle, enquanto os camarões pertencentes ao tratamento NM também foram semelhantes ao controle, embora MOS e NT foram significativamente diferentes entre si (Tabela 4).

Tabela 4. Morfologia intestinal de juvenis de *P. vannamei* após 30 dias de oferta de ração com aditivos.

Variáveis	Tratamentos			
	NT	M	NM	Controle
Altura da Dobra (μm)	15,38 $\pm$ 2,26 ^a	14,63 $\pm$ 0,82 ^a	7,72 $\pm$ 0,93 ^b	18,55 $\pm$ 1,82 ^a
Altura dos Enterócitos (μm)	5,33 $\pm$ 1,42 ^b	6,64 $\pm$ 1,78 ^a	3,24 $\pm$ 0,69 ^c	7,72 $\pm$ 1,26 ^a
Altura da Vilosidade (μm)	10,14 $\pm$ 1,43 ^a	11,92 $\pm$ 6,83 ^a	5,60 $\pm$ 1,96 ^b	10,44 $\pm$ 1,53 ^a
Largura da Vilosidade (μm)	8,45 $\pm$ 2,44 ^a	11,42 $\pm$ 5,31 ^b	6,01 $\pm$ 3,04 ^c	7,21 $\pm$ 2,06 ^a

Dados correspondem à média $\pm$ desvio padrão. Os dados não paramétricos foram analisados por Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) com a correção de Bonferroni (comparação pareada). Letras diferentes entre a coluna indicam diferenças significativas.

Desafio viral

Para a 1ªPCR, foram determinados os seguintes percentuais de amostras positivas: 0% para NT; 33% para MOS; 66% para NM e 66% para o controle; enquanto que para a 2ª PCR, todas as amostras foram positivas (100% de detecção).

Quanto à sobrevivência dos camarões submetidos ao desafio experimental, os resultados revelaram que a sobrevivência é reduzida significativamente a partir do oitavo dia em todos os tratamentos, com diferenças significativas entre os tratamentos MOS e NT quando comparados ao NM e controle. Os tratamentos MOS e NT apresentaram as mais altas taxas médias de sobrevivência, com 30,56% e 26,67%, respectivamente, seguidos de controle e NM, com 15,56 % e 11,11% (Figura 1).

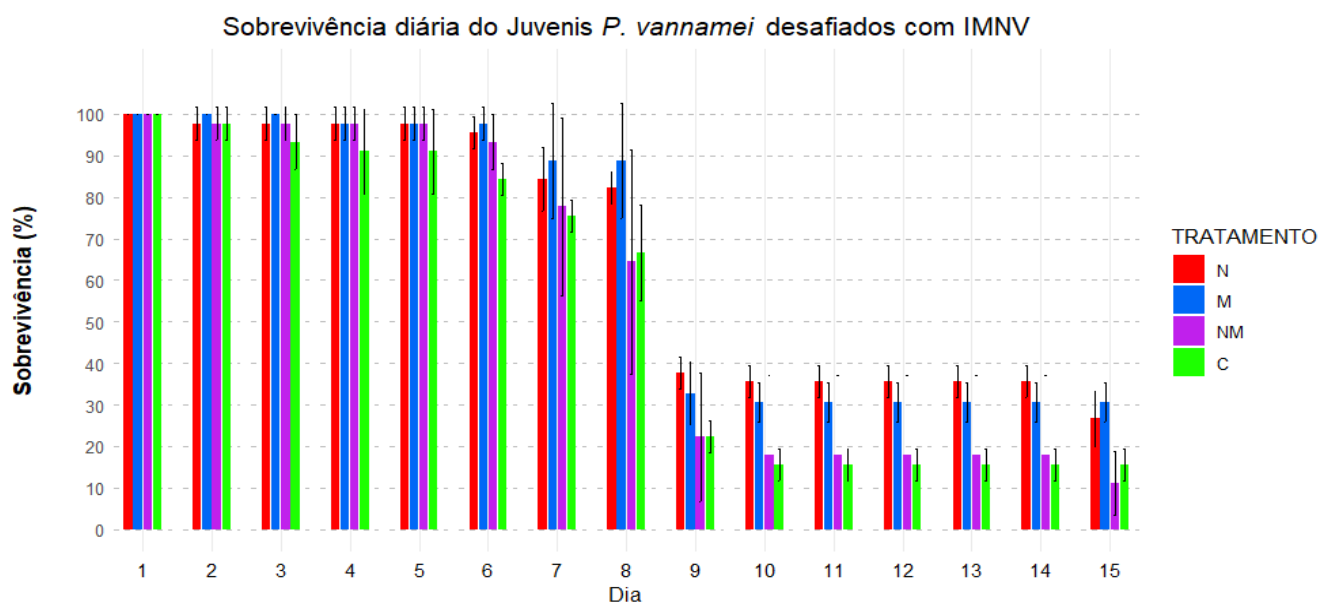


Figura 1. Sobrevivência (em porcentagem) diária de juvenis de *P. vannamei* desafios ao IMNV.

Análise histopatológica

Foram determinados diferentes níveis de infiltração hemocítica nos tratamentos NT, MOS, NM e controle submetidos ao desafio do IMNV. Os resultados indicam variações nos níveis de infiltração entre os diferentes tratamentos (Figura 2).

Os camarões dos tratamentos NT e NM apresentaram níveis de infiltração classificados como "não infiltrados". Por outro lado, os camarões tratados apenas com MOS exibiram níveis mais baixos de infiltração, "infiltração moderada", enquanto o grupo controle apresentou "infiltração leve" (Figura 2).

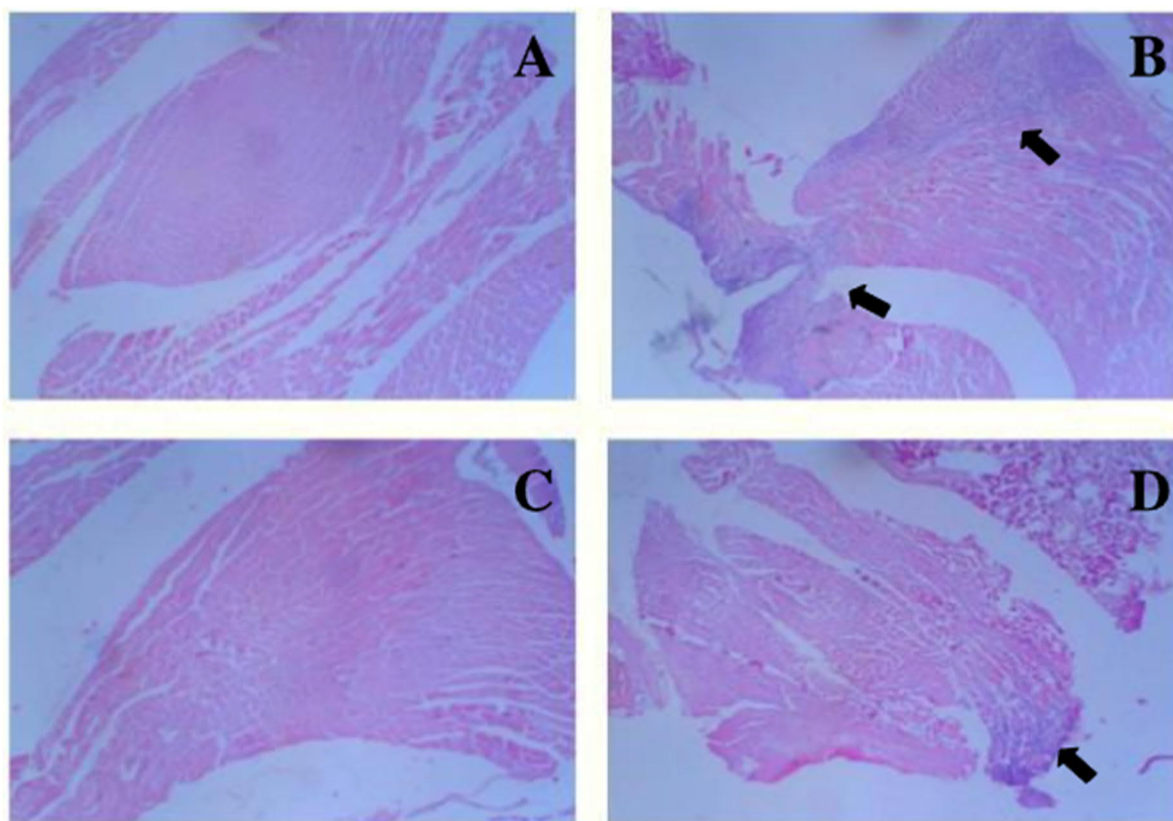


Figura 2. Imagens microscópicas (x10) do tecido abdominal do *P. vannamei*, mostrando infiltrações hemocíticas nos diferentes tratamentos. A) Tratamento com Nucleotídeo - Não Infiltrado; B) Tratamento com MOS - Infiltração Moderada; C) Tratamento com Nucleotídeo e MOS (NM) - Não Infiltrado; D) Controle - Infiltração Leve.

2.5. DISCUSSÃO

As variáveis de qualidade de água durante a fase de berçário e no desafio com IMNV permaneceram dentro de faixas aceitáveis para o cultivo de *P. vannamei* (VAN WYK et al., 1999; KUHN et al., 2010; VALENCIA-CASTAÑEDA et al., 2019), indicando que os aditivos empregados não afetam a qualidade da água, ao passo que o sistema simbiótico mostrou uma capacidade notável de regular compostos nitrogenados em berçários de camarões marinhos com salinidade inferior a 30 gL^{-1} .

Andrade et al. (2021) revelaram resultados semelhantes, destacando a importância do sistema simbiótico para o controle eficaz desses compostos. Esta estratégia tem se mostrado extremamente eficiente para preservar a qualidade da água e melhorar a performance zootécnica dos camarões durante o período de berçário (ANDRADE et al., 2021). A qualidade da água nos sistemas com inclusão de MOS apresentou um aumento nos valores de sólidos sedimentáveis em comparação aos demais sistemas, embora sem diferenças significativas.

Os dados de desempenho (produtividade, peso final, FCA e TCE) dos camarões após 30 dias na fase de berçário não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, a sobrevivência foi maior no tratamento com MOS. Há poucos estudos que exploram o uso de aditivos derivados de leveduras nessa fase inicial da produção, especialmente devido ao tempo reduzido de oferta da dieta e à forma de aplicação dos aditivos. No entanto, pesquisas recentes em sistemas simbióticos têm mostrado resultados positivos na fase de berçário (ANDRADE et al., 2021; LIMA et al., 2021; PANIGRAHI et al., 2020). Esses sistemas favorecem o crescimento de microrganismos probióticos, o controle de compostos nitrogenados e a supressão de *Vibrio*, o que pode explicar a similaridade no crescimento e no FCA entre os tratamentos.

Apesar de não terem sido identificadas diferenças no desempenho zootécnico entre os tratamentos, observou-se um benefício econômico ao levar em conta a produção de 100.000 camarões juvenis. Incorporar nucleotídeos (NT) e manoligossacarídeos (MOS) em berçários de *P. vannamei* com sistemas simbióticos pode diminuir os gastos de produção. Em uma situação hipotética de um tanque de berçário comercial com 100.000 pós-larvas, a produção com aditivos apresenta custos inferiores aos do controle em USD 15,62, USD 159,41 e USD 52,03, respectivamente, quando comparado ao uso isolado de NT, MOS ou à combinação de aditivos (NM). Estes achados indicam consideráveis vantagens financeiras decorrentes da maior eficiência na alimentação e da melhoria da saúde dos camarões durante a fase de berçário. Esse benefício econômico é especialmente relevante em sistemas de aquicultura intensiva, onde os custos com alimentação representam a maior parte das despesas operacionais, chegando a equivaler a 60% dos custos da produção, como foi observado em um estudo de Engle et al. (2017).

Ao final da fase de berçário, observou-se uma maior contagem total de hemócitos (células de defesa dos camarões), nos tratamentos com a adição de NM. Esse aumento de CTH é um indicativo de uma melhor saúde dos camarões ao final do ciclo de berçário, podendo ser um indicativo de uma maior probabilidade de sobrevivência após transferência para os viveiros de engorda. Esses resultados na fase de berçários estão em consonância com os estudos conduzidos por Solidum et al. (2016), Mameloco e Traifalgar (2020) e Wang et al. (2021) com juvenis de *P. vannamei*, que investigaram os efeitos da suplementação com MOS e/ou β -glucano e observaram maior contagem total de hemócitos nos camarões alimentados com rações contendo esses aditivos.

Novriadi et al. (2022) observaram que a inclusão de nucleotídeos (NT) em rações para juvenis de *P. vannamei*, com substituição parcial da farinha de peixe por proteína vegetal,

resultou em um aumento na contagem total de hemócitos (CTH). De forma semelhante, Andrino et al. (2012) relataram não apenas o aumento de CTH, mas também uma maior atividade respiratória e de fenoloxidase em camarões alimentados com dietas contendo nucleotídeos. Esses resultados, obtidos com a adição de MOS e NT, corroboram os achados deste estudo, que indicam um aumento de CTH nos camarões alimentados com rações suplementadas com aditivos à base de leveduras.

A contagem total de hemócitos (CTH) é um indicador chave da resposta imunológica em *P. vannamei*, sendo essencial para funções como fagocitose, coagulação e produção de compostos antimicrobianos. Nos tratamentos avaliados, a suplementação com aditivos dietéticos, particularmente NM, promoveu um aumento significativo na CTH, destacando seu potencial imunomodulador. Tratamentos com MOS e NT também apresentaram melhorias, embora menos acentuadas, sugerindo que diferentes tipos de aditivos podem exercer efeitos variados sobre a hematopoiese e a mobilização de hemócitos.

Supino et al. (2021), relataram aumentos consistentes na CTH em camarões suplementados com probióticos, como *Bacillus coagulans*, demonstrando que a inclusão de aditivos dietéticos favorece a resposta imunológica. A ativação do sistema imune de *P. vannamei* ocorre em resposta a estímulos como infecções e estresse ambiental, desencadeando a produção e liberação de hemócitos na hemolinfa (PAM et al., 2019). Além disso, fatores estressores, como variações de temperatura, podem mobilizar hemócitos dos tecidos para a hemolinfa, resultando em aumentos temporários da CTH (LI et al., 2013). Esse mecanismo fisiológico pode explicar os resultados observados, especialmente nos tratamentos que se destacaram, reforçando o papel dos aditivos no fortalecimento da resposta imune.

A exposição a patógenos desencadeia uma resposta imunológica robusta em *P. vannamei*, mediada pela liberação de peptídeos antimicrobianos e citocinas, que ativam e proliferam hemócitos, promovendo funções como fagocitose e liberação de enzimas antimicrobianas (HUANG et al., 2013). Nos tratamentos com NT e MOS, o aumento significativo da contagem total de hemócitos (CTH) observado anteriormente parece ter contribuído para uma maior sobrevivência dos camarões frente ao desafio, reforçando o papel dos hemócitos na defesa contra patógenos. A sobrevivência nesses tratamentos foi superior à do controle e ao NM, indicando uma resposta imunológica mais eficaz.

Os hemócitos também desempenham um papel crucial na produção de fenoloxidase, uma enzima fundamental para a coagulação e o encapsulamento de patógenos, isolando agentes infecciosos e limitando sua disseminação (YEH et al., 2009). Esse mecanismo demanda um

aumento contínuo de CTH, o que pode explicar a maior eficiência imunológica nos tratamentos com NT e MOS, que apresentaram melhores taxas de sobrevivência.

Alguns estudos sugerem que a adição de derivados de leveduras, tais como mananoligossacarídeos (MOS) e β -glucano, tem um impacto considerável na regulação do sistema imunológico de camarões, potencializando sua resistência a agentes patogênicos. Solidum et al. (2016) notaram que doses moderadas de MOS mais β -glucano impulsionaram a sobrevivência de juvenis de *P. vannamei* expostos ao *Vibrio parahaemolyticus*. Contudo, os autores também mencionaram que doses elevadas dessa suplementação resultaram em supressão imunológica, sugerindo que a dosagem é um elemento crucial para o rendimento imunológico. O uso combinado de nucleotídeos e MOS (NM) apresentou resultados de sobrevivência inferiores em comparação aos tratamentos com a aplicação desses prebióticos de forma isolada. Portanto, os resultados indicam que a utilização de produtos derivados de leveduras precisa ser equilibrada para aumentar a resistência imunológica dos camarões sem provocar efeitos prejudiciais.

Andrino et al. (2012), ao avaliar a inclusão de nucleotídeos na dieta de *P. vannamei*, também observaram benefícios significativos em termos de sobrevivência frente ao desafio com o vírus WSSV. Sabry Neto e Nunes (2015), com a adição de β -glucano, observaram uma significativa melhoria na sobrevivência dos camarões diante do desafio com o vírus IMNV e Haryanti et al. (2020), analisando os efeitos de nucleotídeos sintéticos e levedura inteira de *Saccharomyces cerevisiae* na sobrevivência e resposta imunológica de *P. vannamei* desafiados com IMNV, também observaram maior taxa de sobrevivência quando comparado ao tratamento controle. Esses resultados foram obtidos com a adição de MOS e NT, corroborando os resultados observados de maior sobrevivência.

Entretanto, a combinação de NT e MOS (tratamento NM) foi semelhante ao controle em termos de sobrevivência, apesar de apresentar a maior contagem de hemócitos. Esses resultados ressaltam que a eficácia de um tratamento pode depender de múltiplos fatores, como a frequência de administração, a combinação específica de aditivos e a dose ideal de cada componente.

Estudos prévios, como o de Mameloco e Traifalgar (2020), sugerem que protocolos de suplementação ajustados, como a aplicação intercalada de aditivos, podem ser mais eficazes na promoção de respostas imunológicas robustas. Assim, a sobrevivência dos camarões pode estar relacionada a uma interação mais complexa entre os fatores imunológicos e os parâmetros de manejo utilizados no experimento.

Outra vantagem significativa dos MOS é a modulação da flora intestinal, promovendo a proliferação de bactérias benéficas, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, enquanto reduzem bactérias patogênicas, como o *Vibrio*, aumentando a resistência do camarão a enfermidades e infecções (GAINZA & ROMERO, 2020). Já os nucleotídeos desempenham um papel essencial na produção de DNA e RNA. Quando fornecidos via fonte exógena por meio da dieta, podem ser utilizados diretamente na síntese de ácidos nucleicos, favorecendo células com alta capacidade de proliferação, como aquelas do sistema imunológico e digestivo. Esse processo é particularmente importante para o desenvolvimento celular, a regeneração tecidual e a multiplicação celular eficaz (CAO et al., 2011).

No âmbito do presente estudo, o tratamento com nucleotídeos (NT) demonstrou uma taxa de sobrevivência superior à do grupo controle, ressaltando os benefícios deste aditivo, visto que segundo Jing (2011), está associado à produção de hemócitos, células cruciais na defesa contra patógenos, e ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), que resguardam as células contra o estresse oxidativo. Além disso, os nucleotídeos promovem a ativação de enzimas lisossomais, como a lisozima e a fenoloxidase, fundamentais na remoção de patógenos invasivos (JING, 2011).

A utilização de suplementos contendo nucleotídeos (NT) e mananoligossacarídeos (MOS) tem recebido grande reconhecimento por aprimorar a saúde intestinal e reforçar o sistema imunológico em organismos aquáticos. Os nucleotídeos são fundamentais para a regeneração celular, particularmente em situações de rápido crescimento e recuperação de tecidos (YONG et al., 2020). Além disso, a estabilidade energética proporcionada pelos NT, aliada ao controle do metabolismo de proteínas, glicose e lipídios possibilitam uma distribuição mais eficaz de energia para processos de crescimento e resposta imunológica (GUO et al., 2016). Neste estudo, o tratamento com nucleotídeos não diferiu do controle, sugerindo que, mesmo sem trazer benefícios notáveis, a utilização dos nucleotídeos não afetou a integridade do intestino.

Similarmente, o tratamento MOS não foi distinto do grupo controle para as variáveis histológicas do intestino, como a altura das vilosidades e a largura das vilosidades. Isso indica que, em sistemas equilibrados, a suplementação isolada dos MOS não modifica significativamente a morfologia do intestino. Porém, a capacidade dos MOS de favorecer a saúde digestiva e imunológica está fortemente associada a sua função na regulação da microbiota intestinal e no aprimoramento da eficiência digestiva (ZHANG et al., 2012).

Por outro lado, a combinação de NT e MOS no tratamento NM revelou um rendimento inferior nas variáveis histológicas analisadas, com quedas significativas na altura da dobra, na

altura dos enterócitos, na altura das vilosidades e na largura das mesmas. Essa regressão pode ser explicada por potenciais interações adversas ou antagonismos entre os dois aditivos quando usados em conjunto, restringindo seus efeitos positivos individuais. Pesquisas indicam que combinações impróprias de aditivos podem provocar efeitos sinérgicos nocivos, destacando a necessidade de modificações nas formulações para assegurar os benefícios de cada suplemento (ZHANG et al., 2012). Adicionalmente, a interação entre elementos como nucleotídeos e prebióticos pode afetar diretamente os processos de regeneração tecidual e a resposta imunológica, conforme ressaltado por Wang et al. (2021) em pesquisas sobre prebióticos utilizados em organismos aquáticos.

A infecção pelo IMNV em *P. vannamei* manifesta-se predominantemente por necrose das fibras musculares no tecido abdominal, acompanhada de infiltração de células de defesa, como os hemócitos, nas áreas afetadas. Esse processo imunológico gera uma resposta inflamatória que resulta na aparência esbranquiçada e opaca do músculo, uma característica marcante da doença (PUSPITASARI et al., 2023).

No presente estudo, as análises histológicas revelaram a presença de infiltração hemocítica no músculo abdominal, com infiltração mínima ou ausência de infiltração visível nos camarões dos tratamentos NT e NM. Segundo Baladrat et al. (2022), o processo de infiltração atua como um mecanismo de encapsulamento e isolamento das células necrosadas, com o objetivo de restringir a propagação do dano. Contudo, esse mecanismo imunológico, apesar de proteger, pode também intensificar a lesão muscular ao aumentar a inflamação local. Trata-se de uma reação imunopatológica que visa eliminar o vírus, mas que, ao mesmo tempo, favorece a progressão do dano tecidual.

2.6. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo indicam que a adição isolada de 0,3 g de nucleotídeos/kg de ração (NT) ou 0,54 g de mananoligossacarídeos/kg de ração (MOS) apresenta benefícios distintos no cultivo de *P. vannamei* em berçários intensivos com sistema simbiótico. Em particular, MOS se mostrou mais eficiente em elevar a taxa de sobrevivência durante a fase de berçário, auxiliando para um desempenho econômico superior nesta fase. O tratamento com NT resultou em uma contagem de hemócitos semelhante à obtida com MOS, e ambos foram superiores ao controle, indicando melhorias na resposta imunológica dos camarões.

Apesar dos dois aditivos terem demonstrado benefícios em diversas áreas, a combinação de NT e MOS (NM) não trouxe benefícios adicionais relevantes, exibindo taxas de sobrevivência após o desafio com IMNV similares às do grupo controle.

Estes resultados ressaltam que a aplicação individual de NT ou MOS é uma tática eficaz e duradoura para a aquicultura intensiva, favorecendo a saúde, o rendimento e a eficácia produtiva. A escolha cuidadosa de aditivos funcionais, levando em conta seus impactos específicos durante o ciclo de produção, são cruciais para aprimorar a saúde e a eficiência produtiva dos camarões.

2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC. Desafios e oportunidades para a carcinicultura brasileira em 2023. 2022. Disponível em: <https://abccam.com.br/2022/10/desafios-e-oportunidades-para-a-carcinicultura-brasileira-em-2023/> . Acesso em: 15 jul. 2024.

ALDERMAN, D. J.; HASTINGS, T. S. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance—potential for consumer health risks. *International journal of food science & technology*, v. 33, n. 2, p. 139-155, 1998. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.3320139.x>

ANDRADE, R.; SANTOS, E.; COSTA, G.; CAMPOS, C.; SILVA, S.; GÁLVEZ, A.; BRITO, L. Effect of different frequencies of the addition of *Brachionus plicatilis* on the performance of *Litopenaeus vannamei* in a nursery biofloc system with rice bran (anaerobic and aerobic) as an organic carbon source. *Aquaculture*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2021.736669> .

ANDRADE, Thales P. D.; SRISUVAN, Thinnarat; TANG, Kathy F. J.; LIGHTNER, Donald V. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay using TaqMan probe for detection and quantification of Infectious Myonecrosis Virus (IMNV). *Aquaculture*, v. 264, n. 1–4, p. 9-15, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.030>.

ANDRINO, K.; SERRANO, A.; CORRE, V. Effects of dietary nucleotides on the immune response and growth of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Asian Fisheries Science*, v. 25, p. 180-192, 2012.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC: American Public Health Association, 2012.

AVNIMELECH, Y. Biofloc technology: a practical guidebook. 2. ed. Baton Rouge: LA. World Aquaculture Society, 2012. 272 p.

BALADRAT, N.; NURHUDAH, M.; UTARI, H. Immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to different density and IMNV challenge. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.20473/jipk.v14i1.31468>.

BANERJEE, Debashis; MAITI, Biswajit; GIRISHA, Shivani Kallappa; VENUGOPAL, Moleyur Nagarajappa; KARUNASAGAR, Indrani. A crustin isoform from black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, exhibits broad spectrum anti-bacterial activity. *Aquaculture Reports*, v. 2, p. 106-111, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.08.009>

BEÇAK, W.; PAULETE, J. Técnicas de citologia e histologia. Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos, 1976. 327p.

BINDELS, L. B.; DELZENNE, N. M.; CANI, P. D.; WALTER, J. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 12, n. 5, p. 303-310, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.47>.

BOWATER, R. Nucleotides: structure and properties. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001333.pub3>.

BOWYER, P. H.; EL-HAROUN, E. R.; HASSAAN, M.; SALIM, H.; DAVIES, S. J. Dietary nucleotides enhance growth performance, feed efficiency and intestinal functional topography in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Research*, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ARE.14078>.

BOYD, C. E. Water quality for pond aquaculture. Auburn: Auburn University, Alabama Agricultural Experiment Station, 1998.

BUTT, U. D.; LIN, N.; AKHTER, N.; SIDDIQUI, T.; LI, S.; WU, B. Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 114, p. 263-281, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.05.003>.

CABELLO, F. C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, v. 8, n. 7, p. 1137-1144, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x>.

CAO, Junming; XUAN, Dandan; HUANG, Yanhua; LAN, Hanbing; CHEN, Bing; ZHAO, Hongxia; JIAN, WeiLiang; CHENG, Xiaoying. Effects of dietary nucleotides on growth performance, tissue biochemical composition and non-specific immunity of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries of China*, v. 35, p. 594-603, 2011.

CELI, M.; FILICIOTTO, F.; VECCHIO, G.; MAFFIA, M.; ALOISIO, A.; BUSCAINO, G.; MAZZOLA, S.; VAZZANA, M. Physiological and agonistic behavioural response of *Procambarus clarkii* to an acoustic stimulus. *The Journal of Experimental Biology*, v. 216, p. 709-718, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.078865>.

CERVELLIONE, F.; KURMAYER, R.; MUHLBACHLER, A.; WEISSENBACHER, P. Use of computer-assisted image analysis for semi-quantitative histology of the hepatopancreas in whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* (Boone). *Journal of Fish Diseases*, v. 40, n. 9, p. 1223-1234, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfd.12599>.

CHASSAING, B.; NUSINOWITZ, N.; BERNARDI, A.; ANDERSON, D.; DEBRY, R.; CARROLL, I. M.; MAZMANIAN, S. K.; GORDON, J. I.; COHN, J.; GORDON, L. A. Randomized Controlled-Feeding Study of Dietary Emulsifier Carboxymethylcellulose Reveals Detrimental Impacts on the Gut Microbiota and Metabolome. *Gastroenterology*, v. 162, p. 743-756, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.11.006>.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate–phenol–chloroform extraction: twenty-something years on. *Nature Protocols*, v. 1, n. 2, p. 581-585, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.83>.

DAWOOD, Mahmoud A. O.; METWALLY, Abd El-Salam; EL-SHARAWY, Mohamed E.; ATTA, Ahmed M.; ELBIALY, Zizy I.; ABDEL-LATIF, Hany M. R.; PARAY, Bilal Ahamad. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, v. 523, p. 735205, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735205>.

DE ARAÚJO NEVES, S. R.; MARTINS, P. C. C. Surgimento das doenças virais na Carcinicultura Brasileira: impactos e estratégias da gestão de saúde. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 6, p. 61925-61944, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-529>.

ENGLE, Carole R.; MCNEVIN, Aaron; RACINE, Phoebe; BOYD, Claude E.; PAUNGKAEW, Duangchai; VIRIYATUM, Rawee; TINH, Huynh Quoc; MINH, Hang Ngo. Economics of sustainable intensification of aquaculture: Evidence from shrimp farms in Vietnam and Thailand. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jwas.12423>.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2024: towards blue transformation. Rome: FAO, 2024.

FLORES MOLLO, M.; ARACENA PIZARRO, M. Sistema de monitoreo remoto de acuicultura en estanques. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 46, n. 2, p. 372-382, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3856/vol46-issue2-fulltext-18>.

GAINZA, Oreste; ROMERO, Jaime. Effect of mannan oligosaccharides on the microbiota and productivity parameters of *Litopenaeus vannamei* shrimp under intensive cultivation in Ecuador. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 2719, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59587-y>.

GIBSON, Glenn R.; ROBERFROID, Marcel B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>.

GIBSON, Glenn R.; PROBERT, Helen M.; VAN LOO, J.; RASTALL, Robert A.; ROBERFROID, Marcel B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, v. 17, n. 2, p. 259-275, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/NRR200479>.

GOMES, José M.; SCHMITT, Josiane; OLIVEIRA, Marcelo; COSTA, Anabel; BARBOSA, Raquel. Flow cytometry in the analysis of hematological parameters of tilapias: applications in environmental aquatic toxicology. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 6242-6248, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12119-7>.

GUERTLER, Carlos; SANTOS, Fábio; PEREIRA, Ana; SILVA, Marta. Hemograma e sobrevivência de camarões marinhos após silenciamento do WSSV por RNA de interferência. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, p. 983-990, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800025>.

GUO, Jingping; GUO, Benyue; ZHANG, Hanle; XU, Wei; ZHANG, Wenbing; MAI, Kangsen. Effects of nucleotides on growth performance, immune response, disease resistance and intestinal morphology in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed with a low fish meal diet. *Aquaculture International*, v. 24, p. 1007–1023, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9967-7>.

HARYANTI, Ida G. P.; WARDANA, I Nyoman; SURYAWATI, Putu Ayu; DEWI, Kadek Ayu. The effect of feed supplement on growth, survival rate and immunity response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1503, 012043, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1503/1/012043>.

HOSEINIFAR, Seyed Hossein; ESTEVES, Ana Margarida; TAGHIZADEH, Vahid; SHIRAZI, Mohammad; RAJABINEJAD, Majid. Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, v. 23, n. 4, p. 315-328, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1052365>.

HUANG, Haiyan; LIU, Xiaoqian; XIANG, Jianhai; WANG, Peng. Immune response of *Litopenaeus vannamei* after infection with *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, v. 406, p. 115-120, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2013.05.010>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa da pecuária municipal. 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>.

JHA, Rajeev; WISOYO, Srirach; KITTIPO; SRISOMBAT, Somsak. Study on the efficacy of *Cynodon dactylon* against Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) in *Penaeus vannamei*. *bioRxiv*. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.11.09.374074>.

JING, Yu. Effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative activities of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fishery Sciences of China*. Disponível em: <https://doi.org/10.3724/sp.j.1118.2011.01115>.

JIRAVANICHPAISAL, Prasert; LEE, Byung-Il; SÖDERHÄLL, Kenneth. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology*, v. 211, p. 213–236, 2006.

KUHN, David D.; BOARDMAN, Gregory D.; LAWRENCE, Allen L.; MARSH, Lawrence; NEIL, Wendell H. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, v. 309,

p. 109-114, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2010.09.014>.

KULKARNI, Aniruddha; RAO, Bhaskar R.; SINGH, Vivek K.; TANEJA, Anshuman; ROY, Partha P.; DAS, Bidhan C. Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. *Reviews in Aquaculture*, v. 13, n. 1, p. 431-459, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/raq.12482>

KUMEIKO, Victor; LEVINA, Olga; SHIGINA, Nina; VOLYANSKIY, Dmitry; LEVINA, Galina. Immune state correlates with histopathological level and reveals molluscan health in populations of *Modiolus kurilensis* by integral health index (IHI). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 154, p. 42-57, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.03.014>.

LI, Bing; XIAN, Jinfeng; GUO, Haoyu; WANG, Anlin; MIAO, Yaping; YE, Jian; YE, Chen; LIAO, Shunmei. Effect of temperature decrease on hemocyte apoptosis of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, v. 22, p. 761–774, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9704-z>.

LI, Chunyan; WENG, Shilu; HE, Jianguang. WSSV–host interaction: host response and immune evasion. *Fish and Shellfish Immunology*, v. 84, p. 558–571, 2019.

LIGHTNER, Donald V. Handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 1996. 304 p.

LIGHTNER, Donald V.; PANTOJA, Carmen R. Infectious Myonecrosis (IMNV): current status report on the biology of etiological agent and development of diagnostic methods. In: *FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO*, 2004, Rio Grande do Norte. Anais... Rio Grande do Norte, 2004. p. 22.

LIMA, Paulo; SILVA, Ana; SILVA, Daniel; SILVA, Sara; BRITO, Luisa; GÁLVEZ, Alejandro. Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. *Aquaculture*, v. 530, p. 735913, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735913>.

LIMBU, Shankar M.; GHIMIRE, Kabindra; SHARMA, Binod; PANDEY, Rohit K.; LAMSAL, Min B. Chronic exposure to low environmental concentrations and legal aquaculture doses of antibiotics cause systemic adverse effects in Nile tilapia and provoke differential human health risk. *Environment International*, v. 115, p. 205-219, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.034>.

LUNA-GONZÁLEZ, Antonio; ALMARAZ-SALAS, Judith C.; FIERRO-CORONADO, Jesús A.; FLORES-MIRANDA, Ma. del Carmen; GONZÁLEZ-OCAMPO, Héctor A.; PERAZA-GÓMEZ, Viridiana. The prebiotic inulin increases the phenoloxidase activity and reduces the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*, v. 362–363, p. 28-32, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.002>.

MAGOUZ, Fekry; NASR, Mohamed A.; ABOUZOID, Reem M.; MOUSTAFA, Mahmoud A. Dietary nucleotides enhanced growth performance, carcass composition, blood biochemical, and histology features of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*

Reports. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.100738>.

MAITI, Biswajit; JENA, Janmejay; DAS, Soma; KARUNASAGAR, Indrani. Recombinant ferritin protein protects *Penaeus monodon* infected with pathogenic *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 88, p. 99–105, 2010.

MAMELOCO, Emmanuel; TRAI FALGAR, Rene. Supplementation of combined mannan oligosaccharide and β -glucan immunostimulants improves immunological responses and enhances resistance of Pacific Whiteleg Shrimp, *Penaeus vannamei*, against *Vibrio parahaemolyticus* infection. *International Aquatic Research*, v. 12, p. 291-299, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.22034/IAR.2020.1903079.1060>.

MEDZHITOV, Ruslan; JANEWAY, Charles J. Innate immunity. *The New England Journal of Medicine*, v. 343, p. 338–344, 2000.

MERRIFIELD, Daniel L.; BRADFORD, Kieran; RODILES, Alejandro; HINTON, David; BURR, Greg; DAVIES, Simon J. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, v. 302, n. 1-2, p. 1-18, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.007>.

NATORI, Maurício M.; CARVALHO, Diego S.; BARROS, Jorge A. C.; SILVA, Luiz P.; MOREIRA, Renata C. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. *Informações Econômicas*, v. 41, n. 2, p. 61-73, 2011.

NETO, Henrique; NUNES, Antonio. Performance and immunological resistance of *Litopenaeus vannamei* fed a β -1,3/1,6-glucan-supplemented diet after *per os* challenge with the Infectious Myonecrosis Virus (IMNV). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 44, p. 165-173, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902015000500001>.

NOGUERA-MUÑOZ, Favio Andrés; GARCÍA GARCÍA, B.; PONCE-PALAFOX, J. T.; WICAB-GUTIÉRREZ, Omar; CASTILLO-VARGASMACHUCA, Sergio G.; GARCÍA GARCÍA, J. Sustainability assessment of white shrimp (*Penaeus vannamei*) production in super-intensive system in the municipality of San Blas, Nayarit, Mexico. *Water*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/W13030304>.

NOVRIADI, Riza; ROIGÉ, Oliver; SEGARRA, Salvador. Effects of dietary nucleotide supplementation on performance, profitability, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* cultured in Indonesia under intensive outdoor pond conditions. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, v. 12, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12162036>.

PANTOJA, Carmen R.; LIGHTNER, Donald V. Enfermedades virales. In: MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. (Eds.). *Guía Técnica – Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos*. Panamá: OIRSA, 2014. p. 99-164.

PAN, Li; ZHANG, Xianfeng; YANG, Lan; PAN, Sheng. Effects of *Vibrio harveyi* and *Staphylococcus aureus* infection on hemocyanin synthesis and innate immune responses in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 93, p. 305-316, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.016>.

PANIGRAHI, Anupam; SARANYA, Chandrika; AMBIGANANDAM, Krishnamurthy; SUNDARAM, Mani; SIVAKUMAR, Mohan; VASAGAM, Kannan. Evaluation of biofloc generation protocols to adopt high density nursery rearing of *Penaeus vannamei* for better growth performances, protective responses and immunomodulation in biofloc-based technology. *Aquaculture*, v. 522, p. 735095, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735095>.

PARTIDA-ARANGURE, Benjamín O.; GONZÁLEZ-MORENO, Carmen A.; IBARRA, Antonia M.; RODRÍGUEZ-JARAMILLO, Claudia; ÁLVAREZ, Rosa M.; ARIAS, Luis. Effect of inulin and probiotic bacteria on growth, survival, immune response, and prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology*, v. 12, p. 3366-3375, 2013.

PÉREZ-PASCUAL, D.; ESTRADA-MONTES, J. L.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; GAXIOLA, G. Effect of probiotics on intestinal histology of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 45, n. 2, p. 337-345, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3856/vol45-issue2-fulltext-14>.

PHILLIPS, Patricia Pulliam; PHILLIPS, Jack J. ROI basics. 2. ed. Alexandria: ATD Press, 2019.

POPE, Edward C.; TOUPS, L. M.; MA, W.; LI, Y.; LEE, J.; BOWMAN, S. K.; FIERRO-CORONADO, J. A. Enhanced cellular immunity in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) after 'vaccination'. *PLoS ONE*, v. 6, n. 6, p. e20960, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020960>.

POULOS, Benjamin T.; LIGHTNER, Donald V. Detection of infectious myonecrosis virus (IMNV) of penaeid shrimp by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 73, n. 1, p. 69-72, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/dao073069>.

RINGØ, Einar; LARSEN, Dorte L.; MATHESON, Richard; KUDALSKY, D.; WONG, T. T.; WANG, S. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, v. 16, n. 2, p. 117-136, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>.

RINGØ, Einar; WANG, Zhen; SHAO, Xuemei; RAHIMI, R.; NASIRI, F.; LARSON, K. Prebiotics in finfish: an update. In: *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*. p. 360-400, 2014.

ROCHA, Ingrid P.; RODRIGUES, José; AMORIM, Luiz A. Carcinicultura Brasileira em 2003. *Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC)*, v. 6, n. 1, p. 30-36, Natal, RN, Brasil. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/carcinicultura-brasileira-o-censo-de-2003/>.

ROWLEY, Andrew F.; POWELL, Adam. Invertebrate immune systems – specific, quasi-specific, or nonspecific? *Journal of Immunology*, v. 179, n. 11, p. 7209–7214, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.11.7209>.

SAENGER, Wolfgang. Structure and function of nucleosides and nucleotides. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 12, p. 591-601, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ANIE.197305911>.

SAMBROOK, Joe; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. ed. New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

SARDOU, Silvia de Souza Torres; MORAIS, Angela; SILVA, Renato; OLIVEIRA, Luciana. Ocorrência das principais doenças virais na carcinicultura brasileira – revisão de literatura. *Revista de Medicina Veterinária do UNIFESO*, v. 2, n. 01, 2022. ISSN 2764-3263.

SILVA, Allyne Elins Moreira; BARBOSA, Ana Paula Souza; SILVA, Joana Carolina Martins; LIMA, Lucas Vinícius P.; SANTOS, Mariana B. Effect of *Brachionus plicatilis* and *Navicula* sp. on Pacific white shrimp growth performance, *Vibrio*, immunological responses and resistance to white spot virus (WSSV) in nursery biofloc system. *Aquaculture*, v. 535, p. 736335, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736335>.

SILVA, Suzianny Maria Bezerra Cabral; CUNHA, Patrícia Cardoso; SOUZA, Marco Aurélio; ARAÚJO, Tadeu; LIMA, Francisco Edvaldo. Experimental infection of infectious myonecrosis virus (IMNV) in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture International*, v. 23, n. 2, p. 563-576, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9836-9>.

SOUZA, D. M.; SUITA, S. M.; MOREIRA, J. B.; MATTOS, D. C. The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture International*, v. 20, n. 5, p. 861-871, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9504-4>.

SMITH, P. Antimicrobial resistance in aquaculture. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, v. 27, n. 1, p. 243-264, 2008.

SOLIDUM, N.; SANARES, R.; ANDRINO-FELARCA, K.; CORRE, V. Immune responses and resistance to vibriosis of juvenile Pacific whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* fed with high dose mannan oligosaccharide and β -glucan. *AACL Bioflux*, v. 9, p. 239-249, 2016.

SONG, Yen-Ling; LI, Ching-Yu. Shrimp immune system - special focus on penaeidin. *Journal of Marine Science and Technology*, v. 22, n. 1, Article 1, 2014. DOI: <https://doi.org/10.6119/JMST-013-0813-1>. Disponível em: <https://jmst.ntou.edu.tw/journal/vol22/iss1/1>.

SUN, Rui; QIU, Lihua; YUE, Feng; WANG, Lijun; LIU, Rui; ZHOU, Zhongqi; ZHANG, Hong; SONG, Lianwei. Hemocytic immune responses triggered by CpG ODNs in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 34, p. 38-45, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.09.016>.

SUPONO, S.; RAHAYU, M.; YUSUF, M. The effect of *Bacillus coagulans* as feed probiotics on non-specific immunity of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Biomass (ICSB 2019)*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2991/aer.k.210603.006>.

TANG, Kathy F. J.; CHEN, Y. C.; CHEN, C. C.; SHIH, H. Y.; LI, S. Y.; FIERRO-CORONADO, J. A.; LIGHTNER, D. V. In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 63, n. 2-3, p. 261-265, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/dao063261>.

TRIOLA, M. F. *Introdução à Estatística*. 14. ed. São Paulo: Pearson, 2020.

TYAGI, Anjana; KHUSHIRAMANI, Ramesh; KARUNASAGAR, Indrani; KARUNASAGAR, Iqbal. Antivibrio activity of recombinant lysozyme expressed from black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, v. 272, p. 246-253, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.040>.

VALENCIA-CASTAÑEDA, Gabriel; VERA, Julio; GARCÍA, Juan Carlos. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.05.002>.

VAN WYK, Peter; SHAPIRO, Mark; VERHEY, John. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution, 1999.

WANG, Tian; ZHANG, Hong; LIU, Xiaodong; ZHANG, Qi; LIU, Jianhua; LI, Yu; LIU, Yanqun. Effects of dietary mannan oligosaccharides on non-specific immunity, intestinal health, and antibiotic resistance genes in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.772570>.

WITTEVELDT, J.; VLAK, J. M.; VAN HULTEN, M. C. W. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 16, p. 571-579, 2004.

XIONG, Jing; ZHANG, Bo; LI, Hongxing; WANG, Junfeng; YANG, Jian. Effects of yeast hydrolysate on the growth performance, digestive enzyme activity, and intestinal morphology of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fishery Sciences of China*, v. 25, p. 1012-1021, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1118.2018.17353>.

YEH, Shih-Chi; CHEN, Yu-Ju; HSIEH, Yu-Jen; CHENG, Wen; LIU, Chiou. Immune response of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after a concurrent infection with white spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 26, n. 4, p. 582-588, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.09.010>.

YONG, A.; ZHANG, Y.; WANG, X.; LI, Y.; ZHANG, Q.; LIU, L.; LI, J. Effects of dietary nucleotides on growth, survival and metabolic response in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, against ammonia stress condition. *Aquaculture Research*, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.14570>.

ZARAIN-HERZBERG, Martha; ASCENCIO-VALLE, Felipe; HERNÁNDEZ-SAAVEDRA, Norma. Biological characterization of a less virulent Taura Syndrome in Pacific

white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda): gross signs, histopathological lesions, and mortalities. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 34, n. 1, p. 99-105, 2003. Disponível em: <http://www.bashanfoundation.org/contributions/Asencio-F/ascenciotaura.pdf>.

ZHANG, Junming; LIU, Yong; TIAN, Lei; YANG, Hong; LIANG, Guoan; XU, Da. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 33, n. 4, p. 1027-1032, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.001>.