



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

EFEITO DE DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE LIPÍDIOS E
PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO CULTIVO DO CAMARÃO
Litopenaeus vannamei EM SISTEMA SUPERINTENSIVO COM
FLOCOS MICROBIANOS (BIOFLOCOS)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, CCA – UFSC, como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Walter Quadros Seiffert
Coorientador: José Luiz Pedreira Mouriño

TÁRIK MASSUCCI TOLEDO

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Toledo, Tarik Massucci

Efeito de dietas com diferentes níveis de lipídios e perfis de ácidos graxos no cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo com flocos microbianos (bioflocos) / Tarik Massucci Toledo ; orientador, Walter Quadros Seiffert ; co-orientador, José Luiz Pedreira Mouriño. - Florianópolis, SC, 2013.

65 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Óleos. 3. Saúde. 4. Bioflocos. 5. Nutrição. I. Seiffert, Walter Quadros. II. Mouriño, José Luiz Pedreira. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Efeito de dietas com diferentes níveis de lipídios e perfis de ácidos graxos no cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo com flocos microbianos (bioflocos).

Por

TARIK MASSUCCI TOLEDO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Walter Quadros Seiffert – *Orientador*

Dra. Débora Machado Fracalossi

Dra. Leila Hayashi

Dr. Rodrigo Antonio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Cezar Toledo e Cynthia Massucci, pelo apoio durante toda minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Walter Seiffert, pela confiança e por ter acreditado no meu trabalho.

Ao meu co-orientador e amigo, Prof. Dr. José Moriño, por toda ajuda e ensinamentos durante estes anos.

Ao Prof. Dr. Felipe Vieira pelo conhecimento e contribuições.

Aos membros da Banca Examinadora, titulares e suplentes, pelas críticas e sugestões que contribuíram para melhorar este trabalho.

Aos alunos, Alexsander Marafigo, Gabriela Soltes, Jéssica Melo, e Karine Oliveira, que ajudaram muito durante a realização do experimento.

Aos doutorandos, Bruno da Silva e Adolfo Jatobá, pelas trocas de conhecimento e amizade durante a pós-graduação.

Aos colegas de pós-graduação, Carlos, Gabriel, Gabriella, Geny, Marcello, Marcos, Mari, Marysol, Nohra, Rodrigo e Simão, por estarem presente e sempre ajudando de alguma forma.

A minha irmã, Tallita, que me ajuda com seu conhecimento há muitos anos.

A minha amiga, Marcela, por todo o carinho, força e companheirismo durante os dois anos que estive na pós-graduação.

Ao meu amigo jornalista e estudante de biologia, Cauê Oliveira, pelas conversas e ajuda na escrita do trabalho.

À CAPES, pelo suporte financeiro durante os dois anos em que pude ter dedicação exclusiva para realização da pós-graduação.

E aos demais amigos, alunos e funcionários do LCM que contribuíram durante esses anos.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos diferentes teores de lipídios, balanço de ácidos graxos e níveis energéticos das dietas na composição nutricional do bioflocos gerado, além da análise dos parâmetros de desempenho zootécnico do camarão e seu estado de saúde. Foram cultivados em sistema superintensivo com flocos microbianos (bioflocos) juvenis de *Litopenaeus vannamei* ($2,87 \pm 0,01$ g) na densidade de 200 camarões m^{-2} , alimentados com três dietas experimentais isoproteicas com diferentes níveis de lipídios (85,0; 95,0 e 105,0 g kg^{-1}), sendo que cada tratamento foi realizado em triplicata. Após 61 dias, não foi observado diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os parâmetros de qualidade de água: temperatura, alcalinidade, pH, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos fixos (SSF). Para os parâmetros de desempenho zootécnico, foi observada diferença significativa ($p=0,011$) entre os valores de sobrevivência, onde os camarões alimentados com dietas com menores níveis de lipídios obtiveram maior sobrevivência ($92,5 \pm 3,5\%$ e $91,0 \pm 2,5\%$) comparados ao maior nível de inclusão ($78,8 \pm 5,5\%$). Mesmo havendo diferença entre valores de sobrevivência, não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$) na contagem total de hemócitos (THC). Para os demais parâmetros zootécnicos não foram observadas diferenças ($p \geq 0,05$). Foi observada correlação positiva ($r=0,75$) entre o ácido oleico da dieta e dos bioflocos. Para a composição do hepatopâncreas foi observada diferença estatística ($p=0,0313$) nos teores de ácido araquidônico, sendo o maior teor ($1020,00 \pm 199,70$ mg. kg^{-1}) encontrado nos animais alimentados com menor nível de lipídios na dieta. A utilização de dietas com níveis de lipídios 8,5 e 9,5% proporcionou melhor sobrevivência dos camarões. As diferentes dietas influenciaram a composição do bioflocos, que apresentou ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (lc-PUFA), especialmente o ácido araquidônico. Os camarões mostraram índices de desempenho zootécnicos similares e apresentaram-se saudáveis ao final do período experimental.

Palavras-chave: camarão marinho, nutrição, bioflocos, óleos, saúde.

ABSTRACT

The objective of this study was evaluate the influence of different dietary lipids, fat acids, and gross energy of diets in nutritional composition of biofloc, as well as shrimp performance and health. 1800 *Litopenaeus vannamei* juveniles (2.87 ± 0.01 g) were cultured in biofloc technology (BFT), 200 shrimp m^{-2} , fed with three isoproteic experimental diets with different lipid levels (85.0; 95.0 and 105.0 $g\ kg^{-1}$), each treatment was performed in triplicate. After 61 days, no significant difference was observed ($p > 0.05$) among the water quality parameters (temperature, alkalinity, pH, dissolved oxygen, ammonia, nitrite, nitrate, phosphate, total suspended solidas (TSS), volatile suspended solids (VSS), and fixed suspended solids (FSS)). For the shrimp performance, significant difference was observed ($p = 0.011$) among the values of survival, where treatments with lower lipid levels had higher survival (92.5 ± 3.5 and $91.0 \pm 2.5\%$ %) compared to the highest level of inclusion ($78.8 \pm 5.5\%$). Although there are significant differences in survival (%), no significant differences in the total count of hemocytes (THC) were observed. For other zootechnical parameters no differences were observed ($p > 0.05$). Diets influenced in biofloc fatty acid composition, being observed positive correlation ($r=0,75$) between the dietary oleic acid and bioflocs. For the hepatopancreas composition, there was a statistical difference ($p = 0.0313$) in the levels of arachidonic acid, and the highest level ($1020.00 \pm 199.70\ mg.kg^{-1}$) was found in the treatment with the lowest level of lipids. The use of diets with lipid levels 8.5 and 9.5% provided better survival of shrimp. The different diets influenced the biofloc composition, which showed polyunsaturated fat acids long-chain (PUFA-lc), especially arachidonic acid. Shrimps showed similar performance index and stood healthy at the end of the experimental period.

Keywords: marine shrimp, nutrition, biofloc, oils, healthy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 A TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS E O CULTIVO DE CAMARÕES	14
1.2 PAPEL DO BIOFLOCO NA NUTRIÇÃO DE CAMARÕES ...	16
1.3 NUTRIÇÃO DE CAMARÕES PENEÍDEOS	16
1.3.1 PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS	16
1.3.2 LIPÍDIOS	17
1.3.4 ÁCIDOS GRAXOS	18
1.3.5 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS (PUFA)	18
1.3.6 CARBOIDRATOS	19
1.3.7 ENERGIA	20
1.4 RESERVA DE ENERGIA	20
1.5 SAÚDE E ÁCIDOS GRAXOS	20
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. ARTIGO CIENTÍFICO	24
4.1 Introdução	25
4.2 Material e métodos	27
4.2.1 Unidades experimentais	28
4.2.2 Dietas experimentais e alimentação	29
4.2.3 Parâmetros físicos e químicos de qualidade de água	29
4.2.4 Desempenho zootécnico do camarão	30
4.2.5 Coletas das amostras e análises centesimais	33

4.2.6 Contagem total de hemócitos.....	35
4.2.7 Análises estatísticas	35
4.3 Resultados	35
4.3.1 Dietas experimentais.....	35
4.3.2 Parâmetros físicos e químicos de água	36
4.3.3 Desempenho zootécnico do camarão.....	37
4.3.4 Composição do hepatopâncreas.....	38
4.3.5 Composição biofoco	40
4.3.6 Contagem total de hemócitos (CTH).....	41
4.4 Discussão	42
4.5 Conclusão.....	46
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
6. REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	55
ANEXOS.....	63

1. INTRODUÇÃO

A carcinicultura mundial vem sofrendo com problemas nos últimos anos que têm limitado o aumento da produção. Entre eles, os surtos de enfermidades que atingem os cultivos e as pressões devido aos impactos ambientais gerados pela atividade. As principais críticas sofridas pela indústria de camarões decorrem do desmatamento de áreas costeiras para cultivo, da descarga de efluentes rico em matéria orgânica no ambiente natural, e da dependência de farinha e óleo de peixe para a fabricação de rações.

Visando melhorar o aspecto sanitário e aumentar a produção com menor impacto ambiental, foi desenvolvido o sistema de cultivo com flocos microbianos. As vantagens deste sistema em relação aos sistemas tradicionais de cultivo são a maior produtividade por área ao final do ciclo, o menor uso de água e os benefícios nutricionais que a produtividade primária fornece aos camarões (TACON et al., 2002; BURFORD et al., 2003)..

No sistema de bioflocos, os micro-organismos mantêm a qualidade de água para o cultivo e também servem como fonte de alimento, contribuindo para redução dos custos de produção (TACON et al., 2002; WASIELSKY et al., 2006; CRAB et al., 2007; CRAB et al., 2010).

A nutrição é uma das maiores preocupações para os produtores de camarão (MARTINEZ-CORDOVA; CAMPAÑA-TORRES; PORCHAS-CORNEJO, 2003), podendo ultrapassar 50% do custo de produção de um empreendimento aquícola (VAN WYK, 1999; MITRA; CHATTOPADHYAY; MUKHOPADHYAY, 2005). A proteína é o macronutriente com o mais alto custo na dieta. Um nível adequado de energia na dieta é procurado a fim de reduzir o catabolismo proteico, usando a proteína preferencialmente para a síntese dos tecidos (CUZON; GUILLAUME, 1997; KURESHY; DAVIS, 2002).

Os lipídios são os mais importantes fornecedores de energia (9,4 kcal/kg); além de possuir função estrutural nas membranas celulares. Também servem como transportadores para outros nutrientes, são precursores de hormônios, e fonte de ácidos graxos essenciais, fosfolipídios, esteróis e carotenoides (GONZALEZ-FÉLIX; PEREZ-VELAZQUEZ, 2002; NELSON; COX, 2011; NRC, 2011; GARCIA et al., 2012).

Informações sobre o nível de inclusão de lipídios são essenciais para o desenvolvimento de dietas com melhor custo-benefício em sistemas de bioflocos. Poucos trabalhos relatam o conteúdo de lipídios e

ácidos graxos do biofoco e de que forma estes influenciam na nutrição do camarão neste sistema. Desta forma, é de grande importância conhecer os níveis de lipídios, ácidos graxos e energia da dieta que maximizem o crescimento e melhorem o aproveitamento da proteína.

1.1 A TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS E O CULTIVO DE CAMARÕES

O menor risco de introduzir doenças no cultivo ou propagá-las para o ambiente (TACON et al., 2002; WASIELESKY et al., 2006; CRAB et al., 2012) fazem do sistema de bioflocos uma alternativa de cultivo com maior controle sanitário comparado aos cultivos tradicionais. Além disso, este sistema possui vantagens como alta densidade de estocagem, o menor uso de água e descarga de efluentes reduzida (TACON et al., 2002; BURFORD et al. 2003; WASIELESKY et al., 2006; CRAB, 2012). Segundo Crab et al. (2012), as características encontradas no sistema de biofoco são pré-requisitos para o desenvolvimento sustentável da aquicultura.

O grande número de animais nos tanques junto a redução da troca de água resulta em acúmulo de nutrientes, principalmente compostos nitrogenados (KRUMMENAUER et al., 2011). A amônia é um dos principais limitantes em cultivo superintensivo. Em geral, existem três formas para remoção da amônia dos tanques: por meio das algas, das bactérias heterotróficas e por meio das bactérias quimioautotróficas (nitrificantes) (EBELING et al., 2006).

A imobilização da amônia pelas bactérias heterotróficas ocorre mais rápido que pelas bactérias quimioautotróficas (HARGREAVES, 2006). A população de bactérias heterotróficas é estimulada quando se trabalha a relação Carbono/Nitrogênio incorporada aos cultivos intensivos (Figura 1), ocorrendo assim uma sucessão microbiana até a formação dos bioflocos. As bactérias heterotróficas são capazes de converter o nitrogênio amoniacal diretamente em biomassa bacteriana e por isso são caracterizadas pelo alto teor proteico. A melhor relação C:N para favorecer o crescimento destas bactérias é 15:1 (AVNIMELECH, 1999).

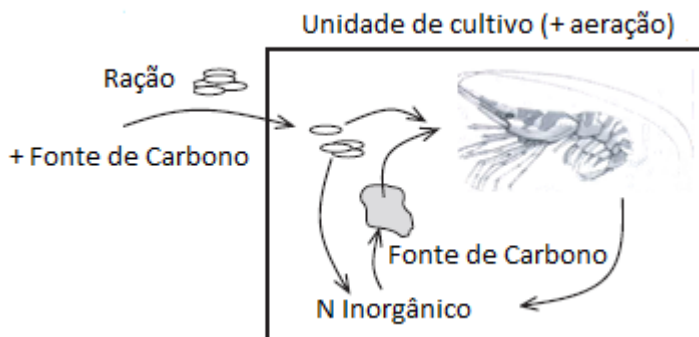


Figura 1 – Integração do bioflocos com a unidade de cultivo usando alimento com relativamente baixo conteúdo de N e/ou com adição de alguma fonte de carbono. Os bioflocos consomem N inorgânico junto com a fonte de carbono, produzindo assim biomassa bacteriana que pode ser usada como alimento pelos animais (Adaptado de Crab et al. 2012).

As bactérias quimioautotróficas também presentes no sistema de bioflocos, são caracterizadas pela habilidade de utilizar substrato inorgânico (ex. NH_3 , H_2 , Fe^{+2}) como fonte de elétrons para imobilização do carbono inorgânico em biomassa (HAGOPIAN; RILEY, 1998). Existem dois grupos filogenéticos distintos que realizam atividade de nitrificação coletivamente: bactérias de oxidação de amônia (AOB) ou nitrito bactéria, que incluem bactérias do gênero *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* e bactérias de oxidação do nitrito, que envolve os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina* (MEINCKE; KRIEG; BOCK, 1989). Estas bactérias são aeróbias e em geral utilizam O_2 comoceptor final de elétrons (HAGOPIAN; RILEY, 1998).

Os desafios futuros da tecnologia de bioflocos para pesquisas são: seleção e posicionamento de aeradores, integração em sistemas existentes (ex. raceways, sistemas de policultivo), seleção de microorganismos constituintes do bioflocos com propriedades nutritivas (composição de ácidos graxos, aminoácidos e conteúdo de vitaminas) e determinação do impacto da fonte de carbono nas características do bioflocos formado (CRAB et al., 2012).

1.2 PAPEL DO BIOFLOCO NA NUTRIÇÃO DE CAMARÕES

O sistema de bioflocos é uma complexa mistura de micro-organismos e invertebrados mantidos em suspensão por meio de aeração. Entre os organismos presentes no biofoco podem-se encontrar protozoários, rotíferos, oligoquetas (AZIM; LITTLE, 2008), cianobactérias, bactérias e algumas microalgas como: clorófitas, dinoflagelados e diatomáceas (BURFORD et al., 2003; RAY et al., 2010b). Neste sistema, as partículas de biofoco podem contribuir significativamente às necessidades nutricionais dos camarões, agindo como uma fonte suplementar de alimento (WASIELESKY et al., 2006; CRAB et al., 2007; CRAB et al., 2010; RAY et al., 2010a).

Estudos prévios mostram a importância da produtividade natural no cultivo dos camarões em relação à sobrevivência, fator de conversão alimentar e ganho em peso (TACON et al., 2002; BURFORD et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006). A produção de *L. vannamei* em sistema de biofoco demonstra vantagem nas taxas de crescimento quando comparada com sistemas intensivos com água clara (TACON et al. 2002). Tacon et al. (2002), observaram a habilidade do camarão em obter nutrientes adicionais a partir de micro-organismos aquáticos presentes na coluna d'água e/ou no ecossistema do tanque.

As características do biofoco são variadas e diversos fatores podem alterar a comunidade microbológica interferindo na qualidade nutricional do biofoco (Ebeling et al., 2006; Crab et al., 2010). Em geral, é rico em proteínas, fornece aminoácidos e ácidos graxos essenciais, além de vitaminas e minerais (TACON, 2002; IZQUIERDO et al., 2006; KUHN et al., 2009; CRAB et al., 2010), porém possui baixo teor de lipídios (AZIM; LITTLE, 2008; JU et al., 2008; CRAB et al., 2010; EMERENCIANO et al. 2011).

1.3 NUTRIÇÃO DE CAMARÕES PENEÍDEOS

1.3.1 PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS

As proteínas e aminoácidos são moléculas que possuem função na estrutura e metabolismo de todos os organismos vivos (NRC, 2011). São nutrientes essenciais para a manutenção, crescimento e reprodução dos crustáceos (GUILLAUME, 1997). Ao todo, 20 diferentes aminoácidos “padrão” podem compor as proteínas (VOET, 1995). Dez aminoácidos não podem ser sintetizados pelo organismo, os quais são

classificados como aminoácidos essenciais: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina (NRC 2011; WEBSTER; LIM, 2002). Segundo Van Wyk (1999), o camarão não exige um mínimo de proteína, mas sim, todos os dez aminoácidos essenciais.

1.3.2 LIPÍDIOS

Sua forma estrutural contém três elementos: carbono, hidrogênio e oxigênio (VOET; VOET, 1995; WEBSTER; LIM, 2002). Por conter grande proporção de átomos de carbono e hidrogênio, os lipídios liberam aproximadamente $9,4 \text{ kcal.g}^{-1}$ e são melhores fontes de energia quando comparados aos carboidratos ($4,1 \text{ kcal.g}^{-1}$) e as proteínas ($5,6 \text{ kcal.g}^{-1}$) (WEBSTER; LIM, 2002; GLENCROSS, 2009).

- Os lipídios são importantes para fornecer energia, ácidos graxos (HERTRAMPF; PIEDAD-PASCUAL 2000), fosfolipídios, esteróis e carotenoides (GONZALEZ-FÉLIX; PEREZ-VELAZQUEZ, 2002; NELSON; COX, 2011; NRC, 2011; GARCIA et al., 2012). São responsáveis diretos na manutenção da estrutura, permeabilidade e estabilidade das membranas celulares, bem como transportadores para outros nutrientes e precursores de hormônios e outras moléculas bioativas (GARCIA et al., 2012). Em geral, peixes e camarões necessitam de lipídios para satisfazer as exigências energéticas e de ácidos graxos essenciais.

Uma importante classe de lipídios são os triacilgliceróis, que são fornecidos na dieta na forma de óleos (puro ou contido na farinha). O processo de emulsificação dos triacilgliceróis no hepatopâncreas forma micelas, que por sua vez liberam ácidos graxos através da ação das lipases (CUZON et al., 2004). Os fosfolipídios, lipoproteínas e colesterol são outras classes importantes de lipídios. Fosfolipídios têm função estrutural na membrana da célula, e segundo NRC (2011), a exigência em fosfolipídios para o *L. vannamei* é de 1,5% do total da dieta. Lipoproteínas são os principais veículos para transporte de lipídios no sangue e o colesterol possui papel de precursor de outros esteróides e de vitamina D3 (CAMPBELL, 2000).

O camarão não sintetiza colesterol, por isso é necessário a inclusão na sua dieta. A exigência em colesterol está ligada ao nível de fosfolipídios da dieta (GONG et al, 2000). Os ingredientes de origem

animal são fontes de colesterol e junto com os fosfolipídios podem satisfazer a exigência deste nutriente.

Em geral, sabe-se que a exigência em lipídios para camarões é menor que para peixes. É recomendada, a inclusão de 5 a 8% de lipídios na dieta (D'ABRAMO, 1997; GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2003; NRC, 2011). Acima desta inclusão, pode haver diminuição do crescimento (CUZON; GUILLAUME, 1997).

1.3.4 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos que aparecem nos organismos vivos normalmente contêm um número par de átomos de carbono e a cadeia de hidrocarbonetos não é ramificada (CAMPBELL, 2000). Se existirem ligações duplas entre os carbonos na cadeia, o ácido graxo é insaturado; se existirem somente ligações simples, o ácido graxo é saturado. O ácido graxo que possui uma dupla ligação é chamado de ácido graxo monoenoico (monoinsaturado) e um ácido graxo com três ou mais duplas ligações é chamado de ácido graxo polienuico (poli-insaturado, PUFA) (WEBSTER; LIM, 2002; GLENCROSS, 2009).

Embora existam diversos trabalhos sobre os níveis de exigência em ácidos graxos, suas vias catabólicas e anabólicas ainda não estão bem definidas, especialmente para os ácidos graxos poli-insaturados (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; GLENCROSS, 2009).

1.3.5 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS (PUFA)

Os ácidos graxos poli-insaturados não são importantes apenas no crescimento do animal, mas também na reprodução (CAHU et al., 1995), imunidade (AGUILAR et al. 2011) e qualidade do produto final que chegará ao consumidor (GLENCROSS, 2009).

Ácidos graxos com grande número de ligações insaturadas na sua cadeia são frequentemente referidos como ácidos graxos altamente insaturados (HUFA). No entanto, a distinção entre PUFA e HUFA não está clara (GLENCROSS, 2009). Glencross et al. (2009) propõe que o termo HUFA seja trocado pelo termo lc-PUFA (cadeia longa “long chain”) usado para ácidos graxos compostos de 20 carbonos ou mais. Seguindo este pensamento, podemos considerar os ácidos linolênico (LA; 18:2n-6) e linoleico (LNA; 18:3n-3) como PUFA e os ácidos docosaenoico (DHA; 22:6n-3), eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3) e araquidônico (ARA; 20:4n-6) como lc-PUFA.

Lim et al. (1997), avaliando a resposta de crescimento de juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes fontes de óleos, concluíram que lc-PUFA da série n-3 promovem maior crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência. Os mesmos autores também analisaram que, entre os óleos de origem vegetal, aqueles ricos em C18:3 n-3 LNA, apresentam maior valor nutricional que os ricos em C18:2 n-6 LA, o que é confirmado por GLENCROSS (2009).

A introdução de uma dupla ligação insaturada na cadeia do ácido graxo exige um sistema de enzimas dessaturases. Como poucos animais possuem este sistema, a síntese de certos ácidos graxos como C18:2n-6 (LA) e C18:3n-3 (LNA) não é possível em todos os animais (GLENCROSS, 2009). Por não poderem ser sintetizados, alguns ácidos graxos são considerados essenciais, havendo necessidade da ingestão destes.

Os crustáceos não sintetizam *de novo* nenhum lc-PUFA a partir de ácidos graxos monoinsaturados (NRC, 2011) ou tem habilidade limitada (GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2003). D'Abramo (1997), sugere ainda que os crustáceos possuem pequena ou nenhuma habilidade para biossintetizar lc-PUFA n-3 e n-6 a partir de PUFA n-3 e n-6, devido a pouca habilidade destes animais de alongar a cadeia dos PUFA. Por isso possuem exigência de específicos ácidos graxos lc-PUFA das séries n-3 e n-6 na dieta.

São considerados essenciais os ácidos graxos lc-PUFA, 20:5n-3 (EPA), 22:6n-3 (DHA) (DAS, 2006; NRC, 2011) e os PUFA 18:3n-3 (LNA) e 18:2n-6 (LOA) (D'ABRAMO, 1997; LIM et al. 1997; GONZÁLEZ-FÉLIX, 2003; GLENCROSS, 2009). O ácido 20:4n-6 (ARA) é também considerado essencial para espécies aquáticas em geral por Glencross (2009).

1.3.6 CARBOIDRATOS

Assim como os lipídios, os carboidratos são moléculas orgânicas compostas de carbono, hidrogênio e oxigênio (HERTRAMPF; PIEDAD-PASCUAL, 2000). São abundantes nos vegetais por serem forma de energia armazenada (WEBSTER; LIM, 2002). Os carboidratos são divididos em três classes especiais: monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos (NELSON; COX, 2011). Os mais abundantes são os dissacarídeos, com duas unidades de monossacarídeos. Os polissacarídeos são polímeros de açúcar que contem mais de 20 unidades de monossacarídeo; alguns possuem centenas ou milhares de unidades (NELSON; COX, 2011).

Para crustáceos, os carboidratos são importantes fontes de energia para a síntese de quitina e de ácidos graxos não essenciais (HERTRAMPF; PIEDAD-PASCUAL, 2000). Carboidratos são usualmente a mais barata fonte de energia nos alimentos e nas rações (SHI-YEN SHIAU, 1997).

1.3.7 ENERGIA

A energia não é um nutriente, mas sim um produto da absorção e metabolismo dos compostos. Os peixes e os crustáceos utilizam preferencialmente as proteínas como fonte de energia. A utilização de carboidratos pelas espécies aquáticas é variável e parece ser menos eficiente do que a de animais terrestres domesticados (SHI-YEN SHIAU, 1997), devido principalmente à má utilização de fontes de carboidratos que possuem baixa digestibilidade (DABROWSKI; GUDERLEY, 2002). Segundo NRC (2011), o teor de energia digestível recomendado para o camarão branco é de 3.000 kcal kg⁻¹.

O nível de energia de uma dieta determina o seu consumo. Se possuir pouca energia os animais tendem a utilizar a proteína para esse fim, e se possuir níveis superestimados, a saciedade ocorre de forma mais acelerada, diminuindo o consumo (CUZON; GUILLAUME, 1997).

1.4 RESERVA DE ENERGIA

O hepatopâncreas é o principal órgão digestivo do camarão, combina as funções de pâncreas, intestino e fígado (NRC, 2011). Possui muitas funções biológicas que incluem síntese e secreção de enzimas digestivas, absorção de produtos digeridos da alimentação, manutenção de reservas minerais e substâncias orgânicas, distribuição de reservas armazenadas durante o ciclo de muda e catabolismo de alguns componentes orgânicos (carboidratos e lipídios) (CECCALDI, 1997). É o centro para a produção de compostos exigidos para eventos como a muda e vitelogenese (CECCALDI, 1997; MARSDEN, 2007). Esse órgão representa de 2 a 6% do total do peso úmido do camarão. A cor do hepatopâncreas pode variar dependendo principalmente do tipo de reservas armazenadas (CECCALDI, 1997).

1.5 SAÚDE E ÁCIDOS GRAXOS

A avaliação do sistema imune de camarões fornece informação sobre o estado de saúde dos animais. Os parâmetros hemato-imunológicos constituem uma importante ferramenta para avaliação do estado de saúde animal (LE MOULLAC, 2000; RODRIGUEZ; MOULLAC, 2000; TRICHET, 2010). Segundo Rodríguez e Le Moullac (2000), a contagem total de hemócitos é um indicador útil para avaliar a saúde do camarão.

O tecido fluido que transita pelo sistema circulatório dos crustáceos é denominado hemolinfa. Nela são transportados continuamente nutrientes, excretas, oxigênio, hormônios e outras moléculas importantes para os diferentes órgãos destes animais. Devido a sua fluidez e pela capacidade de atingir diretamente todos os tecidos dos crustáceos, a hemolinfa contém ainda todos os componentes do sistema imunológico (BARRACCO et al., 2008). Uma fração da hemolinfa é representada por células circulares ou hemócitos. Os hemócitos são os responsáveis pelas reações celulares de defesa, como a fagocitose de micro-organismos e a formação de nódulos e cápsulas.

Os crustáceos, assim como os outros invertebrados, apresentam apenas um sistema imune inato, que não apresenta mecanismos de especificidade e de memória imunológica, inviabilizando o desenvolvimento de vacinas e diminuindo a possibilidade de prevenir e controlar infecções (BARRACCO et al., 2008).

A saúde dos camarões está relacionada com seu estado nutricional (PASCUAL et al., 2006; BARRACCO et al., 2008). Estudos prévios investigam inclusões de lc-PUFA nas dietas dos camarões como forma de melhorar a capacidade imunológica, afetada devido a condições de estresse (CHIM et al., 2001; AGUILAR, 2012). Mercier et al. (2009), observaram um papel benéfico do enriquecimento de dietas com lc-PUFA na capacidade de resposta imune de *L. vannamei* quando estressados pelo manuseio. Para *L. stylirotris*, foi observado que os camarões alimentados com uma dieta rica em lc-PUFA n-3 aumentaram o título de aglutinação do plasma e explosão respiratória de hemócitos.

Segundo Le Moullac (2000), mudanças ambientais causam estresse e aumentam a vulnerabilidade do camarão a bactérias normalmente presentes na água, reduzindo a capacidade de resposta imune dos animais. Contudo, após alimentar os camarões com dietas contendo altos níveis de lc-PUFA, observou-se que os mesmos adquirem maior resistência a oscilações em parâmetros ambientais, tais como salinidade e temperatura (REES et al., 1994; MOURENTE; RODRIGUEZ, 1997; PALACIOS et al. 2004).

2. JUSTIFICATIVA

O bioflocos é um importante suplemento nutricional, é fonte de proteínas, aminoácidos e ácidos graxos essenciais e alguns minerais e vitaminas, porém em geral possui baixo nível de lipídios. A inclusão de diferentes níveis de óleos na dieta aparece como uma possível alternativa para melhorar a qualidade nutricional do bioflocos produzido.

Devido à necessidade de reduzir o custo de produção, diversos estudos com camarão marinhos avaliam diferentes concentrações e fontes alternativas de proteína. Entretanto, conhecemos pouco sobre a exigência lipídica do *L. vannamei* cultivados no sistema de bioflocos. A inclusão de lipídios tem como consequência o aumento no nível energético da dieta e sabe-se que é necessário ter uma quantidade de energia adequada na dieta, para que a proteína seja aproveitada para crescimento, e não como fonte de energia para o metabolismo. Além disso, a quantidade de energia na dieta determina o consumo. Sendo assim, tendo valores superestimados de energia nas rações o consumo desta diminui, resultando em uma baixa absorção de nutrientes essenciais às diversas funções fisiológicas como as defesas imunológicas.

Os ambientes de cultivo em sistema com bioflocos são carregados de micro-organismos que estão constantemente em contato com o camarão, e este necessita se defender de parte destes micro-organismos que são patogênicos, a exemplo dos vibriões. Com isso, as reservas lipídicas são importantes, pois além de gerar energia para locomoção e manutenção, o camarão necessita gastar energia com o sistema imune.

Estes motivos somados ao histórico de enfermidades associado à carcinicultura torna necessário promover estudos nutricionais (determinação da exigência lipídica), levando em consideração a saúde animal, além dos critérios de desempenho zootécnico normalmente avaliados.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir para o desenvolvimento da carcinicultura, obtendo uma dieta capaz de manter saudáveis os camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*) cultivados em sistema de bioflocos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a concentração de lipídios na dieta para o camarão marinho, quando cultivado em sistema de bioflocos;
- b) Avaliar a influência das diferentes concentrações de lipídios da dieta sobre os parâmetros de qualidade de água;
- c) Avaliar a influência dos diferentes teores de lipídios da dieta sobre o perfil de ácidos graxos do hepatopâncreas e do bioflocos produzido ao final do experimento;
- d) Avaliar alterações imunológicas dos camarões cultivados no sistema de bioflocos, quando alimentados com dietas com diferentes teores de lipídios, através da contagem total de hemócitos (CTH).

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Efeito de dietas com diferentes níveis de lipídios e perfil de ácidos graxos no cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo com flocos microbianos

Tárik M. Toledo^{*a}, Bruno C. Silva^a, Felipe do N. Vieira, José Luiz P. Mourião^a, Walter Q. Seiffert^a.

^aUniversidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Laboratório de Camarões Marinhos, Florianópolis, SC, CEP 88062-601

*autor para correspondência: Servidão dos Coroas s/n (fundos), Barra da Lagoa, 88061-600,

Florianópolis, SC, Brazil. Tel.: Tel.:+55 48 3721 4116.

E-mail: tarikmt@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos diferentes teores de lipídios, balanço de ácidos graxos e níveis energéticos das dietas na composição nutricional do bioflocado gerado, além da análise dos parâmetros de desempenho zootécnico do camarão e seu estado de saúde. Foram cultivados em sistema superintensivo com flocos microbianos (bioflocos) juvenis de *Litopenaeus vannamei* (2,87 ± 0,01 g) na densidade de 200 camarões m⁻², alimentados com três dietas experimentais isoproteicas com diferentes níveis de lipídios (85,0; 95,0 e 105,0 g kg⁻¹), sendo que cada tratamento foi realizado em triplicata. Após 61 dias, não foi observado diferença significativa (p ≥ 0,05) entre os parâmetros de qualidade de água: temperatura, alcalinidade, pH, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos fixos (SSF). Para os parâmetros de desempenho zootécnico, foi observada diferença significativa (p = 0,011) entre os valores de sobrevivência, onde os camarões alimentados com dietas com menores níveis de lipídios obtiveram maior sobrevivência (92,5 ± 3,5% e 91,0 ± 2,5%) comparados ao maior nível de inclusão (78,8 ± 5,5%). Mesmo havendo diferença entre valores de sobrevivência, não foi observada diferença significativa (p ≥ 0,05) na contagem total de hemócitos (THC). Para os demais parâmetros zootécnicos não foram observadas diferenças (p ≥ 0,05). Foi observada correlação positiva (r = 0,75) entre o ácido oleico da dieta e

dos bioflocos. Para a composição do hepatopâncreas foi observada diferença estatística ($p=0,0313$) nos teores de ácido araquidônico, sendo o maior teor ($1020,00 \pm 199,70 \text{ mg.kg}^{-1}$) encontrado nos animais alimentados com menor nível de lipídios na dieta. A utilização de dietas com níveis de lipídios 8,5 e 9,5% proporcionou melhor sobrevivência dos camarões. As diferentes dietas influenciaram a composição do biofloco, que apresentou ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (lc-PUFA), especialmente o ácido araquidônico. Os camarões mostraram índices de desempenho zootécnicos similares e apresentaram-se saudáveis ao final do período experimental.

Palavras-chave: camarão marinho, nutrição, bioflocos, óleos, saúde.

4.1 Introdução

O aumento da densidade de estocagem de camarões cultivados é uma alternativa para aumentar a produtividade. O cultivo em sistemas intensivos com flocos microbianos (bioflocos) permite obter maior produtividade por área ao final do ciclo (Taw, 2010; Crab et al., 2012). Além de promover benefícios nutricionais através da produtividade natural (Tacon et al., 2002; Burford et al., 2003), o menor uso de água, descarga de efluentes reduzida e menor risco de introduzir doenças no cultivo ou propagar para o ambiente (Tacon et al., 2002; Wasielesky et al., 2006; Crab et al., 2012) fazem deste sistema uma alternativa de cultivo com menor risco e impacto ambiental, quando comparado aos cultivos tradicionais. Muitos trabalhos vêm sendo realizados em sistemas superintensivo com bioflocos com diferentes nomes, ver revisão Hargreaves (2006), neste trabalho todos serão denominados como sistema de bioflocos.

O grande número de animais nos tanques junto a redução da troca de água resulta em acúmulo de nutrientes, principalmente compostos nitrogenados (Krummenauer et al., 2011) e abundância de macro e micro-organismos (Ray et al., 2010b). No sistema de bioflocos ocorre uma sucessão de processos microbianos de remoção de nitrogênio que ajudam a manter a qualidade de água adequada aos animais de cultivo. A população de bactérias heterotróficas é estimulada trabalhando-se com a relação Carbono/Nitrogênio incorporada aos cultivos intensivos (Avnimelech, 1999), e assim ocorre uma sucessão microbiana até a formação dos bioflocos. O biofloco gerado pode servir como fonte de alimento, contribuindo para redução de custos de produção (Tacon et al., 2002; Wasielesky et al., 2006; Crab et al., 2007; Crab et al., 2010).

Entre os organismos presentes no biofloco podem-se encontrar protozoários, rotíferos, oligoquetas (Azim e Little, 2008), cianobactérias, bactérias e algumas microalgas como: clorófitas, dinoflagelados e diatomáceas (Burford et al., 2003; Ray et al., 2010b). O biofloco pode ser rico em proteínas, vitaminas e minerais, além de fornecer aminoácidos essenciais (Tacon et al., 2002; Kuhn et al., 2009; Crab et al., 2010), porém possui baixo teor de lipídios (Azim e Little, 2008; Ju et al., 2008; Crab et al., 2010; Emerenciano et al., 2011). Crab et al. (2012) citam a otimização da qualidade nutricional do biofloco (composição de ácidos graxos, composição de aminoácidos e conteúdo de vitaminas) como desafio para pesquisas futuras na área.

A nutrição é uma das maiores preocupações para os produtores de camarão (Martinez-Cordova et al., 2003), podendo ultrapassar 50% do custo de produção de um empreendimento aquícola (Van Wyk, 1999; Mitra et al., 2005). A proteína é o macronutriente mais caro em uma dieta e por isso é fundamental que sua utilização seja equilibrada com níveis adequados de energia. A energia deve ser fornecida em quantidades suficientes para que a proteína seja usada quase que principalmente para a síntese de tecidos (Cuzon e Guillaume, 1997). Dentre os macronutrientes, os lipídios fornecem maior energia, além disso, possuem função estrutural e são fonte de ácidos graxos essenciais, fosfolipídios, esteróis e carotenoides (Gonzalez-Félix and Perez-Velazquez, 2002; Nelson and Cox, 2011; NRC, 2011; Garcia et al., 2012).

Os triacilgliceróis, fontes de ácidos graxos, são compostos apolares que são fornecidos na dieta na forma de óleos puros ou contidos nas farinhas. O processo de emulsificação destes lipídios no hepatopâncreas (HP) dos camarões forma micelas, que por sua vez liberam ácidos graxos através da ação das lipases (Cuzon et al., 2004). Autores indicam que em geral dietas que promovem maiores ganhos zootécnicos em camarões possuem níveis de inclusão de 5 a 8% de lipídios (D'Abramo, 1997; González-Félix et al., 2003; NRC, 2011) e que, níveis acima 10% podem retardar o crescimento dos animais (D'Abramo, 1997). No entanto, sabe-se que a exigência em lipídios e ácidos graxos pode ser influenciada por uma variedade de fatores nutricionais (D'Abramo, 1997; Glencross et al. 2002; Cuzon et al. 2004; Glencross, 2009) e por isso novas pesquisas sobre as exigências lipídicas para camarões são importantes.

Segundo o NRC (2011), o camarão *L. vannamei* tem exigência de 0,25-0,50% de lc-PUFA n-3. Cuzon et al. (2004) sugerem que a utilização dos ácidos graxos irá variar de acordo com a fonte de lipídios

e a relação entre as suas classes. Diversos autores relataram que ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (lc-PUFA) promovem maior crescimento entre os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (González-Félix et al. 2002; González-Félix et al. 2003; Hurtado et al. 2006; Glencross, 2009). Lim *et al.* 1997, avaliando a resposta de crescimento de juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes fontes de óleos, concluíram que lc-PUFA n-3 promovem maior crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência. Entre os óleos de origem vegetal, concluíram que aqueles ricos em 18:3n-3 LNA (ácido linolênico) apresentam maior valor nutricional que os ricos em 18:2n-6 LA (ácido linoleico).

Diversos estudos têm investigado a relação da nutrição como forma de melhora na condição imunológicas dos animais. Aguilar et al. (2012), relataram que o ácido araquidônico, ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (lc-PUFA), poderia minimizar o estresse e melhorar alguns efetores do sistema imunológico, tais como coagulação e explosão respiratória. Calder (2007), sugere que alterando a composição de ácidos graxos das dietas modifica-se a composição das células imunes efetoras. Mercier et al. (2009) observou um papel benéfico do enriquecimento de dietas com lc-PUFA na capacidade de resposta imune de *L. vannamei* quando estressados pelo manuseio. Os macronutrientes e minerais influenciam na resistência dos camarões a patógenos como: vírus, bactérias, parasitas e fungos (Trichet, 2010).

O sistema imune de camarões pode ser utilizado para avaliar o estado de saúde dos animais, através de alguns parâmetros hematoinmunológicos (Pascual et al., 2006; Trichet, 2010). Segundo Rodríguez e Le Moullac (2000), a contagem total de hemócitos é um indicador útil para avaliar a saúde do camarão.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos diferentes teores de lipídios, balanço de ácidos graxos e níveis energéticos de dietas sob a composição nutricional do bioflocos gerado, além do desempenho zootécnico dos camarões cultivados e seu estado de saúde.

4.2 Material e métodos

O estudo foi conduzido entre os dias 26 de julho e 24 de setembro de 2012, no Laboratório de Camarões Marinhos do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, localizado próximo aos paralelos de 27° 25' e 27° 50' de Latitude Sul e entre os meridianos de 48° 20' e 48° 31' de Longitude

Oeste. Foram utilizados 1800 camarões juvenis com peso médio de $2,87 \pm 0,01$ g separados em nove tanques de fibra de vidro com volume de 850 L de água cada (área de fundo = $1,0 \text{ m}^2$), densidade de 200 camarões/ m^2 . Os animais foram provenientes de um tanque matriz, volume de 50.000 L (área de fundo = 50 m^2), cultivados em sistema com bioflocos dentro de estufa, onde a densidade de cultivo era de 250 camarões/ m^2 . Esse tanque recebeu melação como fonte de carbono a fim de proporcionar uma relação C:N acima de 15:1 (Avnimelech, 1999). Para o preparo das unidades experimentais, 250 L de água do tanque matriz foram utilizados como inóculo inicial das unidades experimentais (SST = 325 mg.L^{-1} , Alcalinidade = $136 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$ e Total de amônia = $0,76 \text{ mg.L}^{-1}$) somados a 600 litros de água do mar bombeada da praia do Moçambique (salinidade 33 ppm), filtrada e tratada com hipoclorito de sódio (2,5 ppm) e neutralizada com tiossulfato de sódio (2 ppm).

Foi adotado neste ensaio um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos, em triplicatas, com diferentes níveis de lipídios nas dietas: dieta 8,5%, dieta 9,5% e dieta 10,5%. Semanalmente foram feitas biometrias e análises de água, ao final do experimento todos os camarões foram pesados, sendo também coletadas amostras do bioflocos gerado para análise da composição centesimal juntamente com o hepatopâncreas dos animais para análises do perfil de lipídios.

4.2.1 Unidades experimentais

As nove unidades experimentais utilizadas estavam em sala fechada, climatizada e sem interferência do ambiente externo. Cada unidade experimental contou com iluminação artificial (fotoperíodo de aproximadamente 12h luz:12h escuro) realizada através de lâmpadas de vapor metálico (400 watts) e a intensidade que chegava na superfície d'água era de 10.000 lx , medida com luxímetro ICEL modelo LD-550. A temperatura de cada tanque foi controlada pelo termostato Full Gauge (MT512 RI, Porto Alegre, RS) regulado para a manutenção da temperatura a $\pm 28^\circ\text{C}$ através de aquecedores de titânio de 1.000 watts de potência. A aeração foi mantida constante através de mangueiras de difusão (aero-tube[®]) ligadas a um soprador de ar de 7,5 CV (Ibram Indústria Brasileira de Máquinas e Equipamentos, São Paulo, SP).

Todos os tanques foram cercados com rede ao redor (altura = 0,30 m e malha plástica $1,00 \text{ cm}^2$) para evitar perdas de camarões. Foram utilizados decantadores (Anexo 1) acoplados às unidades experimentais com capacidade de 60 L para retirada de sólidos dos tanques (adaptado

Ray et al., 2010a), mantendo o SST próximo a 600 mg L^{-1} . Quando o valor estava acima, a remoção de sólidos era realizada. Para proporcionar aumento na área útil do tanque e melhorar o conforto dos animais foram utilizados substratos artificiais (Anexo 2) (material de polietileno, com malha $1,00 \text{ mm}^2$, dimensão $60 \times 45 \text{ cm}$), instalados a 15 cm do fundo como sugere Schweitzer et al. (2013a). Todo o cultivo foi feito sem troca de água, porém foi repostado com água doce aproximadamente 1,5% do volume do tanque referente às perdas por evaporação e retirada dos sólidos, mantendo a água do tanque com salinidade constante (33 ppm).

4.2.2 Dietas experimentais e alimentação

Três dietas com diferentes níveis de lipídios foram formuladas usando o software Feedsoft® Professional version 3.14 (Feedsoft Corporation, Richardson, TX, USA). As dietas foram formuladas para serem isoproteicas, de acordo com as exigências nutricionais da espécie (Van Wyk, 1999; González-Félix et al. 2003; NRC, 2011). A digestibilidade da proteína e da energia dos ingredientes para cálculo de formulação foi estimada de acordo com NRC (2011) e Carvalho (2011) e os dados foram incorporados ao software.

Os lipídios incorporados às dietas foram provenientes de quatro diferentes fontes diretas: óleo de peixe, óleo de soja, óleo de vísceras de frango e óleo de milho, e de fontes indiretas: farinha de peixe, farelo de soja, farinha vísceras de frango e de trigo. A formulação e composição centesimal das dietas estão apresentadas na Tabela 1. As dietas extrusadas foram produzidas pela empresa de produção de rações animais GUABI® (Guabi Nutrição Animal Ltda, Campinas, SP), seguindo os padrões de fabricação de dietas comerciais.

Os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h) utilizando bandejas de alimentação (área= $0,03 \text{ m}^2$) feitas com material de polietileno com malha de $1,00 \text{ mm}^2$ e arco de fibra de vidro para adequação do consumo. Foram fornecidos 90% da ração a lanço e 10% na bandeja, após 1 hora a sobra era checada (Anexo 3). A taxa de arraçoamento inicial foi estimada para o peso dos animais segundo Van Wyk (1999).

4.2.3 Parâmetros físicos e químicos de qualidade de água

Os parâmetros físicos e químicos de água de cultivo, frequências de monitoramento e metodologia de análise são apresentados na Tabela 2.

Cal hidratada ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) foi adicionada para manter alcalinidade acima de $120 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e para beneficiar as bactérias autotróficas que transformam amônia em nitrito, e nitrito em nitrato como sugere Ebeling et. al. (2006).

4.2.4 Desempenho zootécnico do camarão

Semanalmente durante o estudo, 30 animais por tanque eram coletados para biometria, divididos em três amostras e pesados com balança de precisão com duas casas decimais (BEL Equipamentos analíticos, Piracicaba, SP), a média das amostras era adotada como peso semanal. Ao final do período experimental foram avaliados os seguintes índices zootécnicos:

Sobrevivência (%): $(\text{Número final}/\text{Número inicial}) \times 100$;

Peso médio final (g): $\text{Biomassa}/\text{Número final de animais}$;

Crescimento semanal (g): $(\text{Peso médio final} - \text{Peso médio inicial})/9$;

Fator de Conversão Alimentar (FCA): $\text{Alimento ofertado (g)}/\text{ganho em peso (g)}$.

Tabela 1: Dietas experimentais com diferentes níveis de lipídios (8,5%), (9,5%) e (10,5%) para juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema intensivo com flocos microbianos.

Ingredientes (mg g⁻¹)	Tratamentos		
	8,5	9,5	10,5
Farelo de Soja ^a	380,0	380,0	380,0
Farinha de Trigo ^b	240,0	240,0	240,0
Farinha de Peixe Kenia ^c	177,6	177,6	177,6
Farinha de Vísceras ^d	55,0	55,0	55,0
Óleo de Peixe ^e	13,1	21,9	30,5
Óleo de Soja ^f	5,1	8,5	11,9
Óleo de Vísceras ^g	8,4	14,1	19,9
Óleo de Milho ^h	3,3	5,5	7,7
Lecitina de Soja ⁱ	14,0	14,0	14,0
Premix ^j	15,0	15,0	15,0
Fosfato Monocálcico ^l	21,1	21,1	21,1
Sal Comum ^m	11,8	11,8	11,8
Sulfato de Magnésio ⁿ	7,2	7,2	7,2
Cloreto de Potássio ^o	1,2	1,2	1,2
Vitamina C ^p	0,3	0,3	0,3
Aglutinante ^q	46,8	26,6	6,4
Composição Centesimal (mg g⁻¹)			
Proteína Bruta (PB)	340	340	340
Lipídios Totais	87,8	96,5	104,8
Matéria Mineral	161,3	141,1	121,0
Fibra Bruta	13,0	13,0	13,0
Energia Bruta (EB) (kcal kg ⁻¹)	3.959,0	3.991,0	4.116,00
Proteína digestível (PD)	290,7	290,7	290,7
Energia digestível (ED) (kcal kg ⁻¹)	2.905,0	2.996,0	3.091,0

^a Cargill nutrição animal Ltda. (São Paulo, SP)
^b Bunge Alimentos S.A. (Luis Eduardo Magalhães, BA)
^c Indústria de Farinha de Peixe Kenya. (Itajaí, SC)
^d Forquímica Agrociência Ltda. (Cambira, PR)
^e Agroforte Agronegócios. (São Paulo, SP)
^f Granol Indústria, Comércio e Exportação Ltda. (São Paulo, SP)
^g Forquímica Agrociência Ltda. (Cambira, PR)
^h Campestre Ind. e Com. de Óleos vegetais Ltda. (São Bernardo do Campo, SP)
ⁱ Sina Indústria. (Bauru, SP)
^j Rovimix Camarão Intensivo. DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, SP). Níveis de garantia por kg do produto (segundo o fabricante): vitamina A, 1.250.000 UI; vitamina D3, 350.000 UI; vitamina E, 25.000 UI; vitamina K3, 500,0 mg; vitamina B1, 5.000,0 mg; vitamina B2, 4.000,0 mg; vitamina B6, 10,0 mg;

ácido nicotínico, 15.000,0 mg; ácido pantotênico, 10.000,0 mg; biotina, 150,0 mg; ácido fólico, 1.250,0 mg; vitamina C, 25.000,0 mg; colina, 50.000,0 mg; inositol, 20.000,0 mg; ferro 2.000,0 mg; cobre, 3.500,0 mg; cobre quelado, 1.500,0 mg; zinco, 10.500,0 mg; zinco quelado, 4.500,0 mg; manganês, 4.000,0 mg; selênio, 15,0 mg; selênio quelado, 15,0 mg; iodo, 150,0 mg; cobalto, 30,0 mg; cromo, 80,0 mg; veículo, 1.000,0 g.

^lVale Fertilizantes (Cubatão, SP) 200 g/kg (mínimo) de fósforo total; 210 g/kg (máximo) de cálcio (valores reportados pelo fabricante)

^m Refimosal Refinação e Moagem de Sal Santa Helena Ltda. (Mossoró, RN)

ⁿ Microsal Indústria e Comércio Ltda. (Capivari, SP)

^o Paulifértil Fertilizantes Ltda. (São Paulo, SP)

^p Impextraco Latin America (Curitiba, PR)

^q Cao do Brasil Ltda. (Iguatama, MG).

Tabela 2: Parâmetros físicos e químicos, frequência e métodos das análises dos indicadores de qualidade de água medidos durante os 61 dias de cultivo de *L. vannamei* em sistema intensivo com flocos microbianos.

Parâmetro	Frequência	Método
Oxigênio Dissolvido	Diário	Oxímetro YSI 550
Temperatura	Diário	Oxímetro YSI 550
pH	2 x semana	YSI pH 100
Alcalinidade	2 x semana	APHA (1995) – 2520 b
Salinidade	2 x semana	Salinômetro YSI 30 - 10 FT
Sólidos Suspensos Totais (SST)	2 x semana	APHA (1995) - 2540 D
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	2 x semana	APHA (1995) - 2450 E
Sólidos Suspensos Fixos (SSF)	2 x semana	APHA (1995) - 2450 E
N-NH ₄ ⁺ /N-NH ₃	2 x semana	Método de Koroleff (1969)(apud GRASSHOFF et al., 1983)
N-NO ₂ ⁻	2 x semana	Reação de Griess (AMINOT e CHAUSSEPIED, 1983 apud GRASSHOFF et al., 1983)
N-NO ₃ ⁻	1 x semana	Método de WOOD et al. (1969).(apud GRASSHOFF et al., 1983)
P-PO ₄ ³⁻	1 x semana	MURPHY e RILEY (1962), (apud GRASSHOFF et al., 1983)

4.2.5 Coletas das amostras e análises centesimais

As amostras de hepatopâncreas foram coletadas ao final do período experimental durante a despesca para cálculo do índice hepatossomático, além de análises de perfis de ácidos graxos e teores de lipídios. Foram coletados HPs de 100 animais por tanque e divididos em dois lotes, assim observado o peso médio deste órgão. O hepatopâncreas foi removido com auxílio de bisturi e tesouras cirúrgicas através de uma incisão na parte posterior do cefalotórax (Anexo 4), como sugere Emerenciano et al. (2012) e imediatamente colocados em tubo Falcon, este inserido dentro de uma caixa de isopor totalmente cheia de gelo. Quando totalizado os 50 HPs em cada tubo, estes foram pesados e mantidos a -24°C. Para calcular o IHS foi usada a seguinte fórmula:

Índice Hepatosomático (IHS) (%): (Peso HP/ Peso total) x 100.

A amostra do bioflocos foi obtida um dia antes da despesca final através de um decantador cilindro-cônico, com 400 L de volume, o qual foi acoplado ao sistema. A água do tanque foi bombeada por uma bomba submersa até o volume de 400 L e após 15 minutos foi coletado o material sedimentado através da saída de água no fundo do decantador. Aproximadamente 5 L do material foram centrifugados durante 10 min a 6000 rpm (Eppendorf 5804, Hamburg, GE) e posteriormente mantidas a -24°C durante dois dias.

As amostras das dietas, hepatopâncreas e dos bioflocos produzidos foram liofilizadas (LIOBRAS, São Carlos, SP) a -53°C por aproximadamente 48 horas para sua conservação e posterior determinação da umidade e a matéria seca. Em seguida foram enviados ao laboratório CBO (Campinas, SP) para determinação da concentração de lipídios totais, energia, proteína, fibra bruta, matéria mineral, além da composição de ácidos graxos.

Para determinação da concentração de lipídios totais quantificados pelo método de Bligh & Dyer (1959), com metanol, clorofórmio e água na proporção de 2:1:0,8 (v/v) e metilada em ésteres metílicos de ácidos graxos (fatty acid methyl esters - FAMES) através da reação com trifluoreto de boro (BF_3) em metanol. O triglicéride tridecanóico (C13:0) Foi adicionado como padrão interno e FAMES são medidos quantitativamente por cromatografia gasosa capilar mediante a utilização de padrão interno C13:0. Gorduras saturadas e insaturadas são calculadas com a soma de seus respectivos ácidos graxos. O conteúdo total de lipídios foi descrito por porcentagem da matéria seca e o perfil de ácidos graxos por mg g^{-1} . Para determinação da energia bruta das dietas foi usado um Calorímetro Marca IKA-WERKE modelo C-5000 (Arthur Nogueira, SP).

Para a análise da composição das amostras do bioflocos, a proteína bruta (PB) foi determinada por digestão oxidativa aproximadamente a $900\text{-}1200^{\circ}\text{C}$ pelo método Dumas (AOAC, 2007). A matéria mineral ou cinzas foi o produto resultante da queima da amostra em mufla convencional por 5 horas a 550°C . Para determinação da Fibra Bruta a amostra foi digerida em solução de detergente ácido que solubiliza o conteúdo celular, a hemicelulose, os minerais solúveis e a maior parte da proteína insolúvel, deixando inalteradas as frações de lignina e celulose (Sindirações, 2009).

4.2.6 Contagem total de hemócitos

Com o intuito de avaliar o estado de saúde dos animais foi coletada a hemolinfa de cinco camarões por unidade experimental (três réplicas por tratamento) para formar de um *pool*. A hemolinfa foi extraída com uma seringa de 1 mL, acoplada a agulhas de 30x8 mm (21G), inserida na região do primeiro segmento abdominal (Anexo 5).

A hemolinfa foi fixada em uma solução anticoagulante fixadora, consistindo de 4% de formaldeído e solução (MAS) (solução de Alsever modificada: 27mM citrato de sódio, 336 mM cloreto de sódio, 115 mM glicose, 9 mM EDTA, pH 7,0). O número de hemócitos por mililitro de hemolinfa foi estimado por contagem direta em câmara de Neubauer.

4.2.7 Análises estatísticas

Para análises, primeiramente foi constatada a homocedasticidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Os dados foram comparados por ANOVA ($\alpha=0,05$), sendo os parâmetros de qualidade de água avaliados por medidas repetidas e os resultados de desempenho zootécnico, nutrientes e ácidos graxos dos hepatopâncreas e bioflocos foram analisados usando-se ANOVA de uma via. E constatando diferença significativa foi aplicado o teste de Student-Newman-Keuls (SNK) para separação das médias. Foi feita correlação de Spearman entre os níveis de lipídios e cada ácido graxo das dietas, dos hepatopâncreas e biofoco ($\alpha=0,05$). Para todas as comparações foi utilizado o software STATISTICA 7.0.

4.3 Resultados

4.3.1 Dietas experimentais

As dietas analisadas apresentaram diferentes teores de lipídios, tendo a dieta 8,5 (87,8 g kg⁻¹) seguida pela dieta 9,5 com teor de 96,5 g kg⁻¹ e com maior teor de lipídios a dieta 10,5 com 104,8 g kg⁻¹. O nível de energia das dietas variou de 8,5 (3959,0 kcal.kg⁻¹), 9,5 (3991,0 kcal kg⁻¹) e 10,5 (4116,0 kcal kg⁻¹). O perfil de ácidos graxos da dieta está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Composição de ácidos graxos (mg g^{-1}) das dietas experimentais avaliadas com diferentes níveis de lipídios para o camarão marinho *L. vannamei* cultivado em sistema intensivo com flocos microbianos.

Ácido graxo	Tratamento		
	8,5	9,5	10,5
mg g^{-1}			
C14:0	2,46	2,63	2,53
C16:0	17,01	18,46	19,28
C18:0	3,86	4,17	4,63
C16:1n-7	3,38	3,63	3,79
C18:1n-9	15,13	16,63	19,44
C18:2n-6 LA	23,08	26,70	30,22
C18:3n-3 LNA	2,56	3,04	3,37
C20:4n-6 ARA	0,87	0,91	0,93
C20:5n-3 EPA	6,22	6,61	6,93
C22:6n-3 DHA	10,23	10,60	10,41
Σ Saturados ¹	24,92	26,93	28,20
Σ Monoinsaturados ²	19,43	21,20	24,17
PUFA ³	43,40	48,33	52,41
Σ n-3	19,07	20,30	20,76
Σ n-6	24,16	27,84	31,43
n-3/n-6	0,79	0,73	0,66

¹ Σ inclui C12:0, C15:0, C17:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0 e C24:0.

² Σ inclui C14:1, C17:1, C20:1, C22:1 e C24:1.

³ Σ inclui C18:3n-6, C20:2, C20:3 e C22:2.

⁴ C18:3n-3, C20:3n-3, C20:5n-3 e C22:6n-3.

⁵ C18:2n-6, C18:3n-6, C20:3n-6 e C20:4n-6.

4.3.2 Parâmetros físicos e químicos de água

Os parâmetros físicos e químicos de qualidade de água, analisados durante todo o período de cultivo estão apresentados na Tabela 4. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p \geq 0,05$) para temperatura, oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, amônia, nitrito, nitrato fosfato, sólidos suspensos totais, sólidos suspensos voláteis, sólidos suspensos fixos (Tabela 4),.

4.3.3 Desempenho zootécnico do camarão

Após 61 dias de cultivo experimental foi observada diferença significativa ($p=0,011$) na sobrevivência entre os tratamentos. Os valores encontrados para o tratamento 8,5 e 9,5 ($92,5 \pm 3,5$ e $91,0 \pm 2,5$ %) diferiram do tratamento 10,5 ($78,8 \pm 5,5\%$), que apresentou menor sobrevivência. O peso médio final, ganho em peso semanal, consumo e o fator de conversão alimentar não apresentaram diferenças entre os tratamentos ($p \geq 0,05$). O tratamento 8,5 apresentou peso médio de $14,22 \pm 0,27$ g, o tratamento 9,5 ($14,26 \pm 0,20$ g) e o tratamento 10,5 peso médio de $13,97 \pm 0,41$ g. Os tratamentos 8,5 e 9,5 apresentaram ganho em peso semanal semelhante $1,26 \pm 0,03$ g e $1,26 \pm 0,02$ g, respectivamente, o tratamento 10,5 apresentou ganho semanal médio de $1,23 \pm 0,05$ g. O consumo médio de ração por tratamento foi 8,5 ($2631,33 \pm 304,05$ g), tratamento 9,5 ($2818,66 \pm 115,93$ g), e tratamento 10,5 ($2470,65 \pm 125,25$ g). O tratamento 8,5 apresentou F.C.A. ($1,49 \pm 0,05$), 9,5 ($1,63 \pm 0,16$), e tratamento 10,5 ($1,58 \pm 0,16$).

Tabela 4: Parâmetros de qualidade da água durante o período de cultivo do camarão. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão (mínimo e máximo) após 61 dias de cultivo em sistema com bioflocos.

	Tratamento		
	8,5	9,5	10,5
Temperatura (°C)	28,65 \pm 0,30 (29,06-27,61)	28,54 \pm 0,25 (27,97-28,95)	28,36 \pm 0,40 (27,13-29,00)
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	5,57 \pm 0,43 (4,68-6,20)	5,40 \pm 0,52 (4,89-6,28)	5,52 \pm 0,52 (4,61-6,38)
pH	7,63 \pm 0,18 (6,80-7,94)	7,61 \pm 0,13 (7,28-7,87)	7,60 \pm 0,19 (7,03-8,10)
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	137,63 \pm 12,03 (100,00-160,00)	138,67 \pm 10,82 (116,-168,00)	134,29 \pm 12,68 (100,00-166,00)
Amônia NH ₄ /NH ₃ -N (mg.L ⁻¹)	0,06 \pm 0,06 (0,00-0,34)	0,07 \pm 0,06 (0,00-0,32)	0,08 \pm 0,08 (0,00-0,43)
Nitrito NO ₂ -N (mg.L ⁻¹)	0,43 \pm 0,20 (0,23-1,10)	0,46 \pm 0,20 (0,22-1,15)	0,41 \pm 0,19 (0,20-1,24)
Nitrato NO ₃ -N (mg.L ⁻¹)	8,48 \pm 4,09 (1,64-14,30)	8,21 \pm 4,35 (1,43-13,50)	8,73 \pm 5,01 (0,91-18,60)
Fosfato PO ₄ -P (mg.L ⁻¹)	3,73 \pm 1,42 (1,10-6,20)	3,98 \pm 1,35 (1,50-6,60)	3,81 \pm 1,17 (1,40-6,00)
SST (mg.L ⁻¹)	534,00 \pm 145,69 (274,00-869,00)	520,21 \pm 135,64 (267,00-834,00)	509,81 \pm 120,45 (313,00-818,00)
SSV (mg.L ⁻¹)	193,74 \pm 95,53 (74,00-510,00)	210,69 \pm 91,77 (81,00-511,00)	194,92 \pm 85,52 (76,00-537,00)
SSF (mg.L ⁻¹)	334,69 \pm 78,28 (177,00-507,00)	307,77 \pm 60,51 (186,00-427,00)	314,85 \pm 61,40 (197,00-435,00)

4.3.4 Composição do hepatopâncreas

O valor do (IHS%) índice hepatossomático não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$). O tratamento 8,5, apresentou média de $3,45 \pm 0,17\%$, seguido de 9,5 ($3,50 \pm 0,24\%$) e 10,5 ($3,66 \pm 0,19\%$).

O conteúdo total de lipídios no hepatopâncreas não foi alterado pelos diferentes tratamentos ($p \geq 0,05$). Já para os ácidos graxos, o ácido araquidônico (C20:4n-6) foi o único que apresentou diferença significativa na composição do hepatopâncreas ($p = 0,0313$). Não foi encontrada diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os demais teores de ácidos graxos dos diferentes tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5: Composição de ácidos graxos (mg g⁻¹ do peso seco) das amostras de hepatopâncreas dos camarões ao final do experimento.

HEPATOPÂNCREAS			
	8,5	9,5	10,5
mg g ⁻¹			
Extrato Etéreo	279,4	271,3	289,4
mg g ¹			
C14:0	5,69	6,36	5,78
C16:0	85,59	87,41	88,78
C18:0	15,78	16,11	16,99
C16:1n-7	11,17	11,58	11,52
C18:1n-9	79,31	79,28	88,10
C18:2n-6 LA	52,08	44,82	51,60
C18:3n-3 LNA	1,86	1,49	1,76
C20:4n-6 ARA	1,02 ^a	0,53 ^b	0,66 ^b
C20:5n-3 EPA	2,67	1,90	2,31
C22:6n-3 DHA	3,28	2,49	2,21
Σ Saturados ¹	115,54	118,76	120,19
Σ Monoinsaturados ²	96,68	96,72	105,69
PUFA ³	66,35	55,72	63,49
Σ n-3 ⁴	8,05	6,09	6,45
Σ n-6 ⁵	53,32	45,59	52,49
n-3/n-6	0,15	0,13	0,12

Valores representam média de análises em triplicata.

¹ Σ inclui C6:0, C12:0, C15:0, C17:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0 e C24:0.

² Σ inclui C14:1, C20:1, C22:1 e C24:1.

³ Σ inclui C20:2 e C20:3.

⁴ C18:3n-3, C20:3n-3, C20:5n-3 e C22:6n-3.

⁵ C18:2n-6, C20:3n-6 e C20:4n-6.

4.3.5 Composição bioflocos

A composição centesimal e o perfil de ácidos graxos analisados na amostra do bioflocos formado nas unidades experimentais, após 61 dias de cultivo, estão apresentados na Tabela 6. Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os teores dos macronutrientes analisados: proteína bruta, matéria mineral e extrato etéreo. Foi observada diferença significativa ($p=0,0426$) entre os teores de fibra bruta do bioflocos produzido. Foi observada correlação positiva ($r=0,75$, $p=0,019$) entre o

teor de ácido oleico (C18:1n-9) da dieta e o teor nas amostras de bioflocos, para os demais não foi observado correlação.

Tabela 6: Composição de ácidos graxos (mg g⁻¹ do peso seco e porcentagem do total de ácidos graxos) das amostras de bioflocos formados ao final do experimento.

BIOFLOCO			
	8,5	9,5	10,5
mg g ⁻¹			
Proteína Bruta	209,4	210,3	214,3
Fibra Bruta	109,3 ^b	153,7 ^a	128,6 ^b
Matéria Mineral	556,8	549,5	550,2
Extrato Etéreo	42,4	43,8	44,1
mg g ⁻¹			
C14:0	2,78	2,12	1,93
C16:0	11,62	12,92	12,34
C18:0	2,50	2,61	2,78
C16:1	5,18	5,74	5,76
C18:1n-9	5,13	5,51	5,82
C18:2n-6 LA	4,18	4,37	4,67
C18:3n-3 LNA	0,69	0,56	0,77
C20:4n-6 ARA	2,66	2,51	2,45
C20:5n-3 EPA	2,01	2,19	2,07
C22:6n-3 DHA	1,20	1,26	1,27
Σ Saturados ¹	19,37	20,15	19,58
Σ Monoinsaturados ²	10,85	11,76	12,16
PUFA ³	11,71	11,85	12,18
Σ n-3 ⁴	3,94	4,03	4,13
Σ n-6 ⁵	7,17	7,22	7,39
n-3/n-6	0,55	0,56	0,56

Valores representam média de análises em triplicata.

¹ Σ inclui C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C15:0, C17:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0 e C24:0.

² Σ inclui C14:1, C18:1, C20:1, C22:1 e C24:1.

³ Σ inclui C18:3n-6, C20:2, C20:3 e C22:2.

⁴ C18:3n-3, C20:3n-3, C20:5n-3 e C22:6n-3.

⁵ C18:2n-6, C18:3n-6, C20:3n-6 e C20:4n-6.

4.3.6 Contagem total de hemócitos (CTH)

Não foi observada diferença significativa na CTH ($p>0,05$). Os valores da CTH foram $22,49\pm 0,81.10^6$ céls mL⁻¹ nos camarões alimentados com dieta 8,5%, $23,63\pm 4,21.10^6$ céls mL⁻¹ nos animais alimentados com dieta 9,5% e $22,19\pm 2,70.10^6$ céls mL⁻¹ quando alimentados com dieta 10,5%.

4.4 Discussão

A aquicultura tem importante papel no fornecimento de alimentos ricos em PUFA para alimentação humana. No ambiente natural, as algas são produtores primários de ácidos graxos essenciais como EPA e DHA (Glencross, 2009). Já em cultivos, os animais dependem da disponibilidade destes nutrientes na dieta. O óleo de peixe é uma fonte rica em lc-PUFA e é frequentemente utilizado em dietas para diversas espécies de organismos aquáticos cultiváveis, porém seu uso tende a diminuir nas próximas décadas, devido aos preços em alta e pressões por práticas mais sustentáveis de cultivo. Sabe-se que em camarões, o perfil de ácidos graxos da dieta está relacionado com o perfil destes na musculatura (González-Felix et al., 2010). Nesta questão, o papel nutricional do biofoco ganha importância por ser fornecedor de ácidos graxos, além de ser um sistema de controle de compostos nitrogenados possivelmente tóxicos, como amônia e nitrito, sem que haja renovação de água.

Os parâmetros físicos e químicos de qualidade de água permaneceram dentro da faixa ideal para o cultivo. A temperatura tem grande influência no consumo alimentar do *L. vannamei*, sendo a faixa considerada ótima para o consumo de 27 a 31°C (Van Wyk, 1999), a média dos tratamentos foi próxima a 28,5°C. O oxigênio dissolvido e a amônia são os principais fatores limitantes em sistemas superintensivos (Ebeling et al., 2006). O oxigênio foi mantido acima de 4,61 mg.L⁻¹, valores próximos aos encontrados por Schweitzer et al. (2013a). O total de amônia permaneceu baixo em todos os tratamentos. A maior concentração total de amônia foi 0,43 mg.L⁻¹, valor similar ao observado em cultivo de *L. vannamei* com biofocos por Wasielesky et al. (2006). Segundo Cobo et al. (2012), 13,2 mg.L⁻¹ é a concentração letal₅₀ (24 horas) de total de amônia para pós-larva 1 em pH 8,5.

Existem três vias para remoção de amônia da água dos tanques de cultivo, por meio das algas, das bactérias heterotróficas ou por meio das bactérias autotróficas. O reuso de água entre os ciclos é uma estratégia que pode ser usada para formação de outras comunidades bacterianas mais rapidamente, estabilizando o sistema (Correia et al. 2002; McAbee

et al., 2003). No primeiro dia de cultivo, a média de nitrito e nitrato dos tratamentos foram $0,99 \pm 0,03$ e $1,79 \pm 0,48$ mg L⁻¹, respectivamente. Durante o período experimental a média da concentração de nitrito nos três tratamentos foi $0,43 \pm 0,02$ mg L⁻¹ e nitrato $8,47 \pm 0,26$ mg L⁻¹, valores abaixo das concentrações máximas observadas em experimento com *L. vannamei* por Vinatea et al., (2010). Esses valores sugerem a presença de uma comunidade bacteriana autotrófica formada (Ebeling et al., 2006; Azim e Little, 2008).

A atividade de nitrificação tem influência sobre os valores de pH da água de cultivo. Isto devido ao fato de que as bactérias nitrificantes consomem alcalinidade e produzem dióxido de carbono (Ebeling et al., 2006). Neste estudo a alcalinidade apresentou valores médios acima de 130 mg L⁻¹, sendo diariamente necessário adicionar cal hidratada para manter os valores próximos ao recomendado por Schweitzer et al. (2013a). O valor do pH foi próximo a 7,6 em todos os tratamentos, permanecendo dentro da faixa ideal (pH 6,5 a 9,0) considerada por Vinatea (2004). O total de sólidos suspensos manteve-se pouco acima das concentrações encontradas em tanques com sistema de retirada de sólidos similar (Ray et al., 2010a). Ao final do experimento foram observados picos de até 869 mg L⁻¹, no entanto, os camarões não ficaram expostos a essa concentração por muito tempo, não sendo visualizadas alterações nas brânquias. O alto valor encontrado é explicado pela retirada dos sólidos em pequenos volumes, pois variações na comunidade microbiológica podem contribuir para diferenças encontradas entre os bioflocos formados (Izquierdo et al., 2006; Crab et al., 2012). Os parâmetros físicos e químicos da água durante o período experimental mostraram que sistema de cultivo com bioflocos pode ser um método sustentável para manter a qualidade de água ideal para o cultivo de camarões (Crab et al., 2012).

O biofoco foi analisado como alimento para os juvenis de camarões. Em geral, as características do biofoco são variadas e diversos fatores podem alterar a comunidade microbiológica interferindo na qualidade nutricional do biofoco (Ebeling et al., 2006; Crab et al., 2010). Nesse experimento, o biofoco apresentou baixos níveis de proteína (aproximadamente 20%), diferentemente de estudos prévios onde o biofoco atingiu teores maiores deste macronutriente, valores que variaram de 28 a 58% (Tacon et al., 2002; Kuhn et al., 2009; Crab et al., 2010; Kuhn et al., 2010). Schweitzer et al. (2013b, in press), observaram que bioflocos formados em tanques de cultivo com menor relação C:N apresentaram menores teores de proteína e mais altos teores de matéria-mineral. Foi observada diferença significativa no teor de

fibra bruta entre as amostras de biofloco, que pode estar relacionado a uma alteração na comunidade biológica, porém outros fatores podem ter interferido. Os bioflocos formados apresentaram alto nível de matéria-mineral, valores maiores do que os encontrados por Tacon et al. (2002) e Crab et al. (2010) que pode estar relacionado pelo uso de inóculo de água de tanque de cultivo com comunidade bacteriana formada (Correia et al., 2002), uso diário de cal hidratada, uso de caulim como aglutinante nas dietas, grande quantidade de material fecal do camarão em suspensão (Tacon et al., 2002) e acúmulo minerais lixiviados das dietas.

O total de lipídios encontrado no biofloco foi acima de 4% para todos os tratamentos, valores próximos a estudos prévios (Tacon et al., 2002; Crab et al., 2010). Os ácidos graxos observados em maior proporção no biofloco foram 16:0, 16:1n-7 e 18:1n-9, assim como estudos prévios (Tacon et al., 2002; Izquierdo et al., 2006; Crab et al., 2010). Entre os ácidos graxos poli-insaturados, o ácido linoleico (LNA) 18:2n-6 apresentou o maior teor no biofloco, entre os lc-PUFA, o ARA e o EPA também foram encontrados em teores significativos, valores pouco acima dos encontrados por Tacon et al., (2002). O teor de ácido araquidônico (C20:4n-6) encontrado nas amostras de bioflocos foi mais de 5 vezes maior que na dieta, ácido que recentemente tem sido considerado essencial (Glencross, 2009) pois é um precursor de eicosanoides, que afetam o sistema imune dos vertebrados e insetos (Stanley et al., 2009). Inclusões de bioflocos em dietas têm sido testadas para *L. vannamei* com resultados positivos (Kuhn et al., 2009; Kuhn et al., 2010).

Entre os parâmetros de desempenho zootécnico, a sobrevivência observada pelos tratamentos 8,5 e 9,5% apresentaram valores próximos aos encontrados em cultivos superintensivos de *L. vannamei* (Wasielensky et al., 2006; Samocha et al., 2010). Embora a diferença entre o teor de lipídios e ácidos graxos das dietas não seja grande para causar diferença na sobrevivência, um possível equilíbrio entre os nutrientes da dieta e do biofloco pode ter influenciado. O ganho em peso médio semanal foi acima de 1,23 g, valor similar a estudos feitos com *L. vannamei* na mesma região (Baloi et al., 2013; Schweitzer et al., 2013a). O FCA encontrado nos tratamentos (abaixo de 1,63) pode ser considerado satisfatório, valores abaixo do encontrado por Ray et al. (2010a) e Baloi et al. (2013). Ao final do cultivo, os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre o peso médio, mostrando que, neste caso dietas com níveis de lipídios totais acima de 100 g kg⁻¹ não diminuíram a velocidade de crescimento dos camarões como citado por D'Abramo (1997) como limite máximo de inclusão. Alguns autores

sugerem que a diminuição no crescimento poderia ser devido a redução do consumo causado pelo conteúdo altamente calórico das dietas provocando saciedade (D'Abramo, 1997), o que não foi confirmado neste estudo, e/ou pela diminuição na capacidade de digerir altos níveis de lipídios (Glencross et al., 2002; NRC, 2011),.

O hepatopâncreas é um órgão essencial para armazenamento de nutrientes. Neste estudo o índice hepatossomático (HSI%) dos camarões em todos os tratamentos foi pouco acima do encontrado em *L. vannamei* na fase de reprodução ($3,00 \pm 0,18\%$) (Wouters et al., 2001), (2,5%) (Emerenciano et al., 2012). Segundo Ceccaldi (1997), o HSI pode variar de 2 a 6% do peso úmido do camarão. A quantidade de lipídios encontrada no hepatopâncreas dos camarões ($280,0 \text{ mg g}^{-1}$) foi maior que $197,9 \pm 12,2 \text{ mg g}^{-1}$ encontrada em juvenis de *L. vannamei* por Aguilar et al. (2012). A maior presença de C16:0 e C18:1n-9 nas amostras de hepatopâncreas dos reprodutores de *L. vannamei* também foi observada por Emerenciano et al. (2012). A alta quantidade o ácido palmítico (C16:0) e ácido oleico (C18:1n-9) observados neste estudo no HP dos camarões eram esperados pois em geral os ácidos graxos saturados podem ser sintetizados *de novo* por todos os organismos, incluindo peixes e crustáceos, a partir do acetato (D'Abramo, 1997; Glencross, 2009). Os camarões aparentemente possuem o sistema de enzima delta-9-dessaturase que pode converter esses ácidos graxos saturados em monoinsaturados, formas que contêm uma dupla ligação (D'Abramo, 1997; Sargent et al., 2002). Foram observados baixos teores de lc-PUFA no HP, podendo reforçar a ideia que esses ácidos graxos de cadeia longa não são sintetizados ou podem ter sido usados para outras funções como estrutura da membrana, reprodução e sistema imune (Glencross, 2009).

O sistema imune de camarões pode ser utilizado para avaliar o estado de saúde dos animais, através de alguns parâmetros hematológicos (Pascual et al., 2006; Trichet, 2010; Rodríguez e Le Moullac, 2000), sendo a THC é uma importante ferramenta para avaliação do estado de saúde animal (Rodríguez e Le Moullac, 2000). Os camarões nos três tratamentos apresentaram média de THC próximas, demonstrando que o nível de lipídios na dieta não influenciou na contagem dos hemócitos. A THC encontrada foi pouco acima da descrita por outros autores em pesquisas com *L. vannamei* (Cheng et al., 2005; Song et al., 2003; Li e Chen, 2008) e próxima à encontrada por Ramirez (2011).

4.5 Conclusão

A utilização de dietas com níveis de lipídios 8,5 e 9,5% proporcionou melhor sobrevivência dos camarões. As diferentes dietas influenciaram o bioflocos gerado, que apresentou lc-PUFA em sua composição nutricional, especialmente o ácido araquidônico. Os camarões mostraram índices de desempenho zootécnicos similares e apresentaram-se saudáveis ao final do período experimental.

Agradecimentos

Os autores agradecem pela concessão de bolsas ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa produtividade ao pesquisador Prof. Walter Quadros Seiffert e pela bolsa PDI José Luiz Pedreira Mouriño, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado a Tárík Massucci Toledo; ao Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) pelo apoio ao Laboratório de Camarões Marinhos e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro do projeto “Bases Nutricionais para o Desenvolvimento de Dietas voltadas para o Cultivo do Camarão *Litopenaeus vannamei* em Regime Intensivo com Flocos Microbianos e Troca Mínima de Água –FINEP/RECARCINA – 2010–2012.” Agradecemos também a toda a equipe do Laboratório de Camarões Marinhos do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina e a empresa GUABI® (Guabi Nutrição Animal Ltda, Campinas, SP) pela parceria na fabricação das dietas.

Referências

Aguilar V., Racotta I. S., Goytortúa E., Wille M., Sorgeloos P., Civera R. & Palacios E. (2012) The influence of dietary arachidonic acid on the immune response and performance of Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at high density. *Aquaculture Nutrition*, 18, 258-271.

Akiyama, D.M., Dominy, W.G. & Lawrence, A.L. (1991) Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In: *Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop* (Akiyama, D.M. & Tan, R.K.H. eds), pp. 80–98, Thailand and Indonesia, 19–25 September. American Soybean Association, Singapore.

A.O.A.C. (Associations of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists, 2007, 18 ed., Method 996.06, p. 20-25.

A.P.H.A. (American Public Health Association), American Water Works Association, Water Pollution Control Association, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.

Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176, 227–235.

Azim, M. E., Little, D. C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29–35.

Baloi, M., Arantes, R., Schweitzer, R., Magnotti, C., Vinatea, L., 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in bioflocsystems with varying levels of light exposure. *Aquacultural Engineering*, 52, 39-44.

Bligh, E. G., Dyer, W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.

Burford, M. A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., Bauman, R. H., Pearson, D. C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219, 393 – 411.

Calder, P. C., 2007. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 77, 327–335.

Carvalho, R. A. P. L. F. Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinhos: avaliação dos ingredientes proteicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para *Litopenaeus vannamei*. Orientado por Dr. Daniel E. L. de Lemos. São Paulo, 2011. p. 247. Tese de doutorado em Ciências (Oceanografia Biológica) - Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico.

Ceccaldi, H. J. Anatomy and Physiology of the Digestive System. 1997. In: Crustacean Nutrition, D'Abramo, L.; Conklin, D.; Akiyama, D. eds. Advances in World Aquaculture, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70.

Cheng, W., Chieu, H., Tsai, C., Chen, J., 2005. Effects of dopamine on the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology, 19, 375-385.

Cobo, M. L., Sonnenholzner, S., Wille, M., Sorgeloos, P. Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. Aquaculture research, 2012, 1-6.

Correia, E. S., Pereira, J. A., Apolinario, M. O., Horowitz, A., Horowitz, S., 2002. Effect of pond aging on natural food availability and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Engineering, 26, 61-69.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture, 270, 1–14.

Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquaculture Research 41, 559–567.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture, 356-357, 351-356.

Cobo, M. L. Sonnenholzner, S., Wille, M., Sorgeloos, P., 2012. Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. Aquaculture Research, 1-6.

Cuzon, G., Guillaume, J., 1997. Energy and protein: energy ratio. In: Crustacean Nutrition, D'Abramo, L., Conklin, D. & Akiyama, D. (Eds.) Advances in World Aquaculture, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70.

Cuzon, G.; Lawrence, A.; Gaxiola, G.; Rosas, C.; Guillaume, J., 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235, 513 – 551.

D'Abramo, L. R., 1997. Triacylglycerols and Fatty Acids. In: *Crustacean Nutrition*, D'Abramo, L., Conklin, D. & Akiyama, D. (Eds.) *Advances in World Aquaculture*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 71-84.

Ebeling, J. M., Timmons, M. B., Bisogni, J. J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346–358.

Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Cavalli, R. O., Wasielesky, W., 2011. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International*, 19, 891-901.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Arévalo, M., Miquelajauregui, M. M., Gaxiola, G., 2012. Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance, biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared under biofloc conditions. *Aquaculture International*, 1-21.

Garcia, A. S., Gonçalves, L. U., Cavalli, R. O., Viegas, E. M. M., 2012. Lipídios. In: *Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*, Fracalossi, D. M. e Cyrino, J. E. P. (Eds.) *Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática*, Florianópolis, Brasil, 79-100.

Glencross, B. D., Smith, D.M., Thomas, M.R., Williams, K.C., 2002. The effects of dietary lipid amount and fatty-acid composition on the digestibility of lipids by the prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 205, 157-169.

Glencross, D. B., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1, 71-124.

González-Félix, M. L., Gatlin III, D. M., Lawrence, A. L., Perez-Velazquez, M., 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. *Aquaculture Nutrition*, 9, 115-122.

González-Félix, M. L., Perez-Velazquez, M., 2002. Current status of lipid nutrition of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, Cancún, Quintana Roo, México, 35-45.

González-Félix, M. L., Silva, F. S. D., Davis, D. A., Samocha, T. M., Morris, T. C., Wilkenfeld, J. S. & Perez-Velazquez, M., 2010. Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 309, 152–158.

Grasshoff, K. M., Ehrhardt, K., Kremling, K., 1983. *Methods of Seawater Analysis*, 2nd revised and extended edition. Weinheim/Verlag Chemie, Deerfield Beach, FL/Basel.

Hargreaves, J. A., 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquaculture engineering*, 34, 344-363.

Hurtado, M. A., Racotta, I. S., Arjona, O., Hernández-Rodríguez, M., Goytortúa, E., Civera, R., Palacios, E., 2006. Effect of hypo- and hyper-saline conditions on osmolarity and fatty acid composition of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) fed low- and high-HUFA diets. *Aquaculture Research*, 37, 1316-1326.

Izquierdo, M., Forster, I., Divakaran, S., Conquest, L., Decamp, O., Tacon, A., 2006. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 12, 192-202.

Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W. C., Horgen, F. D., 2008. Determination of microbial community structures of shrimp flocc cultures by biomarkers and analysis of flocc amino acid profiles. *Aquaculture Research*, 39, 118–133.

Kuhn, D. D., Boardman, G. D., Lawrence, A. L., Marsh, L., Flick, G. J., 2009. Microbial flocs generated in bioreactors is a superior replacement ingredient for fishmeal or soybean meal in shrimp feed. *Aquaculture*, 296, 51–57.

Kuhn, D.D.; Lawrence, A.L.; Boardman, G.D.; Patnaik, S., Marsh, L. and Flick Jr, G.J., 2010: Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* . *Aquaculture*, 303: 28 –33

Krummenauer, D., Cavalli, R. O., Poersch, L. H., Wasielesky Jr., W., 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *Journal of World Aquaculture Society*, 42, 726-733.

Li, C., Chen, J., 2008. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under low and high pH stress. *Fish and Shellfish Immunology*, 25, 701-709.

Lim, C., Ako, H., Brown, C.L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture*, 151, 143-153.

Martinez-Cordova, L. R., Campaña Torres, A., Porchas-Cornejo, M. A., 2003. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosmos. *Aquaculture Nutrition*, 9, 155-160.

McAbee, B. J., Browdy, C. L., Rhodes, R. J., 2003. Greenhouse raceways: Considered for superintensive U. S. shrimp production. *Global Aquaculture Advocate*, 6, 40-43.

Mercier, L., Racotta, I.S., Yepiz-Plascencia, G., Muhlia-Almazal, A., Civera, R., Quiñones-Arreola, M.-F., Wille, M., Sorgeloos, P. & Palacios, E., 2009. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. *Aquaculture Research* 40, 1849–1863.

Mitra, G., Chattopadhyay, D. N., Mukhopadhyay, P.K., 2005. Nutrition and feeding in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) farming. Aqua Feeds: Formulation and Beyond 2, 17-19.

Nelson, D.L.; Cox, M. M., 2011. Princípios de bioquímica de Lehninger. 5.ed. Savier: ArtMed, p. 1274.

N.R.C. (Nutrients Requirements of Fish and Shrimp), 2011. Committee on the Nutrient Requirements of fish and Shrimp, National Council of the National Academies, Washington, USA, p. 376.

Pascual, C.; Rodríguez, T.; Rosas, C., 2006. Inmunidad y Nutrición In: Rosas, C.; Carrillo, O.; Wilson, R.; Andreatta, E. R. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados em Iberoamérica, Cidade do México, 297 – 318.

Ramirez, N. C. B., 2011. Avaliação de uso de probiótico, prebiótico e simbiótico na microbiota intestinal de *Litopenaeus vannamei*. (Dissertação), orientador, Edemar R. Andreatta, Florianópolis, SC, 59 p.

Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., Leffler, J. W., 2010a. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. Aquaculture, 299, 89–98.

Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010b. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. Aquaculture, 310, 130–138.

Rodríguez, J., Le Moullac, G., 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. Aquaculture, 191, 109–119.

Sargent, J. R., Tocher, D. R., Bell, J. G., 2002. The Lipids. In: Fish Nutrition, 3rd ed. Halver, J. E., Hardy, R. W., (Eds.) Academic Press, New York, USA, p. 181–257.

Samocha, T. M., Wilkenfeld, J. S., Morris, T. C., Correia, E. S., Hanson, T., 2010. Intensive raceways without water exchange analyzed for white shrimp culture. Global Aquaculture Advocate 13, 22–24.

Schweitzer, R., Arantes, R., Baloi, M. F., Costódio, P. F. S., Arana, L. V., Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R., 2013a, in press. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacultural Engineering*.

Schweitzer, R., Arantes, R., Costódio, P. F. S., Santo, C. M. E., Arana, L. V., Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R., 2013b. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange, *Aquacultural Engineering*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>

Sindirações, 2009. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*. Método 19, p. 78 – 80.

Song, Y., Yu, C., Lien, T., Huang, C., Lin, M., 2003. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology*, 14, 317-331.

Stanley, D. et al., 2009. Eicosanoid Actions in Insect Immunity. *Journal of Innate Immunity*, 1, 282-290.

Tacon, A. J. G., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P., Decamp, O. E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*, 8, 121–131.

Taw, N. 2010 Biofloc technology expanding at white shrimp farms biofloc systems deliver high productivity with sustainability. *Global Aquaculture Advocate*, 2, 20 – 22.

Trichet, V. V., 2010. Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research*, 41, 356 – 372.

Van Wyk, P., 1999. Nutrition and feeding of *Litopenaeus vannamei* in intensive culture systems. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), *Farming marine*

shrimp in recirculating freshwater systems. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, USA, 125-139.

Vinatea, L., Galvez, A. O., Browdy, C. L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B. L., Lawson, A., Shuler, A., Leffler, J. W., 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, 42, 17–24.

Vinatea, L., 2004. Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. 2. Ed., Florianópolis: Ed. da UFSC, 231p.

Wasiolesky Jr. W., Atwood. H., Stokes, A., Browdy, C. L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396–403.

Wouters, R., Piguave, X., Bastidas, L., Calderón, J., Sorgeloos, P., 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research*, 32, 573-582.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o planejamento do experimento as dietas foram formuladas para conter 5; 7; 9 e 11% de lipídios, possuindo maior variação entre os níveis energéticos e perfil de ácidos graxos. Desta forma, ficaria mais clara a influência deste nutrientes no desempenho zootécnico do camarão e na composição final do biofloc.

As dietas formuladas foram enviadas para empresa de nutrição animal GUABI®, para que fossem fabricadas. Ao fabricar a dieta com 5% de lipídios, ocorreu um problema na máquina extrusora devido a pouca quantidade de óleo usado na dieta, como foi informado pelo fabricante. Então, nesta dieta foi adicionado 1% de óleo para continuar a fabricação, modificando assim o conteúdo planejado inicialmente para 6; 8; 10 e 12% de lipídios nas dietas.

O experimento foi conduzido por 61 dias com quatro tratamentos em triplicata cada, totalizando 12 tanques. Ao final do experimento, as dietas fabricadas foram enviadas para análise de lipídios e perfil de ácidos graxos, junto com o biofloc formado nos tanques e o hepatopâncreas retirado dos camarões.

Devido ao grande volume de ração fabricado (cinco toneladas cada), diferenças entre a composição formulada e a composição do produto final eram esperadas. O resultado das amostras mostrou que as dietas continham 8,5; 8,78; 9,65 e 10,48% de lipídios. Como a diferença entre o teor de lipídios dos dois tratamentos com menor concentração foi muito pequena, decidiu-se por excluir o tratamento com menor teor de lipídios, ficando com três tratamentos.

6. REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

AGUILAR, V. et al. The influence of dietary arachidonic acid on the immune response and performance of Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at high density. **Aquaculture Nutrition**, 18, 258-271, 2012.

AVNIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, 176, 227–235, 1999.

AZIM, M.E., LITTLE, D.C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283, 29–35, 2008.

BARRACCO, M.A.; PERAZZOLO, L.M.; ROSA, R.D. Inmunología del Camarón, con énfasis en camarones. In: MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL J. (eds.) Guía práctica en patología e Inmunología de camarones penaeidos. Ed: CYTED v. 1, p. 169-224. Panamá, 2008.

BURFORD, M. A. et al. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, v. 219, p. 393 - 411, 2003.

CAMPBELL, M. K. Bioquímica – 3. Ed. – Porto Alegre: Artmed Editora, 2000.

CAHU, C. et al. Influence of phospholipid and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg and tissue composition in *Penaeus vannamei* fed semi-purified diets. **Aquaculture**, 126, p.159–170, 1994.

CECCALDI, H. J. Anatomy and Physiology of the Digestive System. In: Crustacean Nutrition, D'ABRAMO, L.; CONKLIN, D.; AKIYAMA, D. eds. *Advances in World Aquaculture*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70, 1997.

CHIM, L. et al. Could a diet enriched with n-3 highly unsaturated fatty acids be considered a promising way to enhance the immune defenses and the resistance of Penaeid prawns to environmental stress? **Aquaculture Research**, 32, 91–94, 2001.

CRAB, R. et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, p. 1 - 14, 2007.

CRAB, R. et al. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, 41, 559–567, 2010.

CRAB, R. et al. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 356-357, 351-356, 2012.

CUZON, G.; GUILLAUME, J. Energy and protein: energy ratio. In: Crustacean Nutrition, D'ABRAMO, L.; CONKLIN, D.; AKIYAMA, D. eds. *Advances in World Aquaculture*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70, 1997.

CUZON, G.; LAWRENCE, A.; GAXIOLA, G.; ROSAS, C.; GUILLAUME, J. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, v. 235, p. 513 – 551, 2004.

DAS, U. N. Essential Fatty Acids – A Review. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 7, 467-482, 2006.

D'ABRAMO L. R. Tryacylglycerols and Fatty Acids. In: Crustacean Nutrition, D'ABRAMO, L.; CONKLIN, D.; AKIYAMA, D. eds. *Advances in World Aquaculture*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70, 1997.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary Metabolism. In: Fish Nutrition, 3rd ed. HALVER, J. E.; HARDY, R. W., eds. Academic Press, New York, USA, p. 181–257, 2002.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257, 346–358, 2006.

EMERENCIANO, M. et al.. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. **Aquaculture International**, 19, 891-901, 2011.

GARCIA, A. S. et al.. Lipídios. In: Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira, FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. Eds. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Florianópolis, Brasil, p. 79-100, 2012.

GLENCROSS, D. B. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1, p. 71-124, 2009.

GONG, H. et al. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*: I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture**, 190, 305– 324, 2000.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L., PEREZ-VELAZQUEZ, M. Current status of lipid nutrition of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México, 2002.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M.L. et al. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. **Aquaculture Nutrition**, 9, 115-122, 2003.

HARGREAVES, J. A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquaculture engineering**, 34, 344-363, 2006.

HAGOPIAN, D.S, RILEY, J.G. A closer look at the bacteriology of nitrification. **Aquacultural Engineering**, 18, 223-244, 1998.

HERTRAMPF, J. W.; PIEDAD-PASCUAL F. Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, P. 573, 2000.

IZQUIERDO, M. et al. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, 12, 192-202, 2006.

JU, Z.Y. et al. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. **Aquaculture Research**, 39, 118-133, 2008.

KRUMMENAUER, D. et al. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of World Aquaculture Society**, 42, 726-733, 2011.

KUHN, D.D. et al. Microbial floes generated in bioreactors is a superior replacement ingredient for fishmeal or soybean meal in shrimp feed. **Aquaculture**, 296, 51-57, 2009.

KURESHY, N.; DAVIS, D.A. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 204, p. 125 - 143, 2002.

LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. **Aquaculture**, 191, 121-31, 2000.

LIM, C. et al. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. **Aquaculture**, 151, p. 143-153, 1997.

MARSDEN, G. E., MATHER, P., RICHARDSON, N. Captivity, ablation and starvation of the prawn *Penaeus monodon* affects protein and lipid content in ovary and hepatopancreas tissues. *Aquaculture*, 271, 507–515, 2007.

MARTINEZ-CORDOVA, L. R., CAMPAÑA-TORRES A.; PORCHAS-CORNEJO M. A. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosmos. **Aquaculture Nutrition**, 9, 155-160, 2003.

MEINCKE, M.; KRIEG, E.; BOCK, E. *Nitrosovibrio* sp., the dominant ammonia-oxidizing bacteria in building sandstone. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (8), 2108–2110, 1989.

MERCIER, L. et al. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. **Aquaculture Research**, 40, 1849–1863, 2009.

MITRA G.; CHATTOPADHYAY D.N.; MUKHOPADHYAY P.K. Nutrition and feeding in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) farming. **Aqua Feeds: Formulation and Beyond**, 2, 17-19, 2005.

MOURENTE, G.; RODRIGUEZ, A. Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. **Marine Biology**, 128, 289–298, 1997.

NELSON, D.L.; COX, M. M. **Principios de bioquímica de Lehninger**. 5.ed. Savier: ArtMed, p. 1274, 2011.

NRC. Nutrients Requirements of Fish and Shrimp. Committee on the Nutrient Requirements of fish and Shrimp, National Council of the National Academies, Washington, USA, 2011.

PASCUAL, C.; RODRÍGUEZ, T.; ROSAS, C. Inmunidad y Nutrición In: ROSAS, C.; CARRILLO, O.; WILSON, R.; ANDREATTA, E. R. **Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones**

peneidos cultivados em Iberoamérica, Cidade do México, p. 297 – 318, 2006.

PALACIOS, E. et al. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) postlarvae to low salinity. **Journal Experimental Marine Biology and Ecology**, 299, 201–215, 2004.

RAY, A. J. et al. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299, 89–98, 2010a.

RAY, A. J. et al. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensiveaquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310, 130–138, 2010b.

REES, J.F. et al. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. **Aquaculture**, 122, 193–207, 1994.

RODRÍGUEZ, J., LE MOULLAC, G., 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. **Aquaculture**, 191, 109–119, 2000.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: Fish Nutrition, 3rd ed. HALVER, J. E.; HARDY, R. W., eds. Academic Press, New York, USA, p. 181–257, 2002.

SHI-YEN SHIAU. Carbohydrates and Fiber. In: Crustacean Nutrition, D'ABRAMO, L.; CONKLIN, D.; AKIYAMA, D. eds. Advances in World Aquaculture, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, v. 6, p. 51–70, 1997.

TACON, A.J.G. et al. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 121–131, 2002.

TRICHET, V. V. Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research*, 41, 356 – 372, 2010.

VAN WYK, P. Nutrition and feeding of *Litopenaeus vannamei* in intensive culture systems. In: WYK, P.V. et al. (Eds.) **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Tallahassee: Florida Department of Agriculture and Consumer Services, p.125-139, 1999.

VOET, D.; VOET, J. G. Biochemistry (second edition). John Wiley and Sons, New York, 1995.

WASIELESKY Jr., W. et al. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, p. 396–403, 2006.

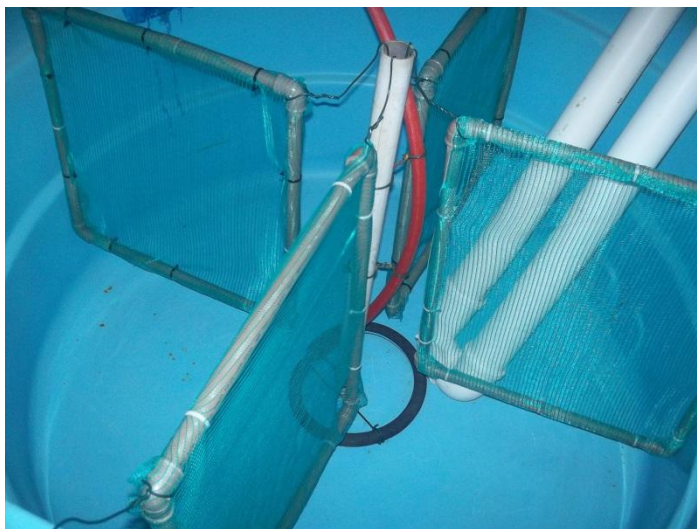
WEBSTER, C. D.; C. LIM. Introduction to Fish Nutrition. In: WEBSTER, C. D. AND C. LIM, eds. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CAB1 Publishing. New York, New York, USA, p. 1-27, 2002.

VAN WYK, P. Nutrition and feeding of *Litopenaeus vannamei* in intensive culture systems. In: WYK, P.V.; DAVIS-HODGKINS, M.; LAMORE, R. et al. (Eds.) **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Tallahassee: Florida Department of Agriculture and Consumer Services, p.125-140, 1999.

ANEXOS



Anexo 1 – Tanques de cultivo de *L. vannamei* com decantadores acoplados para retirada dos sólidos suspensos da água.



Anexo 2 – Substrato artificial usado no cultivo de *L. vannamei* em sistema com bioflocos.



Anexo 3 – Bandeja de alimentação para análise do consumo. 90% do alimento foi fornecido a lanço e 10% nas bandejas.



Anexo 4 – Extração do hepatopâncreas do camarões para análise ao final do período experimental.



Anexo 5 – Extração da hemolinfa de *L. vannamei* para contagem total de hemócitos.