



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

Priscila Costa Rezende

Algas pardas como aditivo alimentar para camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos em diferentes fases de cultivo

Florianópolis

2021

Priscila Costa Rezende

Algas pardas como aditivo alimentar para camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos em diferentes fases de cultivo

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura

Orientador: Felipe do Nascimento Vieira
Coorientador: Delano Dias Schleder

Florianópolis

2021

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

Rezende, Priscila Costa

Algas pardas como aditivo alimentar para camarão-branco do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos em diferentes fases de cultivo / Priscila Costa Rezende ; orientador, Felipe do Nascimento Vieira, coorientador, Delano Dias Schleder, 2021.

76 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Litopenaeus vannamei. 3. Sargassum filipendula. 4. Undaria pinnatifida. 5. Resistência ao WSSV. I. Vieira, Felipe do Nascimento . II. Schleder, Delano Dias. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Priscila Costa Rezende

Algas pardas como aditivo alimentar para camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos em diferentes fases de cultivo

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Felipe do Nascimento Vieira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Manuel Angel Valenzuela Jimenez, Dr.
Universidade Nacional Autónoma do México

Prof., Dr. Rodrigo Antonio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho, Dr.
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Profa. Gabriele Rodrigues de Lara, Dra.
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof., Dr. Felipe do Nascimento Vieira
Orientador

Florianópolis, 2021.

Este trabalho é dedicado à minha família, minha base forte.

AGRADECIMENTOS

Hoje mais um sonho se realiza, mais uma etapa da vida se completa, só que nada disso teria conseguido sem essas pessoas. Por isso sinto-me na obrigação de agradecê-las.

Agradeço a Deus pelo fato de me dar o dom da vida e discernimento para a realização e conclusão de mais essa etapa profissional.

Aos meus filhos Ruan e Maria Clara, representando um pedaço de mim, sendo eles a razão maior da minha vida, afinal minha luta diária consiste em tornar o futuro deles melhor. Mamãe pede desculpa pelas ausências. Sou muito grata a Deus por essas duas dádivas que foram me enviadas como presente, que me dão forças para continuar a cada dia.

Aos meus pais, Heliane C. Rezende e José M. Rezende pessoas essenciais em minha vida, pelo amor incondicional, dedicação e por todo o esforço dado para que eu me tornasse um ser melhor ao longo de minha vida. Obrigado por sempre me apoiar em todas as minhas decisões e por sempre acreditarem que eu era capaz.

As minhas irmãs, Caroline e Izabela, minhas cúmplices e confidentes, pela amizade e carinho que cultuamos, por me escutarem apoiarem em todos os momentos.

Aos meus sobrinhos Rauan, Victória, Cauê e Maria Luiza, que em nossos encontros me proporciona momentos de carinho e muita descontração.

Ao meu marido Ivanderson Barbosa, por todo amor e paciência, sendo a pessoa na qual sempre pude contar, me ajudando nos momentos mais difíceis de minha vida, me dando força e coragem para continuar sendo ele o meu maior incentivador.

Aos amigos que conquistei ao longo do curso, Jaque, Norha, Ari, Mari, Jamilly, Cris, Esmeralda, entre diversos outros. Nossas conversas informais no LCM me levaram a um aprendizado que nenhuma instituição poderia proporcionar.

Ao meu orientador, Felipe do Nascimento Vieira e co-orientador Delano Dias Schleder, por todo o apoio, conhecimento e confiança depositada ao assumir a orientação e co-orientação.

Aos funcionários e amigos do LCM, em especial David, Ilson, Carlos Miranda, Diego, Dimas e Deia, por toda ajuda e diversão na hora do trabalho duro.

Ao LABNUTRI, pelo auxílio na formulação e fabricação das rações experimentais.

Ao Carlito, pela prestatividade na secretaria da PGAQI.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil - (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação.

“Ele é como árvore plantada junto a corrente de águas, que, no devido tempo, dá o seu fruto, e cuja folhagem não murcha; e tudo quanto ele faz será bem-sucedido.”
(Salmos 1:3)

RESUMO

O objetivo desta tese foi avaliar o uso da biomassa seca das algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifida* (U) como aditivo alimentar em dietas para o camarão-branco-do-pacífico criado em sistema de bioflocos nas fases de berçário e engorda. Foram realizados dois experimentos, no primeiro foram avaliados os parâmetros zootécnicos, a quantificação de bactérias heterotróficas totais e vibrionácea das pós-larvas e a resistência ao estresse térmico agudo (choque térmico) dos camarões na fase de berçário. Os animais foram alimentados com quatro combinações da biomassa seca das algas pardas 0,5%:2%, 0,5%:4%, 1%:2% e 1%:4% (S:U) e um controle, sem a adição das algas, por 6 semanas (de PL 20 até ± 1 g). No segundo experimento, foram avaliados o desempenho zootécnico dos camarões na fase de engorda, a contagem bacteriana do trato digestório, os parâmetros hemato-imunológicos, a resistência ao choque térmico e à infecção com vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) em associação com flutuação térmica. Os camarões, pesando $3,8 \pm 0,04$ g, foram alimentados durante cinco semanas com duas dietas contendo combinações da biomassa seca das algas pardas 1%:2% e 1%:4% (S:U) e uma controle, sem a adição das algas, até atingirem $10,9 \pm 0,06$ g. De forma geral, os camarões alimentados com diferentes dietas contendo 4U apresentaram menor concentração de vibrionácea e aqueles alimentados com a dieta 1S:2U apresentaram menor mortalidade frente ao choque térmico, em ambas as fases de cultivo. Na fase de engorda, os camarões alimentados com a combinação 1S:4U, apresentaram uma melhora geral nos parâmetros hemato-imunológicos. Os camarões que receberam as dietas 1S:2U e 1S:4U, apresentaram menor mortalidade ao WSSV em associação com flutuação térmica. Portanto, o uso combinado de *S. filipendula* e *U. pinnatifida* na dieta causou efeitos fisiológicos benéficos para o camarão *L. vannamei*, sem prejudicar seu desempenho zootécnico nas fases de cultivo avaliadas. Estes resultados revelam um enorme potencial para a utilização de algas marrons nas dietas do camarão *Litopenaeus vannamei* criado em regiões subtropicais afetadas pela doença da Mancha Branca.

Palavras-chaves: Aquicultura, *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, Resistência ao WSSV.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the combined use of the brown seaweeds *Sargassum filipendula* (S) and *Undaria pinnatifida* (U) dry biomass as feed additive to Pacific white shrimp reared in biofloc system during nursery and fattening phase. Two experiments were carried out, in the first one growth performance, quantification of total heterotrophic and vibriionacea bacteria of the PLs and acute thermal stress (thermal shock) resistance were evaluated shrimp in the nursery phase. Four combinations of seaweeds were evaluated, 0.5%: 2%, 0.5%: 4%, 1%: 2% and 1%: 4% (S: U), and one control diet (without seaweed addition), shrimp post-larvae (PLs) were grown for 6 weeks (in PL 20 the ± 1 g). The second experiment, growth performance, bacterial count of digestive tract, hemato-immunological parameters, thermal shock and infection with the White Spot Syndrome virus (WSSV) in association with thermal fluctuation, of the shrimp fattening phase were evaluated. Fed with two diets containing combinations of dry biomass seaweeds 1%: 2% and 1%: 4% (S: U) and control, without the addition seaweeds, for five weeks (3.8 ± 0.04 g the 10.9 ± 0.06 g). Shrimp fed with different diets containing 4U the vibriionacea count was significantly lower concentration in PLs fed diets containing 4% (U) and those fed the 1S: 2U diet showed less mortality in the face of thermal shock in both phases of cultivation. The fattening phase, the shrimp fed with 1S: 4U, showed general improvement in hemato-immunological parameters and that received the diets 1S: 2U and 1S: 4U, showed lower mortality to WSSV in association with thermal fluctuation. Therefore, combined use *S. filipendula* and *U. pinnatifida* in the diet caused beneficial physiological effects for *L. vannamei*, without impairing its growth performance in the different stages of cultivation, revealing enormous potential use in subtropical regions with incidence of White Spot disease.

Palavras-chaves: Aquaculture, *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, Resistance to WSSV.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
1.1	CARCINICULTURA.....	12
1.2	SISTEMA DE CULTIVO EM BIOFLOCOS.....	13
1.3	ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS E FISIOLOGIA DO CAMARÃO MARINHO	15
1.4	VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA	17
1.5	ALGAS PARDAS COMO ALTERNATIVA A PROBLEMAS ENCONTRADOS NA CARCINICULTURA.....	18
1.6	OBJETIVOS.....	20
1.6.1	Objetivo geral.....	20
1.6.2	Objetivos específicos.....	20
1.7	FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS.....	21
2	ALGAS PARDAS INSERIDAS NA DIETA PARA O BERÇÁRIO DE CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO CRIADO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS MELHORAM A RESISTÊNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E DIMINUEM VIBRIONÁCEA	22
	RESUMO	22
	ABSTRACT	22
2.1	INTRODUÇÃO.....	23
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.2.1	Biomassa seca das algas	25
2.2.2	Animais experimentais	25
2.2.3	Produção e composição centesimal das dietas	25
2.2.4	Delineamento experimental	27
2.2.5	Análises de qualidade de água	27
2.2.6	Controle de amônia, alcalinidade e sólidos suspenso totais	27
2.2.7	Análise microbiológica da pós-larva	28
2.2.8	Parâmetros zootécnicos	28
2.2.9	Choque térmico	28
2.2.10	Análises estatísticas	29
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
2.4	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS	35

3	ALGAS PARDAS COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA CAMARÃO-BRANCO-PACÍFICO CULTIVADO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS MELHORA A RESISTÊNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E AO VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA.....	42
	RESUMO	42
	ABSTRACT	42
3.1	INTRODUÇÃO.....	43
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.2.1	Biomassa seca das algas	45
3.2.2	Animais experimentais	46
3.2.3	Produção e composição centesimal das dietas	46
3.2.4	Delineamento experimental	47
3.2.5	Análises de qualidade de água.....	48
3.2.6	Controle de amônia, alcalinidade e sólidos suspenso totais.....	48
3.2.7	Análise da microbiologia do trato intestinal	48
3.2.8	Parâmetros zootécnicos.....	49
3.2.9	Análise de parâmetros hemato-imunológicos	49
3.2.10	Choque térmico.....	50
3.2.11	Desafio com vírus da mancha branca (wssv) associado à flutuação térmica.....	50
3.2.12	Análises estatísticas	51
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.4	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS	60
4	CONCLUSÕES GERAIS	68
	REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO GERAL	69

1 INTRODUÇÃO GERAL

O processo de intensificação dos sistemas de produção de camarões marinhos ao longo das últimas décadas, levou a um incremento expressivo da produtividade das fazendas de cultivo. No entanto, com o aumento das densidades de estocagem e do *input* de ração nos sistemas produtivos houve um incremento da descarga de nitrogênio e outros potenciais poluentes nos ambientes aquáticos, além de aumentar o potencial de disseminação de enfermidades (BOYD, 2003; PIEDRAHITA, 2003).

A tecnologia de bioflocos (BFT, do inglês *Biofloc Technology*) surge como alternativa, na busca de sistemas produtivos que reduzam os riscos decorrentes dessa intensificação, uma vez que este sistema se baseia na reciclagem dos nutrientes e na baixa renovação de água (EMERENCIANO et al., 2013; BOSSIER & EKASARI, 2017). Esse sistema pode ser considerado um dos sistemas mais inovadores e sustentáveis atualmente empregados no cultivo de camarões (KUMAR et al., 2018). Sendo baseado no princípio da assimilação de nitrogênio inorgânico (amônia, nitrito e nitrato) pela comunidade microbiana e na formação de aglomerados, chamados de bioflocos, constituídos de microalgas, protozoários, bactérias e detritos orgânicos e inorgânicos (DE SCHRYVER et al., 2008; AVNIMELECH, 2014).

Apesar das diversas características positivas do sistema de bioflocos, este também apresenta algumas desvantagens, como necessidade de mão de obra especializada e elevada demanda de manejo e monitoramento, uma vez que contém grande concentração de matéria orgânica e alta densidade de estocagem. O desequilíbrio dentro de sistema pode levar consequências negativas, como a multiplicação de bactérias patogênicas. A presença de bactérias do gênero *Vibrio*, já foram relatadas como causadoras de mortalidades em sistemas de bioflocos (KRUMMENAUER et al., 2014). Isso mostra que mesmo o sistema de bioflocos sendo eficiente no controle dos parâmetros de qualidade de água, não é capaz de controlar ou tratar infecções sozinho.

Outra problemática importante para a carcinicultura, é a condição climática. Já foi demonstrado que mudanças climáticas podem contribuir para o surto de doenças nas fazendas de cultivo de camarão, por meio do aumento da susceptibilidade dos animais, e de alterações na distribuição, prevalência e virulência de diferentes tipos de patógenos como bactérias, vírus, fungos e parasitas (KAUTSKY et al., 2000; TENDENCIA et al., 2010). Dentre as principais doenças que causam impacto na carcinicultura, podemos destacar a Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), a qual tem gerado enormes perdas econômicas na indústria de produção de camarão em muitos países (MOSS et al., 2012; VERBRUGGEN et al., 2016; WU

et al., 2017; OIDTMANN et al., 2018), e essas perdas anuais equivalem aproximadamente a um décimo da produção global de camarão (STENTIFORD et al., 2012). O uso de substância bioativas podem auxiliar no controle destas enfermidades.

As algas pardas apresentam uma diversidade expressiva de compostos bioativos, como polissacarídeos, compostos fenólicos, peptídeos, vitaminas, terpenóides e esteróis (BALBOA et al., 2013), que podem estar associados à resistência térmica conferida aos animais aquáticos. Entre os polissacarídeos presentes nessas algas podemos destacar, as fucoïdanas, alginatos e laminarinas, relatadas em diversos estudos com a capacidade de aumentar a resistência imunológica e melhorar a sobrevivência quando o camarão é desafiado por algumas bactérias ou vírus (CRUZ-SUÁRES et al., 2008). Podemos observar dessa forma, o potencial que as algas pardas apresentam frente aos diversos problemas enfrentados na carcinicultura.

1.1 CARCINICULTURA

A carcinicultura marinha teve início no Brasil na década de 1970, na década seguinte, a prática de cultivo despertou o grande interesse no setor empresarial com a produção de camarões peneídeos (*Marsupenaeus japonicus*, *Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus subtilis*, *F. brasiliensis* e *F. paulensis*). Contudo, foi no início dos anos 90 que a atividade se desenvolveu com a introdução da espécie exótica *Litopenaeus vannamei*, conhecido como camarão branco, nativo da costa sul-americana do Pacífico, que é atualmente a espécie mais cultivada em todos os países produtores do ocidente (FAO, 2020). O incremento obtido com a introdução da espécie *L. vannamei*, tornou o processo produtivo comercialmente, contribuindo com o desenvolvimento das fazendas de camarão marinho, o que resultou numa estrutura nova no setor de ração industrial, laboratórios de pós-larva e projetos de engenharia (ROCHA, 2000).

Os cultivos de camarões marinhos podem utilizar um ciclo de produção composto por quatro fases: larvicultura, pré-berçário, berçário e engorda. A larvicultura se trata da primeira etapa da produção, onde se dá a partir do cruzamento das matrizes e reprodutores, ocorrendo em seguida à desova. Os ovos fecundados são colocados em tanques e em cerca de aproximadamente doze horas evoluem para o estágio de náuplio (LIMA et al., 2004). Esta fase compreende a fase de náuplio, até a fase de pós-larva (PL) quando são transferidas para o pré-berçário, o que normalmente se dá entre PL5 e PL10. O pré-berçário é uma fase compreendida entre o laboratório e a fazenda, o qual visa o fornecer aos produtores pós-larvas maiores (a partir de PL20) e mais resistentes a variações ambientais no cultivo, geralmente dura 15 dias, de PL5 a PL20 (ANDREATTA; BELTRAME, 2004). O berçário é realizado entre a larvicultura ou pré-berçário e a engorda, com o objetivo de manter as pós-larvas em um sistema controlado até

atingirem aproximadamente 1 g (COHEN et al., 2005), bem como promover uniformidade de tamanho, redução do canibalismo e melhorar o manejo de estocagem, proporcionando uma maior sobrevivência tanto na fase berçário, como na sua subsequente, a engorda (YTA et al., 2004). Berçários já são bastante utilizados na América Latina para posterior povoamento nas fazendas de produção em sistema tradicional. A incorporação da fase de berçário pode melhorar a previsibilidade da produção do sistema, pois melhora a eficiência de sistemas intensivos de produção de camarões (SAMOCHA et al., 2003; COHEN et al., 2005). A engorda se caracteriza por ser a fase de crescimento, os camarões juvenis normalmente atingem o peso comercial de 10 a 12 g, durante o período de 90 a 120 dias nos viveiros de engorda (LIMA, 2015; ABRUNHOSA, 2011).

Tradicionalmente o cultivo de camarões é realizado em viveiros de terra e próximo a regiões costeiras (CHAMBERLAIN, 2010) onde a estratégia mais utilizada nas fazendas para assegurar a qualidade ambiental dos cultivos é a renovação de água dos viveiros. Já foi observado que essa prática pode trazer riscos tanto para os cultivos quanto para o ambiente adjacente, a água que é bombeada para os tanques pode servir como vetor de doenças (LIGHTNER, 2005) e a água descartada do cultivo, além de poluir o ambiente costeiro (PÁEZ-OSUNA, 2001), pode ser uma fonte potencial de contaminação biológica para os ambientes naturais (HOROWITZ; HOROWITZ, 2002).

Diante de tudo isso, o desenvolvimento de novos modelos de cultivo que possam assegurar a sustentabilidade da atividade em longo prazo tornou-se fundamental e vem sendo objetivo de muitas pesquisas. Nessa constante, a procura por novos modelos de produção, o sistema de cultivo com bioflocos tem sido apontado por pesquisadores como uma alternativa viável aos sistemas tradicionais, ocupando menor área de cultivo, utilizando um menor volume de água e com maior biossegurança (HARGREAVES, 2006).

1.2 SISTEMA DE CULTIVO EM BIOFLOCOS

A tecnologia de bioflocos (BFT, do inglês *Biofloc Technology*) surge como alternativa, na busca de sistemas produtivos que reduzam os riscos decorrentes da intensificação da carcinicultura, o sistema se baseia na reciclagem dos nutrientes e na baixa renovação de água (EMERENCIANO et al., 2013; BOSSIER & EKASARI, 2017). É um sistema fechado, com pouca ou nenhuma renovação de água, a qual permite uma elevada densidade de estocagem de camarões por metro quadrado de tanque (BURFORD et al., 2003), para tanto, adiciona-se uma fonte extra de carbono orgânico na água de cultivo, tais como: melão de cana, dextrose, açúcar, glicose, tapioca, farelo de arroz, dentre outras, com intuito de manter a relação

carbono:nitrogênio acima de 10:1 (AVNIMELECH, 1999; DE SCHRYVER et al., 2008; HARI et al., 2006), que por sua vez é responsável por estimular o crescimento de bactérias heterotróficas, que consomem os compostos orgânicos da água, gerados pelas excretas e sobras de ração dos camarões (MONTEIRO, 2008).

De acordo com o protocolo utilizado pelo Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o sistema de bioflocos apresenta três diferentes fases. A primeira fase é realizada pela adição de ração moída e fertilizante orgânico três dias antes do povoamento dos camarões, com a intenção de inicialmente promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas, que irão assimilar os compostos nitrogenados formando biomassa bacteriana (AVNIMELECH, 2012). Os picos de composto nitrogenados são observados na segunda fase, principalmente a amônia, onde a correção através da adição de carbono orgânico no sistema se faz necessária, além da adição diária pela entrada de ração. A nitrificação do sistema ocorre da terceira e última fase, com a presença de bactérias quimioautotróficas que utilizam compostos inorgânicos, transformando a amônia em nitrito e o nitrito em nitrato. É possível também observar nesse momento, um acúmulo de nitrito no sistema sendo necessária a adição de hidróxido de cálcio para corrigir o pH e manter a alcalinidade acima de 150 mg/L para as bactérias quimioautotróficas. Ao final do cultivo nota-se o acúmulo de nitrato no sistema de bioflocos revelando o processo de nitrificação (FERREIRA, 2021). De acordo com Otoshi e Moss (2011), a nitrificação em água salgada leva em torno de 20 dias para se estabelecer em um sistema de bioflocos, neste período é comum ser observado picos de compostos nitrogenados.

Em BFT, a remoção de compostos nitrogenados é realizada principalmente por bactérias heterotróficas e quimioautotróficas, que é dependente da relação C:N utilizada no sistema (AVNIMELECH, 1999). As bactérias heterotróficas exigem uma relação C:N maior de 10:1 e requerem carbono orgânico, como açúcar, dextrose ou melaço como fonte de energia. Já as bactérias quimioautotróficas apresentam taxas de crescimento mais lentas e utilizam carbono inorgânico, nesse sistema a relação C:N é menor (6: 1) (EBELING et al., 2006).

A reutilização da água do cultivo em múltiplos ciclos de produção têm se mostrado uma alternativa eficaz de evitar picos de compostos de nitrogênio, visto que a comunidade bacteriana leva várias semanas para se estabilizar no BFT, devido à complexidade das interações que ocorrem no sistema. Conhecido comumente como sistema maduro, utiliza da comunidade microbiana já estabelecida para inocular o novo tanque (KRUMMENAUER et al., 2014). Porém cuidados são necessários na observação da comunidade microbiana e do acúmulo de compostos no sistema, que podem ser fatores limitantes para o reaproveitamento de água,

pois más condições podem induzir surtos de doenças e perdas de produção (FURTADO et al., 2015; XU et al., 2016).

1.3 ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS E FISIOLOGIA DO CAMARÃO MARINHO

O *L. vannamei* é uma espécie de camarão tropical com baixa tolerância ao frio (PENG et al., 2016; PONCE-PALAFOX; MARTINEZ-PALACIOS; ROSS, 1997), apresenta melhor crescimento na faixa de temperatura entre 28 e 32 °C, em todas as fases de cultivo (WAN WYK & SCARPA, 1999), onde a ocorrência de baixas temperaturas pode prejudicar seu crescimento e sobrevivência (PEIXOTO et al., 2003). Camarões marinhos são organismos ectotérmicos, ou seja, não controlam sua temperatura interna, sendo muito suscetíveis aos efeitos danosos de mudanças de temperatura nos ambientes de cultivo, onde temperaturas baixas provocam variadas mudanças fisiológicas em seu organismo, como perda da fluidez da membrana, perda da integridade de proteínas, mau funcionamento da respiração celular, estresse oxidativo e várias outras alterações no seu metabolismo (HAYWARD, et al., 2014; PRUITT, 1990). Pode modificar o metabolismo energético, a coordenação neuromuscular e a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados na membrana celular, que por sua vez, induz o comprometimento da permeabilidade e fluidez da membrana celular, causando desnaturação de proteínas e liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS), seguida de peroxidação lipídica e dano ao DNA. Todos esses mecanismos podem desencadear o estresse no retículo endoplasmático (ER) e a maquinaria de apoptose, resultando em sérios danos fisiológicos ao organismo. Além disso, o estresse térmico pode reduzir a osmolaridade da hemolinfa, causando sérios danos ao hepatopâncreas de *L. vannamei* e que reduz também a sua resposta imune (QIU et al., 2011; HAYWARD et al., 2014; HERMES-LIMA et al., 2015; WANG et al., 2019).

O estresse térmico pode provocar várias consequências para os organismos aquáticos, Wang et al (2020b) investigaram o impacto do resfriamento gradual da água de cultivo de 28 °C a 13 °C e a sua influência sobre a microbiota intestinal e na resposta imune de *L. vannamei*, e observaram que o estresse pelo frio diminuiu a riqueza da comunidade microbiana, alterando a abundância de diferentes níveis taxonômicos de bactérias que compõem a microbiota intestinal, e reduzindo a atividade antibacteriana do camarão e a resposta imune a patógenos. Os mesmos autores avaliaram, em outro estudo, a abundância de proteínas no intestino nas mesmas condições de temperatura e observaram que, após o resfriamento, proteínas, como C-lectina, NFκBIA e Caspase, reduziram em 34%. Essas proteínas estão relacionadas à regulação da resposta imune e no reparo tecidual do intestino do camarão, e sua redução pode afetar a forma como esses animais lidam com a flutuação térmica (WANG et al., 2020a). Em outro

trabalho, também com as mesmas condições de temperatura, Wang et al. (2019) observaram que a expressão relativa do mRNA de GRP78 (glucose responsive protein) no hepatopâncreas e nos hemócitos aumentaram significativamente após estresse agudo pelo frio, o que indicou que a resposta proteica desdobrada (UPR) estava envolvida neste processo. GRP78 é um processo regulador central da UPR e do apoptose no ER (DEJEAN, MARTINEZ-CABALLERO & KINNALLY, 2006; NAKKA, GUSAIN & RAGHUBIR, 2010). O ER é uma organela chave para secreção de proteínas, tendo um papel importante em passos que incluem o dobramento, as modificações pós-traducionais e a formação de complexos proteicos (SIMON et al., 1992). Ele apresenta mecanismos de controle de qualidade dos diferentes estágios de dobramento, que identifica proteínas mal ou não dobradas e as redireciona. Quando as proteínas são exportadas do ER sem o dobramento correto associam-se com algumas doenças humanas, além disso, pode levar a morte celular por apoptose (ELLGAARD & HELENIUS, 2003).

Em invertebrados, UPR é geralmente reconhecido como um mecanismo chave da resposta ao estresse ER (CHEN & HE, 2019). Em condições normais, os polipeptídeos corretamente dobrados têm as porções hidrofóbicas de seus aminoácidos voltadas para o interior da molécula, ao passo que os componentes hidrofílicos se voltam para o exterior. Isto possibilita solubilidade em meio aquoso e impede agregação, que de outro modo ocorreria pela interação das áreas hidrofóbicas com aquelas de outras moléculas. Se a proteína estivesse desdobrada (o que ocorre em determinadas fases de sua síntese e transporte entre organelas), agregações indevidas poderiam existir, levando à perda destes polipeptídeos (MEYER & SILVA, 1999).

A temperatura é um fator importante também durante o transporte das pós-larvas, onde a redução da temperatura é utilizada como estratégia para diminuir o consumo de oxigênio, a excreção de compostos nitrogenados e minimizar o canibalismo. Porém essa medida deve ser procedida com cuidado, recomenda-se que seja feita a redução de 1 °C a cada 15 minutos e deve ser mantida entre 20 e 24 °C (BARBIERI JR & OSTRENSKY, 2002; SAMOCHA et al, 2003). Quedas bruscas de temperatura podem levar a consequências graves para as pós-larvas. A partir de 13 °C, *L. vannamei* tem reduções significativas na alimentação e natação, e mortes foram observadas (FAN, WANG & WU, 2013; HUANG et al., 2017). Baixas temperaturas também causaram aumentos na dopamina e norepinefrina, bem como respostas oxidativas e antioxidantes significativas em *L. vannamei* (MAPANAO et al., 2018; XU et al., 2018). Também foi demonstrado que o estresse térmico ou mudanças nas condições ambientais podem contribuir para o surgimento de doenças em fazendas de carcinicultura, por aumentar a suscetibilidade dos animais, e mudanças na distribuição, prevalência e virulência de diferentes

tipos de patógenos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas (KAUTSKY et al., 2000; TENDENCIA et al., 2010).

1.4 VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA

O vírus da síndrome da mancha branca (WSSV, do inglês *White spot syndrome virus*) é um patógeno por trás doença da mancha branca em camarões e outros crustáceos (PRADEEP et al., 2008; FLEGEL, 2012; JOSEPH et al., 2015). O WSSV é altamente contagioso, capaz de causar mortalidade total de 3 a 10 dias em condições normais de cultivo (CHOU et al., 1995; PRADEEP et al., 2008; LEU et al., 2009; JOSEPH et al., 2015). Pode ser facilmente reconhecida por suas manchas brancas características na carapaça (CHOU et al., 1995; PRADEEP et al., 2012), no entanto, este sinal clínico é exibido muito depois da infecção em um ponto onde o animal está muito próximo da morte. Também são observados casos em que essas manchas brancas não se desenvolvem ou não são visíveis, o que pode dificultar o diagnóstico (RAJAN et al., 2000).

Enormes perdas econômicas na indústria de produção de camarão estão associadas com o WSSV em muitos países (LIGHTNER, 1996; ZHAO et al., 2007; LEU et al., 2009; TENDENCIA et al., 2011; VERBRUGGEN et al., 2016; OIDTMANN et al., 2018). Vários autores indicaram que as perdas econômicas anuais devido ao WSSV foram convencionalmente equiparadas a aproximadamente um décimo da produção global de camarão (STENTIFORD et al., 2012). Desde sua primeira aparição em 1991 (FAO, 2005; TENDENCIA et al., 2011) até os dias de hoje a doença não está sob controle (VERBRUGGEN et al., 2016; WU et al., 2017).

Considerando a importância de controlar o WSSV, a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), uma organização intergovernamental responsável por melhorar a saúde animal em todo o mundo, já incluiu esta doença em sua lista priorizada. Até o momento, como a maioria das outras doenças virais (MENASVETA, 2002), o WSSV não pode ser tratado, é necessário uso de um manejo adequado das instalações de criação de camarão para fim de evitar a entrada do vírus no ambiente de cultivo e conseqüentemente o seu contágio (MENASVETA, 2002; PAN et al., 2017). Nesse sentido, várias medidas de biossegurança são relatadas na literatura. Os efeitos da filtragem e desinfecção da entrada de água têm sido amplamente divulgados. Outras medidas de biossegurança que foram explorados na prevenção da introdução de WSSV incluem o uso de animais livres de patógenos específicos (SPF), a utilização de sistemas de baixa troca de água, secagem completa e desinfecção das unidades de cultivo após cada ciclo (TENDENCIA et al., 2011; WYBAN, 2015). O uso de cercas de caranguejo, de pássaros, pedilúvios e acesso limitado às instalações de camarão, são práticas

comuns na exclusão de vetores e patógenos em muitas das fazendas de camarão. Além de medidas de biossegurança, o uso de imunostimulantes e “vacinas” para melhorar a resposta entre camarões contra a infecção por WSSV também vem sendo estudada (SATO et al., 2008; SAJEEVAN et al., 2009).

Foi demonstrado que mudanças nas condições climáticas podem contribuir para o surto de doenças do camarão por meio de alterações na distribuição, prevalência e virulência de diferentes tipos de patógenos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas. Por outro lado, mudanças essas variações climáticas, como a temperatura, podem aumentar a suscetibilidade do hospedeiro a doenças (HARVELL et al., 1999; TENDENCIA et al., 2010), e a baixa temperatura atmosférica que afeta a temperatura da água é um importante fator de risco ao WSSV (TENDENCIA et al., 2010). As temperaturas mais baixas aumentam a replicação do vírus replicação e diminui a resposta imunológica do camarão (VIDAL et al., 2001; REYES et al., 2007).

De acordo com Vidal et al. (2001), o WSSV não infectou *L. vannamei* em temperaturas acima de 32 ° C, mas quando a temperatura foi reduzida para 26 ° C, a doença desenvolveu muito rápido. Estes resultados foram considerados consistentes com os de Rahman et al. (2006), onde os autores afirmaram que a temperatura mais alta (32-33 ° C) retardou a replicação de WSSV em camarões infectados. O fenômeno também foi relatado para outras espécies de peneídeos (GUAN et al., 2003; GUNA LAN et al., 2010; KAKOOLAKI et al., 2011; STALIN et al., 2012).

1.5 ALGAS PARDAS COMO ALTERNATIVA A PROBLEMAS ENCONTRADOS NA CARCINICULTURA

Diversos estudos vêm sendo realizados com a finalidade de encontrar medidas alternativas, principalmente preventivas, contra enfermidades na criação de camarões marinhos. Dessa forma, a utilização de compostos capazes de aumentar a resposta imune dos animais contra patógenos se torna uma das estratégias mais eficazes para o controle de enfermidades para criação de camarão (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008). Os imunostimulantes são obtidos através de sínteses químicas ou fontes naturais, seus compostos são derivados da constituição da parede celular de microalgas, macroalgas, bactérias e fungos (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008, p. 202). As macroalgas são constituídas de substâncias com grande potencial terapêutico, utilizado há milhares de anos para tratamento de enfermidades na China (HUANG; ZHOU; ZHANG, 2006).

As algas pardas apresentam maior potencial antioxidante quando comparadas as algas vermelhas e verdes, também apresentam compostos não observados em plantas terrestres, podendo destacar entre eles, os polissacarídeos, compostos fenólicos, proteínas, vitaminas, terpenóides e esteróis (BALBOA et al., 2013). Gómez-Gil et al. (2000) também destacam as propriedades nutricionais e funcionais das macroalgas com potencial benéfico no desempenho zootécnico de camarões. Trabalhos utilizando entre 2% a 5% de macroalgas marinhas em dietas observaram que estas podem aumentar o crescimento significativamente de várias espécies aquáticas (HASHIM & MAT-SAAT, 1992; XU, et al., 1993), no entanto, outros autores observaram que concentrações acima de 6% podem reduzir de forma progressiva o desempenho zootécnico (NIU, et al., 2015). Adicionalmente, Niu et al. (2015), trabalhando com pós-larvas de *P. monodon* cultivados em sistema semi-intensivo, observaram que a inclusão de 1 a 6% de biomassa seca de *U. pinnatifida* na ração incrementou significativamente o crescimento dos animais.

Em geral, as algas pardas são ricas em polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos poliinsaturados, pigmentos, vitaminas, terpenóides, esteróis, proteínas e peptídeos. (BALBOA et al., 2013). Dentre os polissacarídeos presentes nessas algas, podemos destacar os fucoidanos, alginatos e laminarinas, que têm sido associados ao aumento da resposta imune e à resistência ao desafio bacteriano e viral em camarões marinhos (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008). Trabalhos realizados com a biomassa seca da macroalga *Sargassum filipendula* como aditivo alimentar para *L. vannamei*, mostraram que as concentrações de 0,5 e 2% melhoraram a resistência do camarão ao choque térmico. Por outro lado, as crescentes concentrações da biomassa seca da macroalga *Undaria pinnatifida* reduziu proporcionalmente a resistência do *L. vannamei* a esta condição de estresse (SCHLEDER et al., 2017).

Schleder et al. (2017, 2018), avaliando a adição de 0,5%, 2% e 4% de *Sargassum filipendula* (sargaço) e 0,5%, 2% e 4% de *Undaria pinnatifida* (undária) na dieta para camarão-branco-do-pacífico, observaram que a adição de 4% da biomassa seca de *U. pinnatifida* ocasionou uma melhora geral dos parâmetros hemato-imunológicos, a redução de *Vibrio* spp. no trato digestório, e a maior sobrevivência dos animais após infecção com WSSV, enquanto a adição de 0,5 e 2% de *S. filipendula* aumentou a sobrevivência dos camarões após choque térmico. Em outro estudo, os mesmos autores observaram o efeito sinérgico dessas duas algas, sendo que os tratamentos com os níveis 0,5%:2% e 0,5%:4% sargaço:undária respectivamente, apresentaram menor mortalidade após infecção com WSSV, porém a *U. pinnatifida* reduziu o efeito positivo do sargaço frente ao choque térmico (SCHLEDER et al., 2020). Os efeitos

positivos acima mencionados das algas marrons como aditivos para rações estão provavelmente relacionados aos seus compostos bioativos.

Os estudos mencionados acima destacaram os potenciais efeitos benéficos do uso de biomassa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida* como aditivo alimentar para a produção de camarão marinho. Ajustes nas concentrações dessas duas algas marinhas ainda são necessários para melhorar a resistência térmica do camarão, bem como reduzir a concentração de bactérias patogênicas do gênero *Vibrio* e a mortalidade frente ao WSSV, que são grandes preocupações para indústria. Com base nos estudos realizados é possível observar que o uso da massa seca das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* apresentam potenciais efeitos benéficos no cultivo de camarões marinhos, e que seu uso em conjunto apresenta efeito sinérgico entre elas. Ainda são necessários ajustes nas concentrações das macroalgas para que se reduza o efeito negativo da *U. pinnatifida* frente ao choque térmico, para que o uso conjunto destas possa trazer os mesmos resultados de quando são utilizadas separadamente.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo geral

Avaliar o uso combinado das algas pardas *Sargassum filipendula* e *Undaria pinnatifida* como aditivo alimentar nas fases de berçário e engorda do camarão-branco-do-pacífico em sistema de bioflocos.

1.6.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a resistência ao estresse térmico agudo (choque térmico) dos camarões alimentados com dietas suplementadas com algas em ambas as fases de cultivo;
- b) Analisar o desempenho zootécnico e a quantificação de bactérias heterotróficas totais e vibriônica das pós-larvas na fase de berçário em sistema de bioflocos;
- c) Avaliar o desempenho zootécnico, a contagem bacteriana do trato digestório e o parâmetros hemato-imunológicos dos camarões na fase de engorda em sistema de bioflocos;
- d) Verificar a resposta dos camarões da fase de engorda, alimentados com dietas suplementadas com as macroalgas frente ao desafio com WSSV em associação com flutuação térmica.

1.7 FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS

O primeiro artigo científico original está publicado na *Aquaculture Research* e o segundo será submetido no periódico *Journal of Applied Phycology*, ambos os artigos estão apresentados nas normas da ABNT.

2 ALGAS PARDAS INSERIDAS NA DIETA PARA O BERÇÁRIO DE CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO CRIADO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS MELHORAM A RESISTÊNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E DIMINUEM VIBRIONÁCEA

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso combinado da biomassa seca das algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifida* (U) como aditivo alimentar para pós-larva do camarão-branco-do-pacífico na fase de berçário cultivado em sistema de bioflocos. Foram avaliadas quatro combinações da biomassa seca das algas pardas 0,5%:2%, 0,5%:4%, 1%:2% e 1%:4% (S:U) e um controle, sem a adição das algas, em triplicata, totalizando 15 unidades experimentais. A biomassa seca das algas foi adicionada na dieta em substituição ao caulim. Os camarões foram cultivados por 6 semanas (de PL 20 até ± 1 g) em tanques de polietileno de 400L, preenchidos parcialmente com água madura de um tanque matriz de bioflocos, na densidade de 3000 PLs m⁻³ e alimentados 6 vezes ao dia. Ao final do experimento, foram avaliados os parâmetros zootécnicos, a quantificação de bactérias heterotróficas totais e vibrionácea das pós-larvas e a mortalidade após choque térmico agudo. Foi possível observar uma menor concentração de vibrionácea para os camarões alimentados com as dietas contendo 4% (U). Para o choque térmico, os camarões alimentados com a dieta contendo a combinação 1S:2U, apresentaram menor mortalidade cumulativa em relação aos camarões alimentados com as demais dietas. Os parâmetros zootécnicos não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, como também a concentração de bactérias heterotróficas totais na pós-larva. Portanto, *S. filipendula* e *U. pinnatifida* mostraram um efeito combinado sobre a resistência térmica do camarão, o que é particularmente importante para a indústria de criação de camarões, uma vez que poderia ajudá-los a lidar com o estresse ambiental, quando transferido para os tanques de engorda nas fazendas de cultivo.

Palavras-chaves: *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, Resistência ao choque térmico.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the combined use of the brown seaweeds *Sargassum filipendula* (S) and *Undaria pinnatifida* (U) dry biomass as feed additive to Pacific white shrimp reared in biofloc system during nursery phase. Four combinations of seaweeds were evaluated, 0.5%:2%, 0.5%:4%, 1%:2% and 1%:4% (S:U), and one control diet (without seaweed addition), all in triplicate, totaling 15 experimental units. The seaweed dry biomass was added to the diets in replace of kaolin. Shrimp post-larvae (PLs) were grown for 6 weeks (in PL 20 the ± 1 g) in 400L polyethylene tanks, partially filled with mature water from a biofloc matrix tank, at density of 3000 PLs m³ and were fed 6 times a day. At the end of the experiment, growth performance, quantification of total heterotrophic and vibriionacea bacteria of the PLs and thermal stress resistance were evaluated. No significant difference was observed in growth performance and total heterotrophic bacteria count in the PLs among the treatments. Vibriionacea count was significantly lower concentration in PLs fed diets containing 4% (U). For thermal stress resistance, PLs fed the diet containing 1S:2U combination showed lower cumulative mortality than the ones fed the other diets. Therefore, *S. filipendula* and *U. pinnatifida* showed a combined effect on shrimp thermal resistance, which is particularly important to the shrimp farming industry, since it could help them to cope with environmental stress once transferred to the grow-out ponds.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, thermal stress resistance.

2.1 INTRODUÇÃO

O sistema de bioflocos pode ser considerado um dos sistemas mais inovadores e sustentáveis atualmente empregados no cultivo de camarões (KUMAR et al., 2018). Este sistema é baseado no princípio da assimilação de nitrogênio inorgânico (amônia, nitrito e nitrato) pela comunidade microbiana e na formação de aglomerados, chamados de bioflocos, constituídos de microalgas, protozoários, bactérias e detritos orgânicos e inorgânicos, (DE SCHRYVER et al., 2008; AVNIMELECH, 2014).

Apesar das diversas características positivas do sistema de bioflocos, este também apresenta algumas desvantagens, como necessidade de mão de obra especializada e elevada demanda de manejo e monitoramento, uma vez que contêm grande concentração de matéria orgânica e alta densidade de estocagem. O desequilíbrio dentro de sistema pode levar consequências negativas, como a multiplicação de bactérias patogênicas. A presença de bactérias do gênero *Vibrio* já foram relatadas como causadoras de mortalidades em sistemas de bioflocos (KRUMMENAUER et al., 2014). Isso mostra que mesmo o sistema de bioflocos sendo eficiente no controle dos parâmetros de qualidade de água, não é capaz de controlar ou tratar infecções sozinho.

Todavia, este sistema tem sido aplicado com sucesso em praticamente todas as fases do cultivo de camarões marinhos: desde a larvicultura, passando pelo pré-berçário, berçário e engorda (BALOI, et al., 2013; LORENZO et al., 2015; SCHVEITZER et al., 2017; REZENDE et al., 2018). No cultivo de camarões marinhos, a fase de berçário é realizada entre a larvicultura e a engorda, com o objetivo de manter as pós-larvas em um sistema controlado até atingirem aproximadamente 1 g (COHEN et al., 2005), bem como promover uniformidade de tamanho, redução do canibalismo e melhorar o manejo de estocagem, proporcionando uma maior sobrevivência tanto na fase berçário, como na sua subsequente, a engorda (YTA et al., 2004). Berçários já são bastante utilizados na América Latina para posterior povoamento nas fazendas de produção em sistema tradicional. A incorporação da fase de berçário pode melhorar a previsibilidade da produção do sistema, pois melhora a eficiência de sistemas intensivos de produção de camarões (SAMOCHA et al., 2003; COHEN et al., 2005). Entretanto, medidas são necessários para que não ocorra incremento adicional na mortalidade das pós-larva, principalmente durante o transporte e transferência, decorrente da elevação do estresse oriundo da variação brusca de parâmetros como a temperatura (STERN & LETELLIER, 2002). Samocha (2017) cita que durante o período de transporte a temperatura deve estar acima de 23°C, mas que essa temperatura não deve ser utilizada durante o cultivo, sob o risco de estresse e mortalidades.

O *Litopenaeus vannamei* apresenta melhor crescimento na faixa de temperatura entre 28 a 32 °C, em todas fases de cultivo (W

WAN WYK & SCARPA, 1999), e a ocorrência de baixas temperaturas pode prejudicar seu crescimento e sobrevivência (PEIXOTO et al., 2003). Mudanças na temperatura, manejo inadequado da água, níveis nutricionais reduzidos levam ao estresse e à supressão imunológica em animais aquáticos (REVERTER et al., 2014).

As algas pardas apresentam uma diversidade expressiva de compostos bioativos, como polissacarídeos, compostos fenólicos, peptídeos, vitaminas, terpenóides e esteróis (BALBOA et al., 2013), que podem estar associados à resistência térmica conferida aos animais aquáticos. Trabalhos realizados com a biomassa seca da macroalga *Sargassum filipendula* como aditivo alimentar para *L. vannamei*, mostraram que as concentrações de 0,5 e 2% melhoraram a resistência do camarão ao choque térmico. Por outro lado, as crescentes concentrações da biomassa seca da macroalga *Undaria pinnatifida* reduziu proporcionalmente a resistência do *L. vannamei* a esta condição de estresse (SCHLEDER et al., 2017).

Segundo Schleder et al. (2017, 2018) ao avaliarem o uso de 0,5%, 2% e 4% de biomassa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*, separadamente, na dieta do camarão-branco-do-pacífico, observaram que a adição de 4% de *U. pinnatifida* promoveu a redução da concentração de *Vibrio* sp. no trato intestinal. Adicionalmente, o uso dessas duas algas em conjunto nas concentrações de 0,5:1%, 0,5:2% e 0,5:4% *S. filipendula*: *U. pinnatifida* respectivamente, observaram que a *U. pinnatifida* reduziu o efeito positivo do *S. filipendula* frente ao choque térmico, e que a presença da *S. filipendula* apenas evitou o efeito negativo da *U. pinnatifida* observado no trabalho anterior, mas não foi suficiente para diminuir a mortalidade pós choque térmico.

Com base nos estudos realizados é possível observar que o uso da massa seca das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* apresentam potenciais efeitos benéficos no cultivo de camarões marinhos, e que seu uso em conjunto apresenta efeito sinérgico entre elas. Ainda são necessários ajustes nas concentrações das duas algas para que se reduza o efeito negativo da *U. pinnatifida* frente ao choque térmico, e o uso conjunto destas macroalgas possa trazer os mesmos resultados de quando são utilizadas separadamente, podendo ainda serem utilizadas para reduzir a mortalidade após estresse térmico e a concentração de bactérias do gênero *Vibrio*, sendo a fase de berçário de extrema importância para o setor produtivo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso combinado das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* (0,5%:2%, 0,5%:4%, 1%:2%, 1%:4%, respectivamente) como aditivo

alimentar, no berçário do camarão-branco-do-pacífico em sistema de bioflocos sobre os parâmetros zootécnicos, resistência ao choque térmico e microbiota bacteriana.

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Biomassa seca das macroalgas

A macroalga *Sargassum filipendula* foi coletada na praia Sambaqui (autorização ICMBio n°: 47187-1) durante mês de abril de 2018, Florianópolis SC/Brasil (27°29'35.0"S 48°31'39.6"W) e transportada para a Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM/UFSC). Primeiramente, foi realizada a retirada manual de epífitas e qualquer material incrustado nas macroalgas. Em seguida, foram limpas rapidamente com água doce e secas a temperatura ambiente por 4 h. Posteriormente, colocadas em estufa e secas por 24 h a 35 °C, e então a 50 °C até estabilizar o peso, antes da pesagem a massa seca foi colocada em desumidificador para esfriar. A biomassa seca foi então moída, peneirada (600 µm) e armazenada em sacos plásticos escuros em sala refrigerada com desumidificador. A biomassa seca de *U. pinnatifida* foi cedida pela empresa Soriano SA, Argentina. Os espécimes de *Undaria pinnatifida* foram coletados na Baía Bustamante, Chubut, Argentina, secas ao sol, moídas e peneiradas a 600 µm, pela própria empresa.

2.2.2 Animais experimentais

Foram utilizados náuplios de *L. vannamei* da linhagem Speedline provenientes da empresa Aquatec Aquacultura Ltda (Rio Grande do Norte, Brasil). Os náuplios foram cultivados em larvicultura convencional, em tanques de fibra de vidro de 20 m³ (densidade de 100 larvas L⁻¹), em salinidade de 33 mg L⁻¹, até atingirem o estágio de pós-larva de 20 dias (PL 20). Posteriormente, as PLs 20 foram transferidas para as unidades experimentais para a realização do experimento.

2.2.3 Produção e composição centesimal das dietas

As dietas foram formuladas utilizando o programa Optimal Fórmula 2000® versão 19102009, baseado nas recomendações e exigências nutricionais para o camarão-branco-do-pacífico (GONG et al., 2000; NRC, 2011; ZHOU et al., 2012). Os ingredientes secos foram previamente moídos e peneirados a 600 µm. Posteriormente, os microingredientes foram homogeneizados por 10 min e adicionados aos macroingredientes, homogeneizados por mais

10 min utilizando um misturador tipo “y”. Em seguida, foram adicionados os óleos, lecitina de soja e água (200 mL kg⁻¹ da dieta). A mistura resultante foi peletizada, sob temperatura máxima de 50 °C em uma microextrusora (Inbramaq MX-40). Após peletização, a ração foi moída e peneirada para granulometria da fase de berçário (850 µm a 1800 µm). Nas dietas experimentais, a biomassa seca das algas foi adicionada em substituição ao caulim, a dieta controle apresentou os mesmos ingredientes, porém sem adição das macroalgas. A composição centesimal foi analisada de acordo com o descrito por AOAC (1999). As dietas foram produzidas no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas - LABNUTRI/UFSC (Tabela 1).

Tabela 1. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais contendo as macroalgas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria Pinnatifida* (U) nas respectivas contrações 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U, 1S:4U, e uma dieta controle, sem a adição das macroalgas para berçário de *L. vannamei*.

Ingredientes (g kg ⁻¹)	<i>S. filipendula</i> : <i>U. pinnatifida</i> (%)				
	Controle	0,5:2,0	0,5:4,0	1,0:2,0	1,0:4,0
Farinha de trigo	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Farelo de soja	350,0	350,0	350,0	350,0	350,0
Cmc	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Lecitina de soja	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Fosfato monocálcico	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Óleo de soja	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Vit c	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Premix vitamínico	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Premix mineral	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0
Sulfato de magnésio	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Caulim	80,0	55,0	35,0	50,0	30,0
Nacl	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Resíduo de salmão	51,3	51,3	51,3	51,3	51,3
Kcl	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Metionina	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Resíduo de peixe	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0
Farinha de vísceras	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0
Óleo de peixe	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
<i>S. filipendula</i>	0,0	5,0	5,0	10,0	10,0
<i>U. pinnatifida</i>	0,0	20,0	40,0	20,0	40,0
Composição centesimal (g kg ⁻¹)					
Umidade	9,04	9,78	9,04	8,86	8,65
Proteína bruta	38,44	38,55	39,36	39,46	39,59
Extrato etéreo	9,59	9,14	9,20	10,10	10,71
Fibra bruta	2,59	2,28	2,38	2,36	2,66
Energia bruta	4.110,00	4.074,00	3.992,00	4.321,00	4.274,00
Cinzas	18,09	16,70	15,90	17,40	16,35

2.2.4 Delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Brasil. Para o cultivo experimental, tanques de polietileno de 400 L foram povoados com 3000 PLs 20 ($\pm 0,006 \text{ g m}^{-3}$), durante sete semanas, até os camarões atingirem $\pm 1 \text{ g}$. Foram avaliados 4 tratamentos: 0,5%:2%, 0,5%:4%, 1%:2%, 1%:4% (0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U, 1S:4U) *S. filipendula* (S):*U. pinnatifida* (U), e um controle (sem a suplementação com algas), em triplicata, totalizando 15 unidades experimentais.

Os tanques foram preenchidos com 40% (160 L) de água proveniente de um tanque matriz de bioflocos de camarões e o restante (240 L) com água do mar com salinidade a 33 mg L^{-1} , sob aeração constante e aquecedores acoplados a termostatos, com os parâmetros iniciais: oxigênio $6,9 \text{ mg L}^{-1}$, pH 8,19, temperatura $29,0 \text{ }^\circ\text{C}$, salinidade $33,0 \text{ mg L}^{-1}$, amônia total $0,23 \text{ mg L}^{-1}$, nitrito $0,12 \text{ mg L}^{-1}$, nitrato $8,19 \text{ mg L}^{-1}$, fosfato $1,77 \text{ mg L}^{-1}$, sólidos suspensos totais (TSS) $251,7 \text{ mg L}^{-1}$ e alcalinidade $126,93 \text{ mg L}^{-1}$.

Os animais foram alimentados seis vezes ao dia, seguindo a tabela de Wan Wyk (1999). Cinquenta camarões por tanque foram pesados semanalmente para monitorar o crescimento e possíveis ajustes na alimentação.

2.2.5 Análises de qualidade de água

Ao longo do experimento, foram monitorados os parâmetros de qualidade de água. Oxigênio dissolvido e temperatura duas vezes ao dia (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA). A salinidade (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA), pH (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA), sólidos suspenso totais, alcalinidade, amônia total e nitrito foram analisados duas vezes por semana de acordo com Strickland e Parsons (1984) e APHA (1995). O nitrato (método HACH 8039, redução de cádmio) e fosfato (STRICKLAND & PARSONS, 1984 e APHA, 1995), foram analisados três vezes durante todo o experimento (início, meio e fim).

2.2.6 Controle da amônia, alcalinidade e de sólidos suspensos totais

Para controle da amônia, fontes de carbono foram adicionadas em todos tanques a uma proporção de 20 g de carboidrato por cada grama de amônia total formada, assumindo que camarão assimila cerca de 25% do nitrogênio adicionado na alimentação e 75% deste nitrogênio é transformado em amônia dissolvida na água. Quando a amônia total ultrapassou 1 mg L^{-1} , foi adicionado ao sistema carboidrato (açúcar) a uma razão de 20 g carboidrato: 1 g de amônia total

(AVNIMELECH, 1999). A adição de hidróxido de cálcio $\text{Ca}(\text{HO})_2$ foi utilizada para manter a alcalinidade acima de 150 mg L^{-1} . Os sólidos totais foram mantidos entre 400 e 600 mg L^{-1} (SCHVEITZER et al., 2013), quando este valor era ultrapassado, retirava-se o excedente através de filtragem com Needlona[®] (Fibra 100% poliéster, gramatura 250 g m^{-2} , espessura de $1,4 \text{ mm}$, densidade $0,18 \text{ g cm}^{-3}$).

2.2.7 Análise microbiológica da pós-larva

Ao final do cultivo, 5 pós-larvas de cada tratamento foram separadas para contagem de bactérias. As pós-larvas foram limpas superficialmente com álcool 70%, maceradas em um gral, homogeneizados, diluídos serialmente (1:10) em solução salina estéril 3% (SSE) e semeados em meio de cultura Agar Marine e Agar tiosulfato citrato bile sacarose - TCBS para contagem de bactérias heterotróficas totais e vibrionácea, respectivamente. Por último, foram efetuadas contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de larva, após 24 horas de incubação a $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

2.2.8 Parâmetros zootécnicos

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram avaliados:

$$\text{Sobrevivência (\%)} = \frac{\text{número de indivíduos final}}{\text{número de indivíduos inicial}} * 100 \quad (1)$$

$$\text{Produtividade (kg/m}^3\text{)} = \frac{\text{biomassa final (kg)}}{\text{volume d tanque m}^3} \quad (2)$$

$$\text{Taxa de crescimento específico (TCE \%)} = 100 * \left(\frac{\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}}{\text{dias de cultivo}} \right) \quad (3)$$

$$\text{Fator de conversão alimentar aparente (FCA)} = \frac{\text{total de ração ofertada (g)}}{\text{incremento de biomassa (g)}} \quad (4)$$

2.2.9 Choque térmico

Para o choque térmico, 90 animais de cada tratamento foram transferidos simultaneamente dos tanques com água salgada a $28,82 \pm 0,26 \text{ }^\circ\text{C}$, para aquários de 60 L contendo água salgada a $13,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (temperatura estabelecida previamente em um ensaio de temperatura letal 50) sob aeração constante, e mantidos nestas condições por 1 h. Após este período, eles foram transferidos simultaneamente de volta para os tanques com água salgada a

± 29 °C, e a sobrevivência foi monitorada por 48 horas (PONTINHA et al., 2017). Os animais não receberam nenhum tipo de alimentação durante todo o período do teste.

2.2.10 Análises estatísticas

Para os dados de sobrevivência, peso final, conversão alimentar e contagem de bactérias das pós-larvas foi aplicada análise de variância (ANOVA) unifatorial, depois de analisadas as premissas de normalidade (Shapiro–Wilk) e homocedasticidade (Levene). Os dados de contagem de bactérias das pós-larvas foram transformados para $\log_{10}(x + 1)$ e os valores percentuais para arcoseno, antes de serem submetidos à análise estatística. A ANOVA unifatorial com medidas repetidas no tempo foi aplicada aos dados de qualidade de água. Quando necessário, o teste de Tukey foi utilizado para separação de médias. Os dados de sobrevivência ao choque térmico foram analisados por Kaplan-Meier. Todos os testes utilizaram um nível de significância de 5% (ZAR, 1984).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura e o oxigênio dissolvido foram mantidos em $28,82 \pm 0,26$ e $7,11 \pm 0,13$ respectivamente, e permaneceram constante ao longo de todo o experimento. Nenhum dos parâmetros de qualidade de água apresentou diferença significativa entre os tratamentos e na interação entre os dias e os tratamentos, somente apresentaram diferença significativa ao longo dos dias de cultivo (Tabela 2). De acordo com Wan Wyk e Scarpa (1999), os parâmetros se mantiveram dentro dos padrões apropriados para a espécie e fase de cultivo, exceto o nitrito, o qual os autores citam que o ideal é mantê-lo abaixo de 1 mg L^{-1} .

Ao longo do experimento, houve um acúmulo de nitrito nos tanques de cultivo em todos os tratamentos, chegando a atingir valores de até $11,57 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 2). O nitrito é um composto intermediário do processo de nitrificação, e sua metabolização é realizada por bactérias nitrito oxidantes (BNOs) (AVNIMELECH, 2014). Desta forma, o acúmulo de nitrito ao longo do experimento pode ter sido causado pela ausência ou quantidade insuficiente de BNOs na água de cultivo, devido ao sistema de bioflocos ainda não estar completamente maduro.

Em nosso estudo, o acúmulo de nitrito no sistema não foi suficiente para comprometer o desempenho dos camarões. Segundo Samocha (2017) o ideal é manter as concentrações de nitrito inferiores a 16 mg L^{-1} na fase de berçário de *L. vannamei*, porém a toxicidade do nitrito é inversamente proporcional à salinidade e ao pH (SOWERS et al., 2007; WAN WYK e SCARPA, 1999). Onde existe um efeito antagônico entre a concentração de íons cloreto e a

absorção de nitrito na hemolinfa de organismos aquáticos, porque acredita-se que o íon nitrito concorra no mesmo local de transporte que os íons cloreto no trocador de HCO_3/Cl localizado no lado apical das células branquiais (JENSEN, 2003; TOMASSO, 2012).

Tabela 2. Variáveis físico-químicas da água nos tanques de berçário de *L. vannamei* em sistema de bioflocos, alimentados com dietas contendo as macroalgas *Sargassum filipendula* e *Undaria Pinnatifita* nas respectivas contrações 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U, 1S:4U, e uma dieta controle, sem a adição das macroalgas.

Tratamentos	Amônia N-NH _{3,4} (mg L ⁻¹)	Nitrito N-NO ₂ (mg L ⁻¹)	Nitrato N- NO ₃ (mgL ⁻¹)	SST (mg L ⁻¹)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	pH	Salinidade (g L ⁻¹)	Ortoforfato (mg P-PO ₄ ³⁻ L ⁻¹)
Controle	0,12±0,01 (0,00 – 0,43)	4,83±0,16 (0,11 – 11,57)	22,58±6,20 (5,50 – 5 3,40)	427,13±15,76 (223,00 – 720,00)	153,421±2,91 (128,00 – 180,00)	8,23±0,01 (8,16 – 8,36)	33,87±0,23 (32,20 – 34,90)	1,91±0,04 (1,74 – 2,10)
0,5S:2U	0,14±0,02 (0,00 – 0,61)	4,50±0,04 (0,11 – 10,17)	14,61±4,42 (7,60 – 48,90)	435,83±17,62 (235,00 – 672,00)	155,31±5,25 (128,00 – 196,00)	8,24±0,02 (8,15 – 8,39)	33,82±0,12 (32,20 – 34,70)	1,72±0,22 (1,18 – 1,95)
0,5S:4U	0,12±0,01 (0,00 – 0,88)	4,81±0,27 (0,13 – 8,67)	21,30±3,18 (7,80 – 41,90)	434,71±19,55 (207,00 – 680,00)	152,79±3,93 (116 – 184,00)	8,24±0,02 (8,02 – 8,43)	33,89±0,22 (32,10 – 34,90)	1,53±0,08 (1,15 – 1,86)
1S:2U	0,15±0,01 (0,00 – 0,70)	4,79±1,12 (0,13 – 9,38)	20,67±4,13 (7,40 – 41,50)	435,12±18,23 (225,00 – 678,00)	151,52±4,75 (128,00 – 192,00)	8,23±0,01 (78,11 – 8,43)	33,90±0,13 (32,10 – 34,70)	1,55±0,18 (1,16 – 1,96)
1S:4U	0,12±0,01 (0,00 – 0,41)	4,78±0,97 (0,12 – 9,32)	20,58±4,11 (7,10 – 43,9 0)	442,62±6,21 (229,00 – 638,00)	151,90±1,00 (124,00 – 184,00)	8,23±0,01 (7,99 – 8,35)	33,83±0,16 (32,20 – 34,70)	1,62±0,11 (1,42 – 1,77)
p – T	0,9376	0,8620	0,9458	0,9376	0,9376	0,9776	0,9376	0,9458
p – D	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
p – D x T	0,9894	0,9987	0,8683	0,9894	0,9893	0,9894	0,9894	0,8683

Dados médios ± desvio padrão (máximo e mínimo), n = 3. ANOVA com medidas repetidas, T (tratamentos), D (dias), T x D (interação tratamento x dias).

Os parâmetros zootécnicos não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Porém, trabalhos anteriores demonstram que a suplementação com macroalgas apresenta variações, a depender da espécie, forma de manipulação e principalmente, nível de inclusão ou substituição utilizados (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008; SILVA E BARBOSA, 2009; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2014; PALLAORO et al., 2016; YU et al., 2016), como também a concentração de seus compostos podem variar de acordo com a época do ano em que forem utilizadas (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008). Trabalhos utilizando entre 2% a 5% de

macroalgas marinhas em dietas observaram que estas podem aumentar o crescimento significativamente de várias espécies aquáticas (HASHIM & MAT-SAAT, 1992; XU, et al., 1993), no entanto, outros autores observaram que concentrações acima de 6% podem reduzir de forma progressiva o desempenho zootécnico (NIU, et al., 2015). Adicionalmente, Niu et al. (2015), trabalhando com pós-larvas de *P. monodon* cultivados em sistema semi-intensivo, observaram que a inclusão de 1 a 6% de biomassa seca de *U. pinnatifida* na ração incrementou significativamente o crescimento dos animais. Todavia, foi possível observar em nosso trabalho que os camarões de todos os tratamentos apresentaram bom desempenho zootécnico (Tabela 3), corroborando com Schleder et al. (2018a), que relataram que a adição de 0,5, 2 e 4% da biomassa seca das macroalgas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* separadamente na ração para *L. vannamei*, não afetou seu desempenho zootécnico. Sendo assim, as proporções dos extratos algais utilizadas não exercerão efeito sinérgico sob a performance zootécnica.

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos no berçário de *L. vannamei* em sistema de bioflocos, alimentadas com as macroalgas *S. filipendula* (S) e *U. Pinnatifita* (U) nas respectivas concentrações = 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U, 1S:4U e um controle, sem a adição das macroalgas.

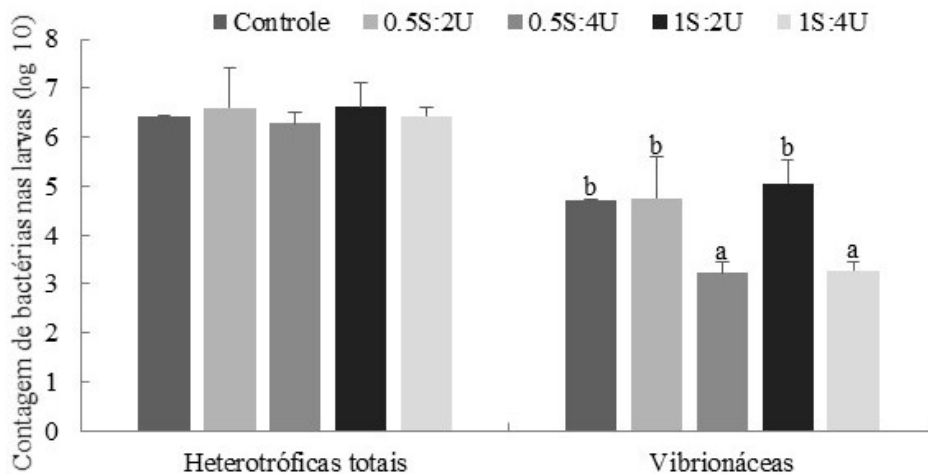
Tratamentos	Sobrevivência	Peso Final	Produtividade	TCE	FCA
	(%)	(g)	(Kg m⁻³)	(% dia)	
Controle	80,60±2,84	1,12±0,16	2,72±0,42	2,28±0,32	1,11±0,18
0,5S:2U	81,40±2,29	1,22±0,09	2,98±0,29	2,48±0,18	1,00±0,10
0,5S:4U	87,90±8,87	1,10±0,11	2,90±0,29	2,24±0,22	1,02±0,10
1S:2U	87,80±7,09	1,18±0,11	3,11±0,28	2,40±0,22	1,00±0,09
1S:4U	91,00±5,66	1,09±0,03	2,98±0,15	2,22±0,05	1,01±0,05
Valor – p	0,2497	0,5577	0,6075	0,5577	0,7484

TCE = taxa de crescimento específico; FCA = fator de conversão alimentar aparente. Dados médios ± desvio padrão, n = 3. ANOVA unifatorial.

A concentração de bactérias totais nas larvas não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, já para a concentração de vibriónácea foi inferior nos tratamentos contendo 4% de *U. pinatifita*, diferindo significativamente dos demais tratamentos na concentração de 1S:4U (Figura 1). Corroborando com Schleder et al. (2017), que avaliando o uso de 0,5%, 2% e 4% de *S. filipendula* e 0,5%, 2% e 4% de *U. pinnatifida*, observou que a inserção de 4% de biomassa seca de *U. pinnatifida* para camarão-branco-do-pacífico, apresentou uma melhor mudança geral dos parâmetros hemato-imunológicos e menor concentração de *Vibrio sp.* A camarão do controle e demais tratamentos apresentaram concentração de *Vibrio sp.* semelhantes.

De 2010 a 2018, 35 estudos relataram 61 espécies de algas pardas, onde a *U. pinnatifida* destaca-se entre as algas pardas na produção de compostos bioativos com função antimicrobiana (MEENA et al., 2015). A *U. pinnatifida* é rica em fucoïdana, e estudos utilizando a fucoïdana extraída dessa alga aumentou a resposta imunológica em pós-larvas *Penaeus monodon* (TRAI FALGAR et al., 2009) e juvenis *Marsupenaeus japonicus* (TRAI FALGAR et al., 2010, 2012). Outros autores citam que a propriedade antibacteriana de algumas das algas marinhas é devida à presença de ácidos graxos como (tetradecanóico, hexadecanóico e 9-octadecenóico) (RICE-EVANS et al., 1997; WEI et al., 2003; KANG et al., 2004; YUAN et al., 2005) e que esses compostos de ácidos graxos exibem atividade antimicrobiana potente contra diferentes espécies de bactérias e fungos (NAGAYAMA et al., 2002; KUBO et al., 1992; ALAM et al., 1994. Para Milledge et al. 2016 e Thanigaivel et al. 2016, a atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos está mais relacionado com os terpenoides, compostos fenólicos livres, fucanas, e alguns tipos de ácidos graxos e esteróis que estão presentes nas algas pardas.

Figura 1. Contagem de bactérias em pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas com dietas contendo 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U e 1S:4U de *Sargassum filipendula* e *Undária pinatifida* (S:U) e dieta controle sem suplementação.



As barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Letras diferentes indicam o teste de Tukey (P < 0,05).

Os camarões alimentados com ração contendo 1S:2U apresentaram mortalidade significativamente menor (P < 0,0001) após o choque térmico. Os demais tratamentos, juntamente com o controle apresentaram mortalidade semelhante, entre eles, não sendo observadas diferenças significativas.

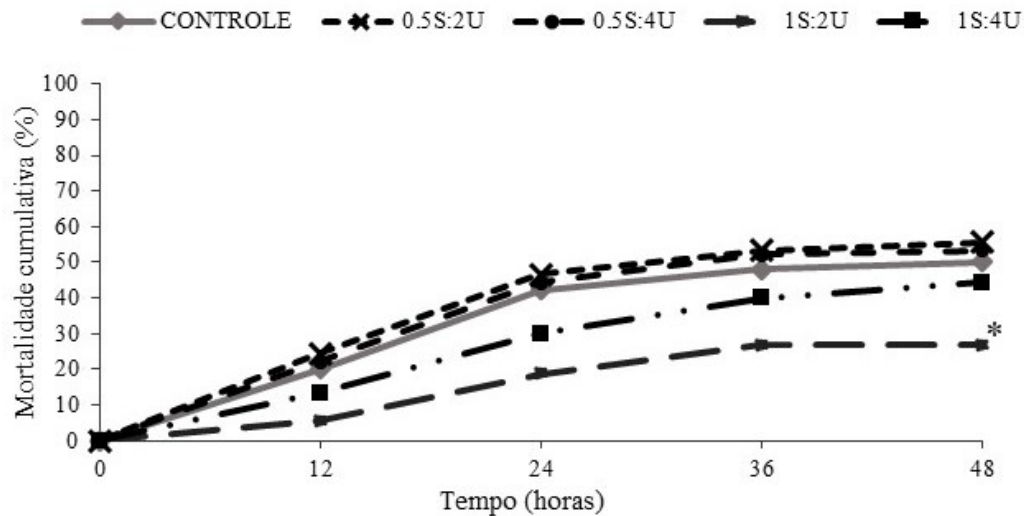
O aumento da concentração de *U. pinnatifida* reduziu a sobrevivência após o choque térmico, semelhante ao encontrado por Schleder et al. (2017), no qual os camarões alimentados

com dietas contendo crescentes níveis (0,5%, 2% e 4%) de *U. pinnatifita* apresentaram crescentes taxas de mortalidade após o choque térmico. Além disso, Schleder et al 2018b avaliaram o efeito sinérgico dessas duas algas, nas concentrações 0,5%:1%, 0,5%:2% e 0,5%:4% *S. filipendula*: *U. pinnatifita*, e observaram que todos os tratamentos e o grupo controle apresentaram alta mortalidade, não apresentando diferença significativa entre eles. Os autores concluíram, portanto, que a *U. pinnatifita* reduziu o efeito positivo do *S. filipendula* frente ao choque térmico, e que sua presença apenas evitou o efeito negativo da *U. pinnatifita* observado no trabalho anterior, mas não foi suficiente para diminuir a mortalidade pós choque térmico.

Kandasamy et al., (2014) também observou um aumento na sobrevivência de *C. elegans* alimentados com um produto comercial derivado da alga parda *Ascophyllum nodosum*, após estresse térmico. Os autores afirmam que parte dessa sobrevivência é devido a uma atividade de eliminação direta de espécies reativas de oxigênio, como também a alteração dos principais genes e proteínas relacionados ao estresse. O excesso da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), ocorrem devido a defeitos nos complexos de transporte de elétrons ou outros distúrbios da mitocôndria e está associado a uma variedade de patologias e envelhecimento (SHIVERS et al., 2008).

O estresse térmico pode modificar o metabolismo energético e a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados da membrana celular, prejudicando a sua permeabilidade, fluidez, reduzir a osmolaridade da hemolinfa e a coordenação neuro-muscular, causar a desnaturação de proteínas, imunodepressão e a liberação de espécies reativas de oxigênio, o que resulta na peroxidação lipídica e em danos ao DNA, ocasionando a morte do animal (PRUITT, 1990; QIU et al., 2011; HAYWARD et al., 2014; HERMESLIMA et al., 2015). Como também a condição de hipóxia e re-oxigenação exigida pelo choque térmico, onde existe uma expressiva redução do metabolismo durante o ciclo do frio (13,5°) e a retomada de sua atividade normal quando transferidos novamente a água a 29° C. Este processo geralmente ocasiona a produção de EROs no organismo, promovendo peroxidação de lipídios, dano oxidativo, e inviabilidade celular (HERMES-LIMA et al., 2015). O frio também causa imunodepressão e aumenta sua vulnerabilidade aos organismos patogênicos (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2000; KAUTSKY et al., 2000; WANG e CHEN, 2006). A redução da capacidade imunológica do camarão causa danos à atividade, pois uma série de enfermidades de origens virais e bacterianas afetam as fazendas de camarão em todo o mundo (LIGHTNER, 2011; THITAMADEE et al., 2016).

Figura 2. Mortalidade cumulativa de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas com dietas contendo 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:2U e 1S:4U de *Sargassum filipendula* e *Undaria pinatifida* (S:U) e dieta controle sem suplementação. Durante 48 horas pós choque térmico.



Houve diferença significativa ($P > 0,0001$) na mortalidade entre 1S:2U (*) e todos os outros tratamentos. Não houve diferença significativa ($P < 0,4141$) entre 0,5S:2U, 0,5S:4U, 1S:4U e o controle.

O *L. vannamei* é uma espécie de camarão tropical com baixa tolerância ao frio (PENG et al., 2016; PONCE-PALAFIX; MARTINEZ-PALACIOS; ROSS, 1997) e ainda existem poucos estudos relacionados aos efeitos da baixa temperatura no metabolismo, e a maior parte deles é realizada em temperaturas acima de 20° C (XINGQIANG et al., 2010). Vale ressaltar que a temperatura tem influência direta no metabolismo dos crustáceos, produzindo um efeito significativo no crescimento e na sobrevivência dos camarões peneídeos (PARADO-ESTEPA, 1998). Onde as algas também podem influenciar na composição da membrana celular, quando camarões são submetidos ao estresse ambiental. Quando inseridas na ração, a alga *Sargassum filipendula* pode aumentar sinais de fosfatidilcolinas, além de peptídeos antimicrobianos, e diminuir os sinais lisofosfatidilcolinas de camarões *L. vannamei* submetidos ao estresse térmico. Esta influência resulta num aumento da fluidez das membranas celulares e da defesa microbiana, e conseqüentemente, menores taxas de mortalidade (SCHLEDER et al., 2018a). Estes mesmos autores afirmam que a redução das lisofosfatidilcolinas nos hemócitos de camarões alimentados com *S. filipendula* poderia estar relacionado com a formação de fosfatidilcolinas da membrana e /ou com a mitigação dos seus efeitos negativos no funcionamento celular, como a indução de estresse oxidativo e apoptose. O incremento da fluidez da membrana pelo aumento do grau de insaturação é um mecanismo comum em diferentes organismos resistentes à variação térmica, como insetos que passam o inverno em diapausa, crustáceos, micro-organismos e plantas resistentes ao frio (CÓRCOLES-SÁEZ et al., 2016; TAKAHASHI et al., 2016).

Em nosso trabalho foi possível observar que o aumento do nível de adição de *S. filipendula* para 1% foi capaz de evitar o efeito negativo da adição de até 2% de *U. pinnatifida* sobre a resistência dos camarões ao choque térmico. Semelhante ao encontrado por Schleder et al., 2017, a *S. filipendula* na concentração de 1% pode aumentar a resistência do camarão a variação de temperatura, mesmo quando realizada em fase e sistema de cultivo diferentes, porém essa concentração (1S:2U) não foi suficiente para reduzir significativamente e de forma conjunta a concentração de vibrionácea nas larvas. Somente as concentrações com 4% de *Undaria pinnatifida* foram capazes de inibir vibrionácea nas larvas.

Os resultados encontrados apresentam relevância para o setor produtivo, onde a mortalidade por estresse térmico para fase de berçário de camarão marinho, que ocorre principalmente no período de transporte pode ser reduzida, através da inserção de 1% da biomassa seca de *S. filipendula*. Isto é particularmente importante para a carcinicultura, uma vez que pode ajudar os camarões a lidar com o estresse ambiental, quando transferido para os tanques de engorda nas fazendas de cultivo. Porém, ainda são necessários estudos para adequação das concentrações ideais dessas macroalgas, para que juntas possam atuar na redução de vibrionácea e da mortalidade após o estresse térmico.

2.4 CONCLUSÃO

Foi possível observar a ação combinada das macroalgas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* com potencial benéfico para a fase de berçário de camarão branco do pacífico em sistema de bioflocos. A adição de 1S:2U das respectivas algas na dieta aumentou a sobrevivência dos camarões após estresse térmico e de 0,5S:4U e 1S:4U foram capazes de reduzir a concentração de vibrionácea.

REFERÊNCIAS

- ALAM, K.; AGUA, T.; MAVEN, H.; TAIE, R.; RAO, K.S.; BURROWS, I.; RALI, T. Preliminary screening of seaweeds, seagrass and lemongrass oil from Papua New Guinea for antimicrobial and antifungal activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 32, n. 4, p. 396-399, 1994.
- American Public Health Association (APHA). **Standard methods for examination of water and waste water**, 21st ed. APHA. Washington. DC. 541p, 2005.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16th edn. OMA, Arlington, 1999.

AVNIMELECH, Y. **Biofloc Technology**. A Practical Guide book, 3rded. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 258p, 2014.

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

BALBOA, E. M. et al. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1764-1785, 2013.

BALOI, M.; ARANTES, R.; SCHVEITZER, R.; MAGNOTTI, C.; VINATEA, L. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. **Aquacultural Engineering**, v. 52, p. 39-44, 2013.

COHEN, J. M.; SAMOCHA, T. M.; FOX, J. M.; GANDY, R. L. AND LAWRENCE, A. L. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. **Aquacultural Engineering**, v. 32, p. 425-442, 2005.

CÓRCOLES-SÁEZ, I.; HERNÁNDEZ, M.L.; MARTÍNEZ-RIVAS, J.M.; PRIETO, J.A.; RANDEZ-GIL, F. Characterization of the *S. cerevisiae* in51 mutant links phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate levels with lipid content, membrane fluidity and cold growth. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1861, p. 213-226, 2016.

CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. **Avances en Nutrición Acuícola IX, IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola**. Monterrey, UANL, p. 304-330, 2008.

DE SCHRYVER, P. R.; CRAB, T.; DEFROIDT; BOON, V. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, p. 125-137, 2008.

GOMEZ-JIMENEZ, S.; UGLOW, R.F.; GOLLAS-GALVAN, T. The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. **Fish Shellfish Immunol**, v. 10, p. 631-635, 2000.

GONG, H.; LAWRENCE, A.L.; JIANG, D.H.; CASTILLE, F.L.; GATLIN, D.M. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture**. v. 190, p. 305–324, 2000.

HASHIM, R.; MAT-SAAT, A. The utilizations of seaweed meal as binding agents in pelleted feeds for snakehead (*Channa striatus*) fry and their effects on growth. **Aquaculture**, v. 108, p. 299–308, 1992.

HAYWARD, S. A. L.; MANSO, B.; COSSINS, A. R. Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 6-15, 2014.

HERMES-LIMA, M., MOREIRA, D.C., RIVERA-INGRAHAM, G.A., GIRAUBILLOU, M., GENARO-MATTOS, T.C., CAMPOS, E.G. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: revisiting the proposal two decades later. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 89, p. 1122-1143, 2015.

JENSEN, F.B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals – a review. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 135, p. 9 -24, 2003.

KANDASAMY, S.; KHAN, W.; EVANS, F.D.; CRITCHLEY, A.T.; ZHANG, J.; FITTON, J.H.; STRINGER, D.N.; GARDINER, V.A.; PRITHIVIRA, J.B. A fucose containing polymer-rich fraction from the brown alga *Ascophyllum nodosum* mediates life span increase and thermal-tolerance in *Caenorhabditis elegans*, by differential effects on gene and protein expression. **Food & Function**, v. 5, p. 375-284, 2014.

KANG, H.S.; CHUNG, H.Y.; KIM, J.Y.; SON, B.W.; JUNG, H.A.; CHOI, J.S. Inhibitory phloro tannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation. **Archives of Pharmacal Research.**, v. 27, n. 194-198, 2004.

KAUTSKY, N.; RÖNNBÄCK, P.; TEDENGREN, M.; TROELL, M. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, v. 191, p. 145-161, 2000.

KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L.H.; ROMANO, L.A.; LARA, G.R.; ENCARNANÇA, P.; WASIELESKY JR, W. The Effect of Probiotics in a *Litopenaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 26, p. 370-379, 2014.

KUBO, I.; HIMEJIMA, M.; TSUJIMOTO, K.; MUROI, H.; ICHIKAWA, N. Antibacterial activity of crinitol and its potentiation. **Journal of Natural Products**, v. 55, p. 780-785, 1992.

KUMAR, V. S.; PANDEY, P. K.; ANAND, T.; BHUVANESWARI, G. R.; DHINAKARAN, A.; KUMAR, S. 2018. Biofloc improves water, effluente quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. **Journal of Environmental Management**, v. 215, p. 206-215, 2018.

LIGHTNER, D.V. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): a review. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 106, n. 1, p. 110-130, 2011.

LORENZO, M. A.; SCHVEITZER, R.; ESPÍRITO SANTO, C. M.; CANDIA, E. W. S.; MOURIÑO, J. L.P.; LEGARDA, E. C.; SEIFFERT, W. Q.; VIEIRA, F. N. Intensive hatchery performance and the Pacific white shrimp in biofloc system. **Aquacultural Engineering**, v. 67, p. 53-58, 2015.

MEENA, V.D.; DOTANIYA, M. L.; SAHA, J. K.; PATRA, A. K. Antibiotics and antibiotic resistant bacteria in wastewater: impact on environment, soil microbial activity and human health. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, p. 965–978, 2015.

MILLEDGE, J.J.; NIELSEN, B.V.; BAILEY, D. High-value products from macroalgae: the potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 15, p. 67–88, 2016.

NAGAYAMA, K.; IWAMURA, Y.; SHIBATA, T.; HIRAYAMA, I.; NAKAMURA, T. Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 50, p. 889-893, 2002.

NIU J. et al. Effects of different levels of dietary wakame (*Undaria pinnatifida*) on growth, immunity and intestinal structure of juvenile *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 435, p.78-85, 2015.

NRC, National Research Council. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academic Press, Washington, 2011.

PALLAORO, M.F.; VIEIRA, F.N.; HAYASHI, L. *Ulva lactuca* (Chlorophyta Ulvales) as co-feed for Pacific white shrimp. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, p. 3659-3665, 2016.

PARADO-ESTEPA, F.D. Survival of *Penaeus monodon* postlarvae and juveniles at different salinity and temperature levels. **The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, v. 50, n. 4, p. 174–183, 1998.

PEIXOTO, S., WASIELESKY, W.J., LOUZADA, L. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme Southern Brazil. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 14, p. 101-112, 2003.

PENG, J. et al. Identification of cold responsive genes in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by suppression subtractive hybridization. **Gene**, v. 575, p. 667-674, 2016.

PONCE-PALAFOX, J.; MARTINEZ-PALACIOS, C. A.; ROSS, L. G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture**, v. 157, p. 107- 115, 1997.

PONTINHA, V. de A.; VIEIRA, F. N.; HAYASHI, L. Mortality of pacific white shrimp submitted to hypothermic and hyposalinic stress. **Boletim do instituto de pesca**, v. 44, n. 2, p. 1-7, 2017.

PRUITT, N.L. Adaptations to temperature in the cellular membranes of crustacea: membrane structure and metabolism. **Journal of Thermal Biology**, v. 15, p. 1-8, 1990.

QIU, J.; WANG, W.N.; WANG, L.J.; LIU, Y.F.; WANG, A.L. Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 154, p. 36-41, 2011.

REVERTER, M.; BONTEMPS, N.; LECCHINI, D.; BANAIGS, B.; SASAL, P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture**, n. 433, p. 50-61, 2014.

REZENDE, C. P.; SCHLEDER, D. D.; SILVA, V. H.; HENRIQUES, M. F.; LORENZO, A. M.; SEIFFERT, W. Q.; ANDREATTA, E. R.; VIEIRA, N. F. Prenursery of the Pacific white shrimp in a biofloc system using different artificial substrates. **Aquacultural Engineering**, v. 82, p. 25-30, 2018.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 152-159, 1997.

- RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, H.; ORDUÑA-ROJAS, J.; VILLALOBOS-MEDINA, J.P.; GARCÍA-ULLOA, M.; POLANCO-TORRES, A.; LÓPEZ-ÁLVAREZ, E.S.; MONTOYAMEJÍA, M.; HERNÁNDEZ-LLAMAS, A. Partial inclusion of *Ulva lactuca* and *Gracilaria parvispora* meal in balanced diets for white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 2453-2459, 2014.
- SAMOCHA, T.M.; PRANGNELL, D. I.; HANSON, T. R.; TREECE, G. R.; MORRIS, T. C.; CASTRO, L. F.; STARESINIC, N. **Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*** – The Texas A&M AgriLife Research Experience. Pag. 144. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 2017.
- SAMOCHA, T.M.; GANDY, R.L.; MCMAHON, D.Z.; MOGOLLÓN, M.; SMILEY, R.; BLACHER, T.S.; DE WIND, A.; FIGUERAS, E.; VELASCO, M. **The role of shrimp nursery systems to improve production efficiency of shrimp farms.** In Responsible Aquaculture for a Secure Future: Proceedings of a Special Session on Shrimp Farming pp 179-195 Ed DE Jory. World Aquaculture 2003. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 2003.
- SCHLEDER, D.D.; PERUCH, L.G.B.; POLI, M.; FERREIRA, T.H.; SILVA, C.P.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L.; VIEIRA, F.N. Effect of brown seaweeds on Pacific white shrimp growth performance, gut morphology, digestive enzymes activity and resistance to white spot virus. **Aquaculture**, v. 495, p. 359-365, 2018(a).
- SCHLEDER, D.D.; BLANK, M.; VIEIRA, F.N.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L. New insights about lipid modulation on Pacific white shrimp fed different combinations of brown seaweeds and their involvement in white spot disease resistance. In: **International Conference & Exposition of World Aquaculture Society - AQUA 2018**, 2018, Montpellier. Aqua 2018, 2018(b).
- SCHLEDER, D.D.; ROSA, J.R.; GUIMARÃES, A.M.; RAMLOV, F.; MARASCHIN, M.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N.; HAYASHI, L.; ANDREATTA, E.R. Brown seaweeds as feed additive for white-leg shrimp: effects on thermal stress resistance, midgut microbiology, and immunology. **Journal of Applied Phycology**, 2017.
- SCHVEITZER, R.; LORENZO, M. A.; VIEIRA, F. N.; PEREIRA, S. A.; MOURIÑO, J. L. P.; SEIFFERT, W. Q.; ANDREATTA, E. R. Nursery of yung *Litopenaeus vannamei* post-larvae reared in biofloc- and microalgae-based system. **Aquacultural Engineering**, v. 78, p. 140-145, 2017.
- SHIVERS, R.P.; YOUNGMAN, M.J.; KIM, D. H. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, p. 251–256, 2008.
- SILVA, R.L.; BARBOSA, J.M. Seaweed meal as a protein source for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, p. 193-197, 2009.
- SOWER, A.; YOUNH, S.Y.; ISELY, J.J.; BROWDY, C.L.; TOMASSO JR., J.R. Nitrite Toxicity to *Litopenaeus vannamei* in Water Containing Low Concentrations of Sea Salt or Mixed Salts. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 35, p. 445-451, 2007.

STERN, S.; LETTELIER, E. **Nursery systems and management in shrimp farming in Latin America**. Pages 106-109. *In*: Wyban editors. Proceeding of the Special session of shrimp farming. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 2002.

STRICKLAND, J.D.; PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis** (Bulletin 167), 2nd edn, Unipub, Ottawa, 1984.

TAKAHASHI, D.; IMAI, H.; KAWAMURA, Y.; UEMURA, M. Lipid profiles of detergent resistant fractions of the plasma membrane in oat and rye in association with cold acclimation and freezing tolerance. **Cryobiology**, v. 72, p. 123-134, 2016.

THANIGAIVEL, S. et al. Seaweeds as an alternative therapeutic source for aquatic disease management. **Aquaculture**, v, 464, p. 529-536, 2016.

THITAMADEE, S. et al. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. **Aquaculture**, v. 452, p. 69-87, 2016.

TOMASSO, J.R. Environmental nitrite and aquaculture: a perspective. **Aquaculture International**, n. 20, p. 1107-1116, 2012.

TRAILFAGAR, R.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; SERRANO, A.Jr.; CORRE, V. Fucoidan Supplementation Improves Metamorphic Survival and Enhances Vibriosis Resistance of *Penaeus japonicus* Larvae. **Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 3, p. 33-336, 2012.

TRAILFAGAR, R.; KIRA, H.; TUNG, T.H.; MICHAEL, F.; LAINING, A.; YOKOYAMA, S.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S.; SERRANO, A.Jr.; CORRE, V. Influence of Dietary Fucoidan Supplementation on Growth and Immunological Response of Juvenile *Marsupenaeus japonicus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, p. 235-244, 2010.

TRAILFAGAR, R.; SERRANO, A.Jr.; CORRE, V.; KIRA, H.; TUNG, T.H.; MICHAEL, F.; KADER, M.A.; LAINING, A.; YOKOYAMA, S.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Evaluation of dietary fucoidan supplementation effects on growth performance and vibriosis resistance of *Penaeus monodon* postlarvae. **Aquaculture Science**, v.75, 2009.

WAN WYK, P. AND SCARPA, **Journal Water quality requirements and management**. p.141-162. *In*: Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Wan Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K. L.; Mountain, J. and Scarpa, J., eds. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, FL, USA, 1999.

WANG, F.I.; CHEN, J.C. The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp *damsela* under temperature stress. **Aquaculture**, v. 258, p. 34-41, 2006.

WEI, Y.; HU, Y.; XU, Z. Inhibition of mouse liver lipid peroxidation by high molecular weight phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, p. 507-511, 2003.

XINGQIANG, W.; SUDHA, K.; CAO, M.; MA, S. Effects of low salinity and low temperature on survival, growth, and energy budget of juvenile *Exopalaemon carinicauda*. **Journal of Shellfish Research**, v. 29, n. 4, p. 1035-1041, 2010.

XU, B.T.; YAMASAKI, S.; HIRATA, H. Supplementary *Ulva* sp. var. meal level in diet of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquatic Sciences**, v. 41, p. 461–468, 1993.

YTA, G. A.; ROUSE, D. B.; DAVIS, D. A. Influence of nursery period on the growth and survival of *Litopenaeus vannamei* under pond production conditions. **Journal World Aquaculture Society**, v. 35, n. 3, p. 357–365, 2004.

YU, Y.Y.; CHEN, W.D.; LIU, Y.J.; NIU, J.; CHEN, M.; TIAN, L.X. Effect of different dietary levels of *Gracilaria lemaneiformis* dry power on growth performance, hematological parameters and intestinal structure of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 450, p. 356-362, 2016.

YUAN, Y.V.; BONE, D.E.; CARRINGTON, M.F. Antioxidant activity of dulce (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. **Food Chem**, v. 91, p. 485-494, 2005.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. Prentice-Hall. Universidade de Michigan, 2, 718 p, 1984.

ZHOU, Q.; ZENG, W.P.; WANG, H.L.; WANG, T.; WANG, Y.L.; XIE, F.J. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. v.364-365, p.252-258, 2012.

3 ALGAS PARDAS COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA CAMARÃO-BRANCO-PACÍFICO CULTIVADO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS MELHORA A RESISTÊNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E AO VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso combinado da biomassa seca das algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifida* (U) como aditivo alimentar na engorda do camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos, bem como seu efeito sobre o desempenho zootécnico, contagem bacteriana do trato digestório, parâmetros hemato-imunológicos, resistência ao estresse térmico agudo (choque térmico) e à infecção com vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) em associação com flutuação térmica. Foram avaliadas duas dietas contendo combinações da biomassa seca das algas pardas 1%:2% e 1%:4% (S:U) e uma controle, sem a adição das algas, em quadruplicata, totalizando 12 unidades experimentais. Os camarões foram cultivados por cinco semanas (de $3,8 \pm 0,04$ g até $10,9 \pm 0,06$ g) em tanques de polietileno de 400 L, na densidade de 300 camarões m^{-3} , e alimentados quatro vezes ao dia. Os tanques experimentais foram preenchidos inicialmente com 40% de água proveniente de um tanque matriz de bioflocos maduro, para promover o rápido estabelecimento da comunidade microbiana da água. Ao final do experimento, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos quanto ao desempenho zootécnico e à contagem total de bactérias heterotróficas no intestino dos camarões. No entanto, a contagem de vibrionáceas foi significativamente menor no intestino dos camarões alimentados com as dietas experimentais em relação à controle. Quanto aos parâmetros hemato-imunológicos, apenas os animais alimentados com a dieta 1S:4U apresentaram um incremento significativo em relação aos do grupo controle, exceto na contagem total de hemócitos. Para o choque térmico, os animais foram transferidos dos tanques experimentais, contendo água à 28 °C, para tanques com água a 12,5 °C; após 1 h, foram transferidos novamente para os tanques experimentais a 28 °C. A mortalidade cumulativa foi registrada por 48 h, sendo que os animais que receberam a dieta 1S:2U apresentaram menor mortalidade (27%) em comparação aos submetidos aos demais tratamentos (controle: 50%; 1S:4U 48%). O desafio com WSSV + flutuação térmica teve duração de cinco dias, sendo os dias 1, 4 e 5 realizados com a água a 28 °C e os dias 2 e 3, com água a 18 °C. Animais alimentados com as dietas suplementadas com algas (1S:2U e 1S:4U) apresentaram menor mortalidade cumulativa (26% e 34%, respectivamente) que os alimentados com a dieta controle (68%). Portanto, o uso combinado de *S. filipendula* e *U. pinnatifida* na dieta causou efeitos fisiológicos benéficos para *L. vannamei*, sem prejudicar seu desempenho zootécnico, revelando enorme potencial para utilização em regiões subtropicais com incidência da doença da Mancha Branca.

Palavras-chaves: *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, Choque térmico, WSSV.

ABSTRACT

Objective of this study was to evaluate the combined use dry biomass of the brown seaweeds *Sargassum filipendula* (S) and *Undaria pinnatifida* (U) as a food additive in the fattening pacific white shrimp grown in a biofloc system, and its effect on the growth performance, bacterial count of the gut, haemato-immunological parameters, resistance to acute thermal stress (thermal shock) and infection with the White Spot Syndrome virus (WSSV) in association with thermal fluctuation. Two diets containing combinations of dry biomass brown seaweed 1%: 2% and 1%: 4% (S: U) and a control, without the addition seaweed, were evaluated in quadruplicate,

totaling 12 experimental units. The shrimp were grown for five weeks (from $3.8 \pm 0.04\text{g}$ to $10.9 \pm 0.06\text{g}$) in 400L polyethylene tanks, at a density $300 \text{ shrimp m}^{-3}$, and fed 4 times a day. The experimental tanks were initially filled with 40% water from a mature biofloc matrix tank, to promote the rapid establishment water microbial community. At the end the experiment, there was no significant difference between treatments regarding growth performance and the total count of heterotrophic bacteria in the shrimp gut. However, the vibriaceae count was significantly lower in the gut shrimps fed the experimental diets compared to the control. Hemato-immunological parameters, only animals fed 1S: 4U diet showed a significant increase in relation to those of the control group, except in the total hemocyte count. Thermal shock, the animals were transferred from experimental tanks, containing water at 28°C , to tanks with water at 12.5°C , after 1 h, they were transferred again to the experimental tanks (28°C). Cumulative mortality was recorded for 48 hours, and 1S: 2U treatment showed lower mortality (27%) compared to the other treatments (control: 50%; 1S: 4U 48%). The challenge with WSSV + thermal fluctuation lasted for five days, with days 1, 4 and 5 performed with water at 28°C , and days 2 and 3 with water at 18°C . The treatments with addition of seaweeds (1S: 2U and 1S: 4U) showed lower cumulative mortality (26% and 34%, respectively) than the control (68%). Therefore, the combined use *S. filipendula* and *U. pinnatifida* in the diet caused beneficial physiological effects for *L. vannamei*, without impairing its growth performance, revealing enormous potential for use in subtropical regions with the incidence White Spot disease.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*. Thermal shock, WSSV.

3.1 INTRODUÇÃO

O processo de intensificação dos sistemas de produção de camarões marinhos, ao longo das últimas décadas, levou a um incremento expressivo da produtividade das fazendas de cultivo. No entanto, com o aumento das densidades de estocagem e da entrada de ração nos sistemas produtivos houve um incremento da descarga de nitrogênio e outros potenciais poluentes nos ambientes aquáticos, além de aumentar o potencial de disseminação de enfermidades (BOYD, 2003; PIEDRAHITA, 2003).

A tecnologia de bioflocos (BFT, do inglês *Biofloc Technology*) surge como alternativa, na busca de sistemas produtivos que reduzam os riscos decorrentes dessa intensificação, uma vez que se baseia na reciclagem dos nutrientes e na baixa renovação de água (EMERENCIANO et al., 2013; BOSSIER & EKASARI, 2017). A reutilização da água do cultivo em múltiplos ciclos de produção têm se mostrado uma alternativa eficaz para evitar a ocorrência de excessos de compostos nitrogenados, uma vez que a comunidade bacteriana leva várias semanas para se estabilizar no BFT, devido à complexidade das interações que ocorrem no sistema. Conhecido comumente como sistema maduro, utiliza da comunidade microbiana já estabelecida para inocular um novo tanque (KRUMMENAUER et al., 2014). Ferreira et al. (2021), analisando três fases do sistema de bioflocos (heterotrófico, quimioautotrófico e maduro), observou que os sistemas BFT, quando nas fases quimioautotrófico e maduro, foram adequados para o cultivo

de camarões marinhos. Porém, cuidados são necessários como o acompanhamento da comunidade microbiana e de acúmulo de compostos no sistema, que podem ser fatores limitantes para o reaproveitamento da água, induzindo a surtos de enfermidades e perdas na produção (FURTADO et al., 2015; XU et al., 2016).

Outra problemática importante para a carcinicultura é a condição climática. Já foi demonstrado que mudanças climáticas podem contribuir para o surto de doenças nas fazendas de cultivo de camarão, por meio 1) do aumento da susceptibilidade dos animais, e 2) de alterações na distribuição, prevalência e virulência de diferentes patógenos tais como bactérias, vírus, fungos e parasitas (KAUTSKY et al., 2000; TENDENCIA et al., 2010). Dentre as principais doenças que causam impacto na carcinicultura, destaca-se a Síndrome da Mancha Branca (WSD), a qual tem gerado enormes perdas econômicas em muitos países (MOSS et al., 2012; VERBRUGGEN et al., 2016; WU et al., 2017; OIDTMANN et al., 2018), sendo que estas perdas anuais equivalem aproximadamente a um décimo da produção global de camarão (STENTIFORD et al., 2012).

Como acontece com a maioria das doenças virais, ainda não há tratamento efetivo disponível para tratar WSD (PAN et al., 2017). O que existe são estudos que buscam reforçar o sistema imunológico do camarão, para melhorar sua resposta frente à doença, dentre os quais destaca-se o uso de prebióticos, probióticos e aditivos alimentares (SATO et al., 2008; SAJEEVAN et al., 2009). Dentre estes, a suplementação dietética com algas pardas, em níveis na dieta inferiores a 10%, tem sido relacionada com o aumento da sobrevivência em camarões frente a doenças (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008).

A composição química das algas pardas pode variar de acordo com as espécies, temporada, idade, localização geográfica e fatores ambientais; no entanto, em geral, essas algas são ricas em polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídeos, pigmentos, vitaminas, terpenóides e esteróis (BALBOA et al., 2013). Dentre os polissacarídeos presentes nessas algas, as fucoidanas, alginatos e laminarinas são relatadas em diversos estudos como capaz de aumentar a resistência imunológica e melhorar a sobrevivência, quando o camarão é desafiado por algumas bactérias ou vírus (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008). Além disso, os compostos bioativos presentes nestas algas podem conferir resistência térmica aos animais aquáticos, conforme observado por Schleder et al. (2017, 2018), avaliando a adição de 0,5%, 2% e 4% de *Sargassum filipendula* (sargaço) e 0,5%, 2% e 4% de *Undaria pinnatifida* (undária) na dieta do camarão-branco-do-pacífico. Estes autores observaram que a adição de 4% da biomassa seca de *U. pinnatifida* ocasionou uma melhora geral dos parâmetros hematoimunológicos, a redução de *Vibrio* spp. no trato digestório, além da maior sobrevivência após

infecção com o vírus da mancha branca (WSSV, do inglês *White Spot Syndrome Virus*). Já a adição de 0,5 e 2% de *S. filipendula* aumentou a sobrevivência dos camarões após choque térmico. Em outro estudo, os mesmos autores observaram o efeito sinérgico dessas duas algas, sendo que as dietas com os níveis 0,5%:2% e 0,5%:4% sargaço:undária, respectivamente, apresentaram menor mortalidade após infecção com WSSV; porém, a undária reduziu o efeito positivo do sargaço frente ao choque térmico (SCHLEDER et al., 2020).

Por fim, Rezende et al. (2021), avaliando o uso dessas mesmas algas pardas nas concentrações de 0,5%:2% 0,5%:4%, 1%:2% e 1%:4% (sargaço:undária, respectivamente) na fase de berçário do camarão-branco-do-pacífico cultivados em sistema de bioflocos, observou que a combinação 1%:2% promoveu menor mortalidade cumulativa frente ao choque término e a combinação de 1%:4% promoveu menor concentração de vibrionáceas nas pós-larvas.

Com base no exposto acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso combinado das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* (S:U), nas concentrações de 1%:2% e 1%:4% (1S2U e 1S:4U), como aditivo alimentar, na engorda do camarão-branco-do-pacífico em sistema de bioflocos, bem como seus efeitos sobre os parâmetros zootécnicos, microbiota bacteriana, resistência ao estresse térmico agudo (choque térmico) e ao desafio com WSSV, conjuntamente com estresse térmico moderado.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Biomassa seca das algas pardas

A alga parda *Sargassum filipendula* foi coletada durante o mês de abril de 2019 na praia Sambaqui (autorização ICMBio n°: 47187-1), em Florianópolis SC, Brasil (27°29'35.0"S 48°31'39.6"W), sendo transportada para a Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM/UFSC). Primeiramente, foi realizada a retirada manual de epífitas e qualquer material incrustado nas algas. Em seguida, foram limpas rapidamente com água doce e secas a temperatura ambiente por 4 h. Posteriormente, foram colocadas em estufa, deixadas por 24 h a 35 °C, sendo então aumentada a temperatura para 50 °C, onde as algas foram mantidas até estabilização do peso, indicando a remoção da água tecidual. Antes de cada pesagem, a massa seca era colocada em desumidificador até atingir a temperatura ambiente. Por fim, a biomassa seca era então moída, peneirada (600 µm) e armazenada em sacos plásticos escuros em sala refrigerada, equipada com desumidificador. A biomassa seca de *Undaria pinnatifida* foi cedida pela empresa Soriano SA, Argentina. Os espécimes de *U. pinnatifida* foram coletados na Baía Bustamante, Chubut, Argentina, secas ao sol, moídas e peneiradas a 600 µm, pela própria empresa.

3.2.2 Animais experimentais

Foram utilizados camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* da linhagem Speedline AQUA, provenientes da empresa Aquatec Aquacultura Ltda (Rio Grande do Norte, Brasil), sendo os mesmos cultivados em sistema de bioflocos até atingirem 3,8 g.

3.2.3 Produção e composição centesimal das dietas

As dietas foram formuladas utilizando o programa Optimal Fórmula 2000[®] versão 19102009, baseado nas recomendações e exigências nutricionais para o camarão-branco-do-pacífico (GONG et al., 2000; NRC, 2011; ZHOU et al., 2012). Os ingredientes secos foram previamente moídos e peneirados a 600 µm. Os microingredientes foram homogeneizados por 10 min e adicionados aos macroingredientes, sendo a mistura homogeneizada por mais 10 min, utilizando-se um misturador tipo “y”. Em seguida, foram adicionados os óleos, a lecitina de soja e água (200 mL kg⁻¹ da dieta). A mistura resultante foi extrusada, sob temperatura máxima de 50 °C, em uma microextrusora (Inbramaq MX-40). Nas dietas experimentais, a biomassa seca das algas foi adicionada em substituição ao caulim, a dieta controle continha os mesmos ingredientes, porém sem adição das algas pardas. A composição centesimal foi analisada de acordo com AOAC (1999). As dietas foram produzidas no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas - LABNUTRI/UFSC (Tabela 4).

Tabela 4. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais suplementadas ou não com algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifita* (U) em diferentes níveis de adição conjunta (%), 1S:2U, 1S:4U, para berçário de *L. vannamei*.

Ingredientes, g kg ⁻¹	Dietas		
	Controle	1S:2U	1S:4U
Farelo de soja	324,63	324,63	324,63
Farinha de trigo	150,00	150,00	150,00
Resíduo de peixe	150,00	150,00	150,00
Farinha de vísceras de aves	125,67	125,67	125,67
Caulim ^a	100,00	70,00	50,00
Fosfato monocálcico	25,00	25,00	25,00
Lecitina de soja	25,00	25,00	25,00
Óleo de peixe	20,00	20,00	20,00
Premix mineral ^c	17,00	17,00	17,00
Sulfato de magnésio	15,00	15,00	15,00
NaCl	12,00	12,00	12,00
Óleo de soja	10,00	10,00	10,00
KCl	10,00	10,00	10,00
Carboximetilcelulose	5,00	5,00	5,00
Metionina	5,00	5,00	5,00
Premix vitamínico ^c	5,00	5,00	5,00
Vitamina C ^c	0,70	0,70	0,70
<i>S. filipendula</i>	0,0	10,0	10,0
<i>U. pinnatifida</i> ^b	0,0	20,0	40,0
Composição, g kg ⁻¹ na matéria seca			
Umidade	9,04	9,56	9,79
Proteína bruta	39,60	38,60	39,07
Extrato etéreo	8,71	8,46	8,69
Fibra bruta	1,87	1,76	1,51
Cinzas	17,65	18,14	17,54

^a Distribuídos por Rhoster (Araçoiaba da Serra, São Paulo, Brasil).

^b Produzido por Soriano SA, Argentina.

^c In Vivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (São Paulo, SP, Brasil). Níveis de garantia por kg de produto: vit. A - 900 mg kg⁻¹; vit. D₃ - 25 mg kg⁻¹; vit. E - 46.900 mg kg⁻¹; vit. K₃ - 1.400 mg kg⁻¹; cobalamina (B₁₂) - 50 mg kg⁻¹; piridoxina (B₆) - 33.000 mg kg⁻¹; riboflavina - 20.000 mg kg⁻¹; ácido nicotínico - 70.000 mg kg⁻¹; ácido pantotênico - 40.000 mg kg⁻¹; biotina - 750 mg kg⁻¹; ácido fólico - 3.000 mg kg⁻¹; cobre - 2.330 mg kg⁻¹; zinco - 10.000 mg kg⁻¹; manganês - 6.500 mg kg⁻¹; selênio - 125 mg kg⁻¹; iodo - 1.000 mg kg⁻¹; cobalto - 50 mg kg⁻¹; magnésio - 20 g kg⁻¹; potássio - 6,1 g kg⁻¹.

^c L-ácido ascórbico-2-monofosfato 35%. DSM Produtos Nutricionais Brasil (São Paulo, SP, Brasil).

3.2.4 Delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Brasil. Para o cultivo experimental, tanques de polietileno de 400 L foram povoados com 300 camarões ($3,8 \pm 0,04$ g) m⁻³, sendo o cultivo realizado durante cinco semanas. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram mantidos em $28,24 \pm 0,19$ e $6,24 \pm 0,22$, respectivamente, permanecendo constante ao longo de todo o experimento. Foram avaliadas dietas contendo uma combinação de dois níveis de inclusão das algas pardas *S. filipendula* (S):*U. pinnatifita* (U) de forma conjunta 1%:2% e

1%:4% (denominados 1S:2U, 1S:4U), além de uma dieta sem a adição das algas (controle), todos em quadruplicata, totalizando 12 unidades experimentais.

Os tanques foram preenchidos com 40% (160 L) de água proveniente de um tanque matriz de bioflocos de camarões e o restante (240 L) com água do mar com salinidade a 33 mg L⁻¹. Os tanques estavam sob aeração constante e continham aquecedores acoplados a termostatos. As variáveis indicadoras da qualidade da água no início do experimento eram: oxigênio 6,2 mg L⁻¹, pH 8,11, temperatura 28,4 ° C, salinidade 33,0 mg L⁻¹, amônia total 0,41 mg L⁻¹, nitrito 0,10 mg L⁻¹, nitrato 7,5 mg L⁻¹, fosfato 1,37 mg L⁻¹, sólidos suspensos totais (TSS) 253 mg L⁻¹ e alcalinidade 130,66 mg L⁻¹.

Os animais foram alimentados quatro vezes ao dia, seguindo a tabela de Wan Wyk (1999). Foram realizadas biometrias semanais, utilizando 50 camarões por tanque, para monitorar o crescimento e implementar possíveis ajustes na alimentação.

3.2.5 Análises de qualidade de água

Ao longo do experimento, foram monitorados os parâmetros de qualidade de água. Oxigênio dissolvido e temperatura duas vezes ao dia (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA). A salinidade (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA), pH (YSI 55, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA), sólidos suspenso totais, alcalinidade, amônia total e nitrito foram analisados duas vezes por semana de acordo com Strickland e Parsons (1984) e APHA (1995). O nitrato (método HACH 8039, redução de cádmio) e fosfato (STRICKLAND & PARSONS, 1984 e APHA, 1995), foram analisados três vezes durante todo o experimento (início, meio e fim).

3.2.6 Controle da alcalinidade e de sólidos suspensos totais

A adição de hidróxido de cálcio Ca(OH)₂ foi realizada para manter a alcalinidade acima de 150 mg L⁻¹. Os sólidos totais foram mantidos entre 400 e 600 mg L⁻¹ (EBELING et al., 2006), com ajuda de sedimentadores cilíndrico-cônicos de 90 L e bomba (Sarlo-Better 650).

3.2.7 Análise da microbiologia do trato intestinal

Ao final do cultivo, foram amostrados os tratos digestórios de cinco camarões por tanque, sendo confeccionado um *pool* (três *pools* por tratamento) para contagem total de bactérias. Os tratos foram extraídos assepticamente, homogeneizados em um gral, diluídos serialmente (1/10) em solução salina estéril 3% e semeados em meio de cultura Agar Triptona de Soja (TSA) e Agar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) para contagem de bactérias

heterotróficas totais e vibrionáceas, respectivamente. Por último, foram efetuadas contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC) após 24 h de incubação a 30 °C.

3.2.8 Parâmetros zootécnicos

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram avaliados:

$$\text{Sobrevivência (\%)} = \frac{\text{número de indivíduos final}}{\text{número de indivíduos inicial}} * 100 \quad (1)$$

$$\text{Produtividade (kg/m}^3\text{)} = \frac{\text{biomassa final (kg)}}{\text{volume d tanque m}^3} \quad (2)$$

$$\text{Taxa de crescimento específico (TCE g/semana)} = \left(\frac{\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}}{\text{semanas de cultivo}} \right) \quad (3)$$

$$\text{Fator de conversão alimentar aparente (FCA)} = \frac{\text{total de ração ofertada (g)}}{\text{incremento de biomassa (g)}} \quad (4)$$

3.2.9 Análise de parâmetros hemato-imunológicos

Foram amostrados cinco camarões por tanque (três *pools* por tratamento) após o término do experimento. A hemolinfa foi coletada do sinus ventral dos camarões, utilizando seringas estéreis de 1 mL, com agulhas resfriadas a 4 °C. A partir da hemolinfa coletada, 40 µL foram fixados em solução anticoagulante Alsever modificado (MAS do inglês Modified Alsever Solution) (citrato de sódio 27 mM, EDTA 9 mM, glicose 115 mM, NaCl 336 mM, pH 7,2) contendo 4% de formaldeído, para contagem total de hemócitos. O restante foi deixado coagular em gelo por 2 h, então macerado e centrifugado a 6.000 *xg* por 10 min duas vezes para obtenção do soro, o qual foi armazenado a -20 °C para posterior realização das análises.

O número de hemócitos por mL de hemolinfa foi estimado por contagem direta em câmara de Neubauer. Para a capacidade aglutinante do soro, 50 µL de soro foi diluído seriadamente em TBS-lectina (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl₂, 5 mM MgCl₂, pH 7,4) em uma placa de 96 poços com fundo côncavo. Cada poço recebeu 50 µL de solução de eritrócitos de cachorro a 2% em TBS-lectina, e as placas foram incubadas por 2 h em câmara úmida a temperatura ambiente. O controle foi feito substituindo o soro por TBS-lectina. O título aglutinante foi definido como o recíproco da última diluição capaz de aglutinar os eritrócitos, de acordo com Maggioni et al. (2004). A atividade da enzima fenoxidase (PO) foi determinada por espectrofotometria (490 nm) por meio da formação do pigmento dopacromo

(DO 490 nm), após a oxidação do substrato L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), usando a metodologia descrita por Söderhäll e Häll (1984). Primeiro, o soro foi diluído (1:15) em TBS-PO (10 mM Tris, 336 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 10 mM MgCl₂, pH 7,6), e 50 µL desta solução foram pré-incubados em um volume igual de tripsina (Sigma, 1 mg mL⁻¹), por 15 min a 20 °C em microplacas de 96 poços (fundo chato). Após incubação, 50 µL de L-DOPA (Sigma, 3 mg mL⁻¹) foram adicionados em cada poço, e a formação do dopacromo foi monitorada após 5 e 10 min. No controle, o soro foi substituído por TBS-PO. A atividade da PO foi expressa em unidades de atividade da enzima (U) através da variação de 0,001 na absorbância min⁻¹ mg⁻¹ de proteína. A concentração de proteína na hemolinfa foi estimada pelo método de Bradford (1976), utilizando soro-albumina bovina como padrão.

3.2.10 Choque térmico

Para o choque térmico, 48 animais de cada tratamento foram transferidos simultaneamente dos tanques com água salgada a 28,2 ± 0,2 °C, para aquários de 60 L contendo água salgada a 12,5 °C (temperatura estabelecida previamente em um ensaio de temperatura letal média) sob aeração constante, sendo mantidos nestas condições por 1 h. Após este período, eles foram transferidos simultaneamente de volta para os tanques com água salgada a ± 29 °C, sendo a mortalidade foi monitorada nas próximas 48 h (PONTINHA et al., 2017). Os animais não receberam nenhum tipo de alimentação durante o período do ensaio.

3.2.11 Desafio com vírus da mancha branca (wssv) associado à flutuação térmica

Ao final do cultivo, 60 camarões por tratamento (12 por tanque) foram transferidos para o Laboratório de Bioensaios do Instituto Federal Catarinense, campus Araquari (IFCCA), sendo acondicionados em caixas de 60 L contendo água salgada (33 mg L⁻¹) a 28 °C para aclimação por 48 h. Após a aclimação, os camarões (10,9 ± 0,06 g) foram infectados oralmente *via* gavagem com aproximadamente 143 µL por animal (13 µL g⁻¹) de inóculo de WSSV, com carga viral de 3,7 x 10⁸ µL⁻¹.

Durante a infecção, foi realizada uma flutuação térmica com o intuito de simular as condições de cultivo em regiões subtropicais, onde é frequente a passagem de frentes frias em boa parte do período que compreende os ciclos de produção. A flutuação térmica teve duração de 48 h, sendo iniciada 24 h pós-infecção (h.p.i.), reduzindo-se a temperatura da água de 28 para 18 °C, ao longo de 10 h (1 °C h⁻¹). A água dos tanques foi mantida a 18 °C por 28 h, em seguida, a temperatura foi elevada novamente a 28 °C, aumentando 1 °C a cada hora (totalizando mais 10 h, sendo mantida esta temperatura por 48 h adicionais). Desta forma, o processo de

infecção teve duração total de 120 h, sendo 72 h sob a temperatura constante de 28 °C e 48 h com flutuação térmica entre 28 e 18 °C, sendo a mortalidade dos animais foi monitorada durante cada 6 horas (Figura 2).

Para produção do inóculo viral, inicialmente o material infectante, armazenado em nitrogênio líquido no Instituto Federal Catarinense, campus Araquari (IFCCA), foi reativado. Para isto, 50 µL foi inoculado em animais SPF sadios (livres de WSSV, IMNV e IHHNV). Aos primeiros sinais de doença, os animais foram sacrificados, triturados mecanicamente e homogeneizados em solução tampão (NaCl 330 mM, Tris 10 mM, pH 7,4) (1:10 p/v), sendo em seguida, centrifugados a 2000 x g por 20 min a 4 °C. O sobrenadante foi novamente centrifugado a 9000 x g por 10 min a 4 °C, filtrado (0,45 µm) e conservado em nitrogênio líquido, conforme descrito por LEHMANN et al. (2016). A presença do vírus da mancha branca no inóculo experimental foi confirmada por PCR (kit Concepto Azul®).

3.2.12 Análises estatísticas

Para os dados de sobrevivência, peso final, conversão alimentar e contagem de bactérias das pós-larvas foi aplicada análise de variância (ANOVA) unifatorial, depois de analisadas as premissas de normalidade (Shapiro–Wilk) e homocedasticidade (Levene). Os dados de contagem de bactérias das pós-larvas foram transformados para $\log_{10}^{(x+1)}$ e os valores percentuais para arcoseno, antes de serem submetidos à análise estatística. A ANOVA unifatorial, com medidas repetidas no tempo, foi aplicada aos dados de qualidade de água. Quando necessário, o teste de Tukey foi utilizado para separação de médias. Os dados de sobrevivência ao choque térmico e ao WSSV foram analisados por Kaplan-Meier. Todos os testes utilizaram um nível de significância de 5% (ZAR, 1984).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os parâmetros de qualidade de água apresentaram diferença significativa ao longo dos dias de cultivo, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhum parâmetro avaliado. Somente o nitrato e o ortofosfato apresentaram interação entre os dias e os tratamentos, demonstrando um aumento ao longo do tempo e em menor extensão no tratamento 1S:4U (Tabela 5), contudo sem importância biológica. De acordo com Wan Wyk e Scarpa (1999), os parâmetros se mantiveram dentro dos padrões apropriados para a espécie e fase de cultivo.

Tabela 5. Variáveis físico-químicas da água nos tanques de cultivo de *L. vannamei* em sistema de bioflocos, alimentados com dietas contendo as algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifita* (U) nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle, sem adição das algas pardas.

Tratamentos	Amônia N-NH _{3,4} (mg L ⁻¹)	Nitrito N-NO ₂ (mg L ⁻¹)	Nitrato N- NO ₃ (mgL ⁻¹)	SST (mg L ⁻¹)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ L ⁻¹) 1)	pH	Salinidade (g L ⁻¹)	Ortofosfato (mg P-PO ₄ ³⁻ L ⁻¹)
Controle	0,30±0,02 (0,09 – 0,59)	0,12±0,02 (0,05 – 0,40)	14,95±0,62 (8,90 – 18,30)	482,67±14,57 (252,00 – 777,00)	153,33±2,76 (124,00 – 196,00)	8,07±0,02 (7,97 – 8,21)	35,09±0,07 (34,30 – 35,90)	3,65±0,14 (1,56 – 4,73)
1S:2U	0,33±0,04 (0,11 – 0,59)	0,12±0,01 (0,06 – 0,21)	15,18±1,72 (6,10 – 19,40)	463,13±14,26 (252,00 – 733,00)	153,00±2,93 (120,00 – 196,00)	8,05±0,02 (7,92 – 8,18)	33,03±0,12 (34,10 – 35,70)	3,63±0,23 (1,28 – 4,67)
1S:4U	0,33±0,03 (0,10 – 0,61)	0,13±0,01 (0,07 – 0,24)	13,98±0,59 (7,50 – 18,10)	470,17±19,31 (256,00 – 737,00)	151,21±3,03 (120,00 – 192,00)	8,03±0,04 (7,92 – 8,21)	35,80±0,09 (34,10 – 35,90)	3,59±0,22 (1,26 – 4,52)
p – T	0,2069	0,6579	0,4064	0,3684	0,6437	0,2666	0,7200	0,9351
p – D	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
p – D x T	0,4232	0,2437	0,0119	0,2755	0,6719	0,3339	0,9020	0,0018

Dados médios ± desvio padrão (mínimo e máximo), n = 4. ANOVA com medidas repetidas, T (tratamentos), D (dias), T x D (interação tratamento x dias). p < 0,05.

Não houve diferença estatística significativa entre os parâmetros de desempenho avaliados para os camarões marinhos alimentados com as dietas contendo proporções distintas de algas pardas (Tabela 6). O mesmo foi observado por Rezende et al. (2021), utilizando diferentes concentrações de *S. filipendula* e *U. pinnatifita* de forma conjunta na dieta (0,5%:2%, 0,5%:4%, 1%:2% e 1%:4%, respectivamente), durante a fase de berçário de *L. vannamei* cultivado em sistema de bioflocos, bem como por Schleder et al. (2018), utilizando diferentes concentrações das mesmas algas de forma isolada (0,5%, 2% e 4% de cada alga por dieta), durante a fase de engorda em sistema de cultivo tradicional com a mesma espécie de camarão marinho. Cárdenas et al. (2015), avaliando a inserção de 4% e 8% de algas verdes (*Caulerpa*, *Enteromorpha* e *Ulva*) e marrons (*Macrocystis*, *Lessoniaceae* e *Lessonia*) na dieta de *L. vannamei* cultivado em sistema de recirculação (RAS), também observou que os resultados zootécnicos foram semelhantes entre os camarões alimentados com algas e os camarões alimentados com a dieta controle, sem suplementação de algas. Adicionalmente, Suárez-Garcia (2006) e Casas-Valdez et al. (2006) relataram que a inclusão de *Sargassum* sp. (2-4%) na dieta para os camarões *L. vannamei* e *Farfantepenaeus californiensis*, respectivamente, provocou um ligeiro incremento no ganho de peso, porém não significativo estatisticamente.

Por outro lado, Gutiérrez-Leyva (2006) relatou a melhora no ganho em peso do camarão *L. vannamei* quando alimentados com dietas contendo níveis crescentes de *Sargassum* sp. (1, 4, 7, 10%), sendo que o nível de inclusão de 10% propiciou a melhor taxa de crescimento. Diversos outros estudos apontam que algas marinhas podem melhorar o crescimento do camarão (GAMBOA-DELGADO et al. 2011; PORTILLO-CLARK et al. 2012; BRITO et al. 2014; MONDAL et al. 2014), Tabarsa et al. (2012), aponta que algas têm importantes componentes que são fontes de ácidos graxos, aminoácidos essenciais, minerais e vitamina C e E, os quais atuam como suplementos nutricionais para camarões.

Os compostos presentes nas algas pardas que seriam responsáveis pela melhora no crescimento ainda não foram claramente definidos. O potencial benéfico desse grupo de algas é atribuído ao seu conteúdo em nutrientes essenciais como vitaminas e minerais, além de propiciarem efeitos benéficos no organismo, como a mobilização lipídica e melhor eficiência de absorção e assimilação de nutrientes (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008). Porém, há que se considerar que a composição química das algas pode variar de acordo com a espécie, status fisiológico e condições ambientais (MABEAU e FLEURENCE 1993; WONG e CHEUNG, 2000), o que sugere que, dependendo de onde, quando e como a alga está sendo produzida ou coletada, sua composição química pode ser alterada e, conseqüentemente, seu efeito no crescimento.

Tabela 6. Parâmetros zootécnicos de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos, alimentados com dietas contendo as algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifita* (U) nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle, sem adição das algas pardas.

Tratamentos	Sobrevivência (%)	Peso Final (g)	Produtividade (kg m ⁻³)	TCE (g semana)	FCA
Controle	95,10±3,29	10,09±0,03	2,93±0,47	1,18±0,01	1,14±0,05
1S:2U	94,90±2,61	10,08±0,03	2,92±0,56	1,18±0,01	1,17±0,04
1S:4U	96,10±2,97	10,09±0,07	3,03±0,34	1,19±0,01	1,13±0,03
Valor – p	0,9543	0,5577	0,4192	0,2557	0,4873

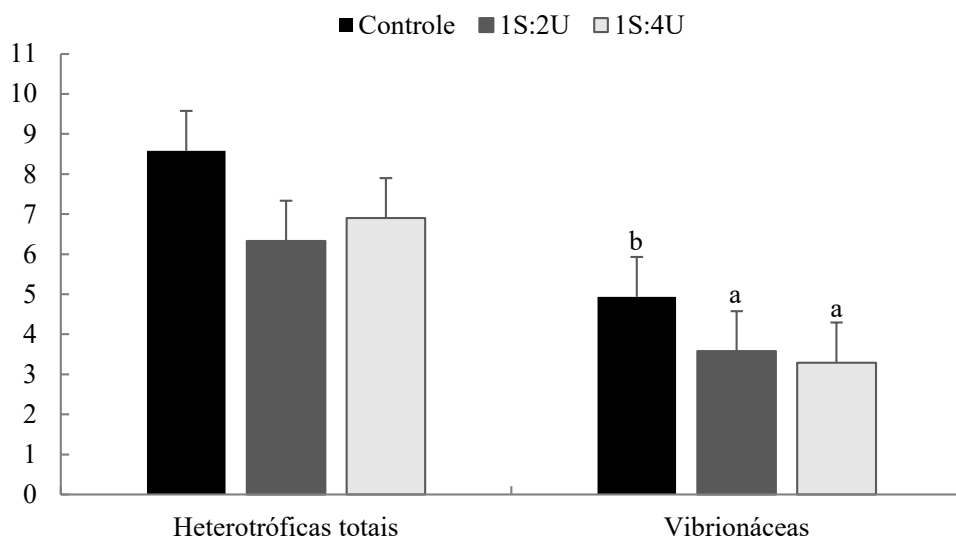
TCE = taxa de crescimento específico; FCA = fator de conversão alimentar aparente. Dados médios ± desvio padrão, n = 4. ANOVA unifatorial.

Considerando a microbiota do trato intestinal, não houve diferença significativa na contagem de bactérias heterotróficas totais entre os tratamentos. Já para as vibrionáceas, os camarões alimentados com as dietas contendo as duas combinações das algas pardas (1S:2U e 1S:4U) apresentaram redução significativa dessas bactérias em relação ao controle (Figura 3). Em outro trabalho, onde foi avaliado o uso de 0,5%, 2% e 4% de *S. filipendula* e 0,5%, 2% e 4% de *U. pinnatifida*, na dieta do camarão-branco-do-pacífico criado em sistema de cultivo

tradicional, observou-se que a inserção de 4% de biomassa seca de *U. pinnatifida* promoveu menor concentração de *Vibrio sp* no trato intestinal dos camarões, sendo que o controle e demais tratamentos apresentaram concentração de *Vibrio sp*. semelhantes (SCHLEDER et al., 2018). Rezende et al. (2021) observaram que a concentração de vibrionácea em pós-larvas de camarão-branco-do-pacífico foi inferior nos camarões alimentados com dietas contendo 1S:4U (*S. filipendula*: *U. pinnatifida*).

A atividade antimicrobiana das algas marinhas resulta da presença de polissacarídeos, esteróis, peptídeos, pigmentos, vitaminas, terpenóides, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados e proteínas (SILVA et al., 2013; BLUNT et al., 2011). Entre os polissacarídeos presentes nessas algas podemos destacar os alginatos, laminarinas e fucoidanas (CRUZ-SUÁRES et al., 2008), onde as fucoidanas vêm sendo usadas em pesquisas médicas e bioquímicas para melhorar o sistema imunológico dos camarões e reduzir a mortalidade causada por vírus (IMMANUEL et al., 2012; SIVAGNANAVELMURUGAN et al., 2012) e bactérias (KANJANA et al., 2011; SELVIN et al., 2011). Chotigeat et al. (2004) e Dechamag et al. (2006) sugerem que o modo de ação da fucoidana é através da ativação de uma proteína ativadora da fagocitose, conhecida por iniciar e aumentar a atividade fagocítica dos hemócitos, o que pode aumentar a resposta imune do camarão. Em nosso trabalho, essa redução na concentração de vibrionáceas pode ser devido aos compostos presentes nas algas pardas, descritos anteriormente.

Figura 3. Contagem de bactérias de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos, e alimentados com dietas contendo as algas pardas *S. filipendula* (S) e *U. pinnatifida* (U), nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle, sem adição das algas pardas.



As barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Letras diferentes indicam o teste de Tukey (P < 0,05).

Os camarões alimentados com a dieta 1S:4U apresentaram uma melhora nos parâmetros hemato-imunológicos, em relação aos demais tratamentos (Tabela 7). da mesma forma, Scheleder et al. (2018) observaram que camarões alimentados com dietas contendo 4% de biomassa seca de *U. pinnatifida* apresentaram uma melhora geral nos parâmetros hemato-imunológicos. Os crustáceos, diferentemente dos vertebrados, não possuem um sistema imunológico específico (FELIX et al., 2004). O mecanismo da fenoloxidase (sistema proPO) é um dos principais mecanismos defensivos desses animais, baseando-se na produção de intermediários tóxicos da via de síntese da melanina, os quais são utilizados para combater os microrganismos invasores (PALMER et al., 2011). Estudos *in vitro* indicam que β -1,3-glucan, laminarina, lipopolissacarídeo e peptidoglicano aumentam a atividade de PO do camarão (SÖDERHÄLL et al., 2003; HUYNH et al., 2011), sendo que a laminarina é um dos compostos descritos como presente em algas pardas (CRUZ-SUÁRES et al., 2008). Os organismos com maior atividade de PO são menos suscetíveis a infecções (NEWTON et al., 2004), como observado por Wongprasert et al. (2014), onde os camarões *Penaeus monodon*, alimentados com artêmia salina enriquecida com 200 mg L⁻¹ de galactanos sulfatados isolados da alga vermelha *Gracilaria fisheri*, apresentaram aumento na atividade da PO e conseqüentemente redução na mortalidade após a infecção por WSSV. Resultados similares foram relatados por Sivagnanavelmurugan et al. (2014) que relataram um aumento na atividade da PO e redução da mortalidade após infecção com *Vibrio parahaemolyticus* em *Penaeus monodon* alimentados com dietas contendo fucoïdanas isoladas da alga parda *Sargassum wightii*.

Em nosso estudo, além do aumento da atividade da PO, os camarões alimentados com a dieta 1S:4U também apresentaram maior título de aglutinação do soro e concentração proteica em relação aos animais alimentados com os demais tratamentos. As lectinas são proteínas de reconhecimento de padrões moleculares (PRPs) que estão presentes na hemolinfa dos invertebrados, causando aglutinação celular ao se ligar especificamente a carboidratos da superfície de diferentes células, inclusive microrganismos (BARRACCO, 2004). O reconhecimento do agente invasor desencadeia diversas atividades celulares e humorais através de diferentes vias de transdução de sinais (LI & XIANG, 2013). Desta forma, os resultados sugerem que a adição dessas duas algas pardas de forma combinada na dieta, pode melhorar a capacidade de defesa imunológica do camarão marinho.

Tabela 7. Parâmetros hemato-imunológicos de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos, alimentados com dietas contendo as algas pardas *Sargassum filipendula* (S) e *Undaria pinnatifida* (U) nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle, sem adição das algas pardas.

Tratamentos	Contagem total de hemócitos (cels mL ⁻¹)	Título de aglutinação (log ₂ x+1)	Atividade da PO (unidade min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)	Concentração proteica (mg mL ⁻¹)
Controle	18,70±4,92	9,46±0,36 ^b	6,06±0,16 ^b	211,51±0,71 ^b
1S:2U	18,60±5,00	10,11±0,19 ^b	7,25±0,94 ^b	212,47±0,32 ^{ab}
1S:4U	25,10±3,52	11,44±0,51 ^a	9,93±1,06 ^a	213,11±0,51 ^a
<i>p</i> valor	0,1443	0,0002	0,0086	0,0166

Dados médios ± desvio padrão, n = 4. ANOVA unifatorial. Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

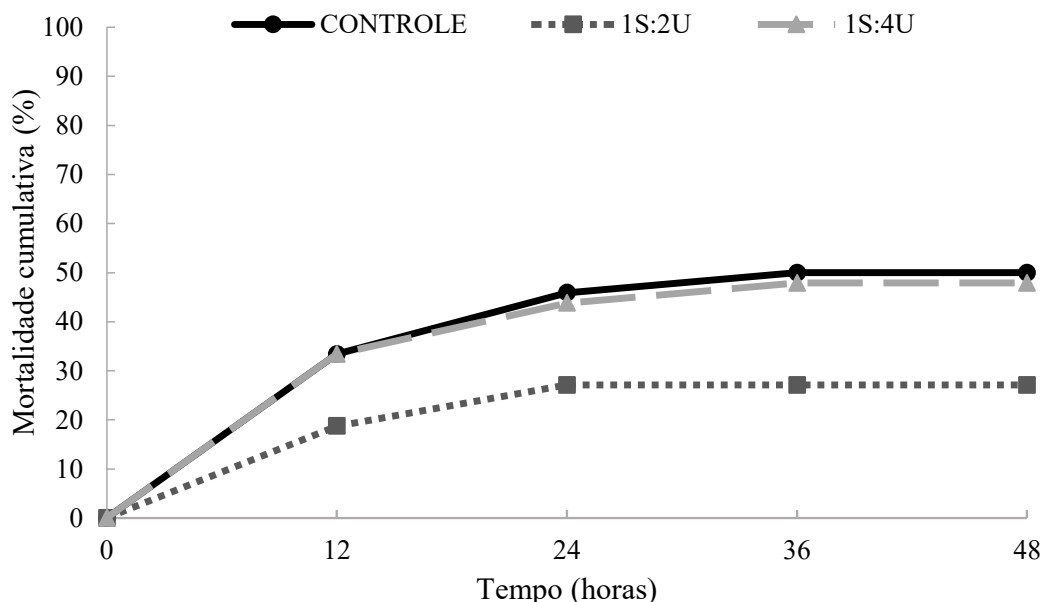
Em nosso trabalho, foi observado que os camarões alimentados com a dieta 1S:2U apresentaram mortalidade significativamente menor ($p = 0,0304$) frente ao estresse térmico (Figura 4). Os camarões alimentados com a dieta 1S:4U e com a dieta controle apresentaram resultados semelhantes, não apresentando diferença significativa entre eles ($P = 0,8927$). Corroborando com outros trabalhos (SCHLEDER et al., 2020; REZENDE et al., 2021), constatou-se que o aumento da concentração de *U. pinnatifida* na ração reduziu a sobrevivência após o choque térmico. Schleder et al. (2018), suplementando 2% de *S. filipendula* e 4% *U. pinnatifida* na dieta de forma isolada, relataram que as mortalidades foram superiores ao controle, sem suplementação de algas. Mas ao avaliarem essas duas algas de forma conjunta, observaram que a presença da apenas 0,5% de *S. filipendula* na ração foi capaz de reduzir o efeito negativo da *U. pinnatifida*, mantendo as mortalidades semelhantes ao controle (SCHLEDER et al., 2020)

Em trabalho prévio nosso com pós-larvas (REZENDE et al., 2021) e no presente trabalho foi observado que os animais alimentados com a dieta 1S:2U apresentaram mortalidade significativamente menor, sendo que a combinação dessas duas algas aumentou a resistência dos camarões tanto na fase de berçário, como na fase de engorda do camarão marinho. Kandasamy et al. (2014), expondo o verme *Caenorhabditis elegans* a frações ricas em fucose, extraídas da alga parda *Ascophylum nodosus*, observaram uma maior resistência do mesmo ao estresse térmico, isso devido à atividade direta de eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), bem como a alteração de genes e proteínas relacionados ao estresse como catalase, superóxido desmutase e chaperonas (HSPs). Estes autores ressaltam que seu resultado alterou globalmente a expressão de proteínas e vias funcionais de remodelação que levam ao aumento da sobrevivência. Wang et al (2020b) investigaram o impacto do resfriamento gradual de 28 ° C a 13 ° C na microbiota intestinal e na resposta imune de *L. vannamei*, e relataram que o estresse pelo frio diminuiu a riqueza da comunidade microbiana, alterando a abundância de

diferentes níveis taxonômicos de bactérias que compõem a microbiota intestinal, reduzindo a atividade antibacteriana do camarão e a resposta imune a patógenos. Os mesmos autores avaliaram, em outro estudo, a abundância de proteínas no intestino nas mesmas condições de temperatura e observaram que, após o resfriamento, proteínas, como C-lectina, NFκBIA e Caspase, diminuíram 34%. Essas proteínas estão relacionadas à regulação da resposta imune e ao reparo tecidual do intestino do camarão, sendo que sua redução pode afetar a forma como esses animais lidam com a flutuação térmica (WANG et al., 2020a).

O estresse térmico pode modificar o metabolismo energético e a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados da membrana celular, prejudicando a sua permeabilidade e fluidez, reduzindo a osmolaridade da hemolinfa e a coordenação neuro-muscular, causando a desnaturação de proteínas e a liberação de espécies reativas de oxigênio, o que resulta na peroxidação lipídica e em danos ao DNA, ocasionando a morte do animal (PRUITT, 1990; QIU et al., 2011; HAYWARD et al., 2014; HERMESLIMA et al., 2015). O frio também pode causar imunodepressão e, conseqüentemente, aumentar a vulnerabilidade a agentes patogênicos (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2000; KAUTSKY et al., 2000; WANG e CHEN, 2006).

Figura 3. Mortalidade cumulativa de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos, e alimentados com dietas contendo as algas pardas *S. filipendula* (S) e *U. pinnatifida* (U), nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle sem suplementação, durante 48 horas pós choque térmico.



Houve diferença significativa ($P = 0,0304$) na mortalidade entre 1S:2U (*) e todos os outros tratamentos. Não houve diferença significativa ($P = 0,8927$) 1S:4U e controle.

Ambas as dietas contendo as diferentes concentrações de algas pardas reduziram a mortalidade dos camarões frente ao desafio com WSSV associado à flutuação térmica. As

maiores mortalidades ocorreram ao longo do processo de flutuação térmica (24-72h h.p.i.), em especial no grupo controle (Figura 5). A adição de 1S:2U e 1S:4U na ração reduziu em 42% e 34%, respectivamente, a mortalidade dos camarões após 120 h de infecção com WSSV associado à flutuação térmica, quando comparados aos camarões alimentados com a dieta controle. Não diferindo significativamente entre si, somente com o controle. Resultado semelhante foi observado por Schleder et al. (2020), onde os animais dos tratamentos 0,5S:2U e 0,5S:4U apresentaram menor mortalidade cumulativa após 96 h de infecção com WSSV sem flutuação térmica. A análise de espectrometria de massa (MALDI-TOF) observou que estes tratamentos apresentaram um aumento significativo no sinal de lipídeos específicos, de proteínas relacionadas à produção de energia e de peptídeos antimicrobianos.

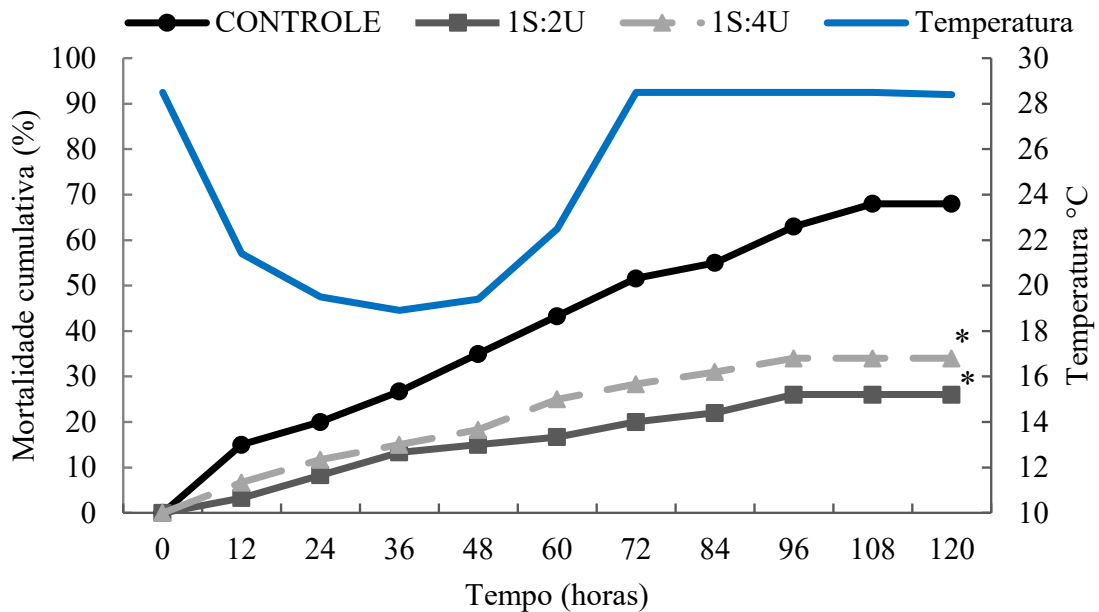
Hsieh et al. (2015) relataram que o WSSV induz à lipogênese durante o estágio tardio de infecção (24 h p.i.), com intuito de suprir a demanda de lipídios necessários para replicação e montagem dos virions. Wang et al. (2007) também relataram o incremento de proteínas relacionadas à produção de energia, citocromo c oxidase e de ATP sintase mitocondrial subunidade beta, em camarões infectados com WSSV, associando com a alta demanda de energia que o processo de infecção impõe aos animais. Os peptídeos antimicrobianos desempenham um importante papel no combate ao WSSV, sendo a sobre-expressão de algumas classes de peptídeos antimicrobianos observada em camarões com maior resistência à Mancha Branca (GARCÍA et al., 2009; WORAMONGKOLCHAI et al., 2011; MUSTHAQ & KWANG 2014).

Chen et al. (2016) observaram aumento na sobrevivência de *L.vannamei* após infecção por WSSV ao utilizar fucoidana extraída da alga parda *Fucus vesiculosus* injetada no camarão. Estes autores relacionam os resultados com a melhora dos parâmetros imunológicos como a contagem de hemócitos totais e atividade da PO. Já Chotigeat et al. (2004) observaram redução de 50,81% para 68,06% na mortalidade de *P. monodon* alimentados por 45 dias com dietas contendo fucoidana extraída da alga parda *S. polycystum* após infecção por WSSV.

Yang et al. (2009) relataram que a fucoidana de *U. pinnatifida* contém 78,8% de fucose e 41,5% de sulfatos. Porém, a composição bioquímica de fucoidana depende principalmente das espécies de algas marinhas, localização, condições de cultivo, extração e métodos analíticos. O mecanismo da fucoidana frente à inibição do vírus é através das cargas negativas do grupo sulfato do polissacarídeo que se ligam com cargas positivas de aminoácidos na alça V3 do envelope viralglicoproteína (gp 120). O *loop* V3 é essencial para a anexação do vírus ao sulfato de heparano da superfície celular, uma ligação primária, antes de mais a ligação

específica ocorre ao receptor CD4 da célula CD4p. Este processo impede a entrada do vírus na célula hospedeira (ZHU et al., 2003; WITVROUW et al., 1997).

Figura 5. Mortalidade cumulativa de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos, e alimentados com dietas contendo as algas pardas *S. filipendula* (S) e *U. pinnatifida* (U), nas respectivas concentrações (%), 1S:2U e 1S:4U, e uma dieta controle sem suplementação, durante 120 horas pós infecção com WSSV associada à flutuação térmica.



Houve diferença significativa (*) na mortalidade entre 1S:2U e o controle ($P = 0,0001$) e entre 1S:4U e o controle ($P = 0,0028$). Não houve diferença significativa entre 1S:2U e 1S:4U ($P = 0,4008$).

Diversos estudos relataram que a adição de farinha de algas marinhas ou seus extratos na alimentação de camarões causou um aumento da resposta imunológica e da resistência a infecções com vírus da mancha branca e *Vibrio* spp. (CHEN et al., 2016; HUYNPH et al., 2011; IMMANUEL et al., 2012; SCHLEDER et al., 2017).

Em nosso trabalho observamos que o uso combinado das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* na ração como aditivo alimentar, apresenta grande potencial para criação de camarões. Seus efeitos benéficos podem estar relacionados às alterações na fisiologia e no sistema imunológico, principalmente no aumento da atividade de PO, que desempenha papel importante frente a infecções. Esses resultados trazem informações importantes para indústria de produção de camarão, por melhorar a resposta imunológica frente a vibriônicas, WSSV e variação térmica. Além disso, as algas também são produtos sustentáveis, biodegradáveis e têm alta viabilidade e viabilidade de produção.

3.4 CONCLUSÃO

O uso combinado da biomassa seca das algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* na ração de camarões-brancos-do-pacífico cultivado em sistema de bioflocos, causou diversos efeitos fisiológicos benéficos, sem prejudicar o desempenho zootécnico dos animais. A dieta contendo 1S:2U das respectivas algas reduziu a contagem de *Vibrio* spp. no trato digestório, a mortalidade dos camarões após estresse térmico agudo (choque térmico) e após infecção com WSSV associada à flutuação térmica. Já a dieta 1S:4U causou um incremento dos parâmetros hemato-imunológicos, também reduzindo a contagem de *Vibrio* spp. no trato digestório e a mortalidade dos camarões após infecção com WSSV associada à flutuação térmica.

REFERÊNCIAS

- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16th edn. OMA, Arlington, 1999.
- APHA, American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. APHA Inc, Baltimore, 1995.
- BALBOA, E. M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**. v. 138, p. 1764-1785, 2013.
- BARRACCO, M.A. Mecanismos de resistência a doenças em crustáceos. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. de los A.P. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, p.49-72, 2004.
- BLUNT, J.W.; COPP, B.R.; MUNRO, M.H.G.; NORTHCOTE, P.T.; PRINSEP, M.R. Marine natural products, **Nat. Prod. Rep.** v. 28, p. 196-268, 2011.
- BOSSIER, P.; EKASARI, J. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. **Microbial Biotechnology**. v. 10, p. 1012–1016, 2017.
- BOYD C.E. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. **Aquaculture**. v. 226, p. 101–112, 2003.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Anal Biochem**. v.72, p.248–254, 1976.
- BRITO, L.; ARANTES, R.; MAGNOTTI, C.; DERNER, R.; PCHARA, F.; GALVEZ, A.; VINATEA, L. Water quality and growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in co-culture with green seaweed *Ulva lactuca* (Linnaeus) in intensive system. **Aquaculture International**. v. 22, p. 497-508, 2014.

- CÁRDENAS, J.V.; GÁLVEZ, A.O.; BRITO, L.O.; et al. Assessment of different levels of green and brown seaweed meal in experimental diets for whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone) in recirculating aquaculture system. **Aquaculture International**. v. 23, p. 1491–1504, 2015.
- CASAS-VALDEZ, M.; PORTILLO-CLARK, G.; AGUILA-RAMÍREZ, N.; RODRÍGUEZ-ASTUDILLO S.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ I.Y.; CARRILLO- DOMÍNGUEZ S. Efecto del alga marina *Sargassum spp.* sobre las variables productivas y la concentración de colesterol en el camarón café, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900). **Revista de biología marina y oceanografía**, v.41, n.1, p.97-105, 2006.
- CHEN, Y.Y.; KITIKIEW, S.; YEH, S.T.; CHEN, J.C. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that have received fucoidan exhibit a defense against *Vibrio alginolyticus* and WSSV despite their recovery of immune parameters to background levels. **Fish Shellfish Immun**, v. 59, p. 414-426, 2016.
- CHOTIGEAT, W.; TONGSUPA, S.; SUPAMATAYA, K.; PHONGDARA, A. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. **Aquaculture**. v. 233, p. 23-30, 2004.
- CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. **Avances en Nutrición Acuícola IX, IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola**. Monterrey, UANL, p. 304-330, 2008.
- DECHAMAG, P.; INTARAPHAD, U.; PHONGDARA, A.; CHOTIGEAT, W. Expression of a phagocytosis activating protein (PAP) gene in immunized black tiger shrimp. **Aquaculture**. v. 255, p. 165-172, 2006.
- 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**. v. 257, p. 346-358, 2006.
- EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. **Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry**. In: Biomass Now – Cultivation and Utilization pp 1-28, 2013.
- FELIX, S.; ROBINS, P.H.; RAJEEV, A. Immune enhancement assessment of dietary incorporated marine alga *Sargassum wightii* (Phaeophyceae/Punctariales) in tiger shrimp *Penaeus monodon* (Crustacia/Penaeidae) through prophenoloxidase (proPO) systems. **Indian Journal of Marine Sciences**, v. 33, n. 4, p. 361–364, 2004.
- FERREIRA, G.S.; SANTOS, D.; SCHMACHTL, F.; MACHADO, C.; FERNANDES, V.; BÖGNER, M.; SCHLEDER, D.D.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N. Heterotrophic, chemoautotrophic and mature approaches in biofloc system for Pacific white shrimp. **Aquaculture**. v. 533, p. 736-849, 2021.
- FURTADO, P.S.; CAMPOS, B.R.; SERRA, F.P.; KLOSTERHOFF, M.; ROMANO, L.A.; WASIELESKY JR, W. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture International**, v. 23, p. 315-327, 2015.

GAMBOA-DELGADO, J.; PEÑA-RODRÍGUEZ, A.; RICQUE-MARIE, D.; CRUZ-SUÁREZ, L.E. Assessment of nutrient allocation and metabolic turnover rate in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* co-fed live macroalgae *Ulva clathrata* and inert feed: dual stable isotope analysis. **J. Shellfish Res.** v. 30, p. 969–978, 2011.

GARCÍA-JUÁREZ, A.R.; RODRIGUEZ, D.G.; LLUCH-COTA, D. Blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) catch quotas as a management tool in the Upper Gulf of California. **Ciencias Marinas.** v. 35, p. 297-306, 2009.

GOMEZ-JIMENEZ, S.; UGLOW, R.F.; GOLLAS-GALVAN, T. The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. **Fish Shellfish Immunol.** v. 10, p. 631-635, 2000.

GONG, H.; LAWRENCE, A.L.; JIANG, D.H.; CASTILLE, F.L.; GATLIN, D.M. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture.** v. 190, p. 305–324, 2000.

GUTIÉRREZ-LEYVA, R. **Uso de harinas de *Macrocystis purifera* y *Sargassum* spp. em alimentos balanceados para el camarón *Litopenaeus vannamei*: efectos sobre el crecimiento y la digestibilidad *in vivo*.** Tesis maestría en ciencias. CICIMAR-IPN La Paz, Baja California Sur. México, 89 p.

HAYWARD, S. A. L.; MANSO, B.; COSSINS, A. R. Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 6-15, 2014.

HERMES-LIMA, M., MOREIRA, D.C., RIVERA-INGRAHAM, G.A., GIRAUBILLOU, M., GENARO-MATTOS, T.C., CAMPOS, E.G. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: revisiting the proposal two decades later. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 89, p. 1122-1143, 2015.

HSIEH, Y.C.; CHEN, Y.M.; LI, C.Y.; et al. To complete its replication cycle, a shrimp virus changes the population of long chain fatty acids during infection via the PI3K-Akt-mTOR-HIF1 α pathway. **Dev Comp Immunol.** v. 53, p. 85-95, 2015.

HUYNH, T. et al. White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. chinense powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 31, p. 286-293, 2011.

IMMANUEL, G. et al. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 32, p.551-564, 2012.

KANDASAMY, S.; KHAN, W.; EVANS, F.D.; CRITCHLEY, A.T.; ZHANG, J.; FITTON, J.H.; STRINGER, D.N.; GARDINER, V.A.; PRITHIVIRA, J.B. A fucose containing polymer-rich fraction from the brown alga *Ascophyllum nodosum* mediates life span increase and thermal-tolerance in *Caenorhabditis elegans*, by differential effects on gene and protein expression. **Food & Function**, v. 5, p. 375-284, 2014.

- KARNJANA, K.; RUDTANATIP, T.; ASUVAPONGPATANA, S.; WITHYACHUMNARNKUL, B.; WONGPRASERT, K. Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent *Vibrio harveyi* infection in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Fish & shellfish immunology**. v. 30, p. 389-396, 2011.
- KAUTSKY, N.; RÖNNBÄCK, P.; TEDENGREN, M.; TROELL, M. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, v. 191, p. 145-161, 2000.
- KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L.H.; ROMANO, L.A.; LARA, G.R.; ENCARNAÇÃO, P.; WASIELESKY JR, W. The Effect of Probiotics in a *Litopenaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 26, p. 370-379, 2014.
- LEHMANN, P.; TERESCHENKO, S.; XIE, W. Fundamental aspects of resolution and precision in vertical scanning white-light interferometry. *Surface Topography: Metrology and Properties*. v. 4, n. 2, p. 1-10, 2016.
- LI, F.; XIANG, J. Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp. **Fish Shellfish Immunol**. v. 34, p. 973-980, 2013.
- MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products:biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food Science and Technology**. v. 4, p. 103-107, 1993.
- MAGGIONI, D.G.; ANDREATTA, E.R.; HERMES, E.M.; BARRACCO, M.A. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immune stimulation. **Aquaculture**. v.241, p.501-515, 2004.
- MONDAL, A.; BANERJEE, S.; PATRA, A.; et al. Molecular and morphometric characterization of *Thelohanellus caudatus* (Myxosporea: Myxobolidae) infecting the caudal fin of *Labeo rohita* (Hamilton). **Protistology**. v. 8, p. 41-52, 2014.
- MOSS, S.M.; MOSS, D.R.; ARCE, S.M.; LIGHTNER, D.V.; LOTZ, J.M. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 247-250, 2012.
- MUSTHAQ, S.K.S.; KWANG J. Evolution of specific immunity in shrimp - a vaccination perspective against white spot syndrome virus. **Developmental & Comparative Immunology**. v. 46, p. 279-290, 2014.
- NEWTON, K.; PETERS, R.; RAFTOS, D. Phenoloxidase and QX disease resistance in Sydney rock oysters (*Saccostrea glomerata*). **Developmental & Comparative Immunology**, v. 28, n. 6, p. 565-569, 2004.
- NRC, National Research Council. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academic Press, Washington, 2011.

- OIDTMANN, B.; DIXON, P.; WAY, K.; JOINER, C.; BAYLEY, A.E. Risk of waterborne virus spread—review of survival of relevant fish and crustacean viruses in the aquatic environment and implications for control measures. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 3, p. 641-669, 2018.
- PALMER, C.V.; BYTHELL, J.C.; WILLIS, B.L. A comparative study of phenoloxidase activity in diseased and bleached colonies of the coral *Acropora millepora*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 35, p. 1098-1101, 2011.
- PAN, X.; ZHANG, Y.; SHA, X.; WANG, J.; LI, J.; DONG, P. et al. Highly sensitive detection of low-abundance white spot syndrome virus by a pre-amplification PCR method. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 471-479, 2017.
- PIEDRAHITA, R.H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v. 226, p. 35–44, 2013.
- PONTINHA, V. de A.; VIEIRA, F. N.; HAYASHI, L. Mortality of pacific white shrimp submitted to hypothermic and hyposalinic stress. **Boletim do instituto de pesca**, v. 44, n. 2, p. 1-7, 2017.
- PORTILLO-CLARK, G.; CASILLAS-HERNANDEZ, R.; SERVIN-VILLEGAS, R.; MAGALLON-BARAJAS, F.J. Growth and survival of the juvenile yellowleg shrimp *Farfantepenaeus californiensis* cohabiting with the green feather alga *Caulerpa sertularioides* at different temperatures. **Aquaculture Research**, v. 44, p. 22–30, 2012.
- PRUITT, N.L. Adaptations to temperature in the cellular membranes of crustacea: membrane structure and metabolism. **Journal of Thermal Biology**, v. 15, p. 1-8, 1990.
- QIU, J.; WANG, W.N.; WANG, L.J.; LIU, Y.F.; WANG, A.L. Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 154, p. 36-41, 2011.
- REZENDE, P.C.; SOARES, M.; GUIMARÃES, A.M.; COELHO, J.R.; SEIFFERT, W.Q.; SCHLEDER, D.D.; VIEIRA, F.D.N. Brown seaweeds added in the diet improved the response to thermal shock and reduced *Vibrio* spp. in pacific white shrimp post-larvae reared in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 52, p. 2852-2861, 2021.
- SAJEEVAN, T.P.; PHILIP, R.; SINGH, I.B. Dose/frequency: a critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**, v. 287, n. 3, p. 248-252, 2009.
- SATOH, J.; NISHIZAWA, T.; YOSHIMIZU, M. Protection against white spot syndrome virus (WSSV) infection in kuruma shrimp orally vaccinated with WSSV rVP26 and rVP28. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 82, n. 2, p. 89-96, 2008.
- SCHLEDER, D.D.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L.; VIEIRA, F.N. Impact of combinations of brown seaweeds on shrimp gut microbiota and response to thermal shock and White Spot Disease. **Aquaculture**, v. 519, 2020.

SCHLEDER, D.D.; PERUCH, L.G.B.; POLI, M.; FERREIRA, T.H.; SILVA, C.P.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L.; VIEIRA, F.N. Effect of brown seaweeds on Pacific white shrimp growth performance, gut morphology, digestive enzymes activity and resistance to white spot virus. **Aquaculture**, v. 495, p. 359-365, 2018.

SCHLEDER, D.D.; ROSA, J.R.; GUIMARÃES, A.M.; RAMLOV, F.; MARASCHIN, M.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N.; HAYASHI, L.; ANDREATTA, E.R. Brown seaweeds as feed additive for white-leg shrimp: effects on thermal stress resistance, midgut microbiology, and immunology. **Journal of Applied Phycology**, 2017.

SELVIN, J.; MANILAL, A.; SUGATHAN, S.; KIRAN, S.; LIPTON, A. Efficacy of marine green alga *Ulva fasciata* extract on the management of shrimp bacterial diseases. **Latin American Journal of Aquatic Research**. v. 39, p. 197-204, 2011.

SIVAGNANAVELMURUGAN, M.; THEADDAEUS, B.; PALAVESAM, A.; IMMANUEL, G. Dietary effect of *Sargassum wightii* fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of *Penaeus monodon* and immune resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. **Fish & shellfish immunology**. v. 39, p. 439,449, 2014.

SIVAGNANAVELMURUGAN, M.; MARUDHUPANDI, T.; PALAVESAM, A.; IMMANUEL, G. Antiviral effect of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Sargassum wightii*, on shrimp *Penaeus monodon* postlarvae against White Spot Syndrome Virus. **J World Aquacult Soc**. v. 43, p. 697-706, 2012.

SÖDERHÄLL, I.; BANYEEKHN, E.; MAYO, S.; SÖDERHÄLL, K. Hemocyte production and maturation in an invertebrate animal; proliferation and gene expression in hematopoietic stem cell of *Pacifastacus leniusculus*. **Dev Comp Immunol**. v. 22, p. 661-672, 2003.

SÖDERHÄLL, K.; HÄLL, L. Lipopolysaccharide-induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish haemocyte lysate. **Biochim. Biophys Acta**. v. 797, p. 99-104, 1984.

STENTIFORD, G.D.; NEIL, D.M.; PEELER, E.J.; SHIELDS, J.D.; SMALL, H.J.; FLEGEL, T.W. et al. Disease will limit future food supply from the global crustacean fishery and aquaculture sectors. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 141-157, 2012.

STRICKLAND, J.D.; PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis** (Bulletin 167), 2nd edn, Unipub, Ottawa, 1984.

SUÁREZ-GARCÍA, H.A. **Efecto de la inclusión de alginato y harina de algas *Sargassum sp* y *Macrocistys pyrifera* sobre la estabilidad en agua, digestibilidad del alimento y sobre el crecimiento del camarón blanco *Litopenaeus vannamei***. Undergraduate thesis. Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico, 2006.

Tabarsa

TABARSA, M.; REZAEI, M.; RAMEZANPOUR, Z.; WAALAND, J.R. Composições químicas das algas marinhas *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) e *Ulva lactuca* (Chlorophyta) como uma fonte potencial de alimento. **J Sci Food Agric**. v. 92, p. 2500-2506, 2012.

TENDENCIA, E.A; BOSMA, R.H; USERO, R.C; VERRETH, J.A. Effect of rainfall and atmospheric temperature on the prevalence of the whitespot syndrome virus in pond-cultured *Penaeus monodon*. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 594 -597, 2010.

VERBRUGGEN, B.; BICKLEY, L.K.; VAN, A.; ERLE, R.; BATEMAN, K.S.; STENTIFORD, G.D.; SANTOS, E.M.; et al. Molecular mechanisms of white spot syndrome virus infection and perspectives on treatments. **Viruses**, v. 8, p. 1-23, 2016.

WAN WYK, P. AND SCARPA, **Journal Water quality requirements and management**. p.141-162. In: Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Wan Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K. L.; Mountain, J. and Scarpa, J., eds. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, FL, USA, 1999.

WANG, R.; GUO, Z.; TANG, Y.; et al. Effects on development and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with probiotics treatment. **AMB Express**. v. 10, p. 109, 2020^a.

WANG, H.; WAN, X.; XIE, G.; DONG, X.; WANG, X.; HUANG, J. Insights into the histopathology and microbiome of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, suffering from white feces syndrome. **Aquaculture**. v. 527, p; 735-747, 2020^b.

WANG, F.I.; CHEN, J.C. The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp *damsela* under temperature stress. **Aquaculture**, v. 258, p. 34-41, 2007.

WITVROUW, M.; DECLERCQ, E. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. **Gen. Pharmacol.-Vasc. Syst.** v. 29, p. 497–511, 1997.

WONG, K.H.; CHEUNG, P.C.K. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part I.– Proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. **Food chemistry**. v. 71, p. 475-482, 2000.

Wang

WONGPRASERT, K.; RUDTANATIP, T.; PRAIBOON, J. Immunostimulatory activity of sulfated galactans isolated from the red seaweed *Gracilaria fisheri* and development of resistance against white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp. **Fish Shellfish Immunol.** v. 36, p. 52-60, 2014.

WORAMONGKOLCHAI, N.; SUPUNGUL, P.; TASSANAKAJON, A. The possible role of penaeidin5 from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, in protection against viral infection. **XU**. v. 35, n. 5, p. 530–536, 2011.

WU, H.; ZHANG, J.; HE, Y.; ZHOU, J.; YAN, J.; JIANG, M. A metabolic study in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* response to white spot syndrome virus. **International Aquatic Research**, v. 9, n. 3, p. 195-201, 2017.

XU, W.J.; MORRIS, T.C.; SAMOCHA, T.M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-90 density, zero-exchange, outdoor tank system. **Aquaculture**, v. 453, p. 169-175, 2016.

YANG, Q.; ZHOU, X.; ZHOU, Q.; TAN, B.; CHI, S.; DONG, X. Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. **Aquaculture Research**. v. 41, p. 78–86, 2009.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. Prentice-Hall. Universidade de Michigan, 2, 718 p, 1984.

ZHOU, Q.; ZENG, W.P.; WANG, H.L.; WANG, T.; WANG, Y.L.; XIE, F.J. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. v.364-365, p.252-258, 2012.

ZHU, W.; OOI, V.; CHAN, PAUL.; ANG, PUT. Isolation and characterization of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum patens* and determination of its anti-herpes activity. **Biochemistry and cell biology**. v. 81, p. 25-33, 2003.

4 CONCLUSÕES GERAIS

- As algas pardas *S. filipendula* e *U. pinnatifida* combinadas na concentração de 1S:2U apresentam potencial benéfico no cultivo de camarões marinhos em bioflocos, nas fases de berçário e engorda;
- O uso das algas pardas na alimentação dos camarões não prejudicou os parâmetros zootécnicos independente da fase cultivada;
- A concentração de 1S:2U das respectivas algas pode reduzir a mortalidade do camarão-branco-do-pacífico frente a quedas bruscas de temperatura nas fases de berçário e engorda;
- As concentrações 1S:2U e 1S:4U são capazes de reduzir a concentração de vibrionáceas no trato digestório e a mortalidade frente a infecção por WSSV associado a flutuação térmica na fase de engorda;
- A *U. pinnatifida* quando utilizada na concentração 4U, apresenta potencial para redução de vibrionáceas em pós larvas.
- A concentração de 1S:4U também causou um incremento dos parâmetros hemato-imunológicos na fase de engorda do camarão marinho.

REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO GERAL

ABRUNHOSA, F. Curso técnico em pesca e aquicultura: carcinicultura. Governo Federal–Ministério da Educação. **Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Pará–IFPA**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Pará. 2011.

ANDREATTA, R.; BELTRAME, E. Aquicultura: Experiências Brasileiras: **Cultivo de Camarões Marinhos**. Multitarefa Editora Ltda, 456 p., 2004.

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

AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology – A Practical Guide Book, 2^a Edition. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, Louisiana. United States, 2012. 283 p.

AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology. A Practical Guide book (3rd ed). **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, LA, 2014.

BALBOA, E. M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**. v. 138, p. 1764-1785, 2013.

BARBIERI, R. C. & OSTRENSKY, A. Camarões marinhos – Engorda. **Ed. Aprenda Fácil**, Viçosa – MG. 2002, p.320.

BARRACCO, M. A. A. M.; PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. Immunologia en camaronês. In: MORALES, V.; CUELLAR-ANGEL, J. (Org.). **Guía práctica de Inmunología y Patología del Camarón**. Panamá: CYTED, 2008. p. 169-224.

BOSSIER, P.; EKASARI, J. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. **Microbial Biotechnology**. v. 10, 2017.

BOYD C.E. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. **Aquaculture**. v. 226, p. 101–112, 2003.

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.

CHAMBERLAIN, G. History of shrimp farming. In: ALDAY-SANZ, V. (Ed.). **The Shrimp Book**. Nottingham: Nottingham University Press, p. 1-34, 2010.

CHEN, Y.; HE, J. Effects of environmental stress on shrimp innate immunity and white spot syndrome virus infection. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 84, p. 744-755, 2019.

CHOU, H.Y.; HUANG, C.Y.; WANG, C.H.; CHIANG, H.C.; LO, C. F. Pathogenicity of a baculovirus infection causing White Spot Syndrome in cultured Penaeid shrimp in Taiwan. **Diseases of Aquatic Organisms**. v. 23, p. 165-173, 1995.

COHEN, J. M.; SAMOCHA, T. M.; FOX, J. M.; GANDY, R. L. AND LAWRENCE, A. L. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. **Aquacultural Engineering**, v. 32, p. 425-442, 2005.

CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. **Avances en Nutrición Acuicola IX, IX Simposio Internacional de Nutrición Acuicola**. Monterrey, UANL, p. 304-330, 2008.

DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**. v. 277, p. 125–137, 2008.

DEJEAN, L.M.; CABALLERO, S.M.; MANON, S.; KINNALLY, K.W. Regulation of the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC, by BCL-2 family proteins. **Biochim Biophys Acta**. v. 1762, p. 191-201, 2006.

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**. v. 257, p. 346-358, 2006.

ELLGAARD, L.; HELENIUS, A. Quality control in the endoplasmic reticulum. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, p. 181-191, 2003.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. **Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry**. In: Biomass Now – Cultivation and Utilization pp 1-28, 2013.

FAN, L.; WANG, A.; WU, Y. Comparative proteomic identification of the hemocyte response to cold stress in white shrimp, *Litopenaeus Vannamei*. **Proteomics**. v. 27, p. 196-206, 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: Sofia, 2020.

FERREIRA, G.S.; SANTOS, D.; SCHMACHTL, F.; MACHADO, C.; FERNANDES, V.; BÖGNER, M.; SCHLEDER, D.D.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N. Heterotrophic, chemoautotrophic and mature approaches in biofloc system for Pacific white shrimp. **Aquaculture**. v. 533, p. 736-849, 2021.

FLEGEL, T.W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 110, p. 166-173, 2012.

FURTADO, P.S.; CAMPOS, B.R.; SERRA, F.P.; KLOSTERHOFF, M.; ROMANO, L.A.; WASIELESKY JR, W. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture International**, v. 23, p. 315-327, 2015.

GÓMEZ-GIL, V. The use and selection of probiotic bacteria in the larval culture of aquatic organisms. **Aquaculture**. v. 191, p. 259-270, 2000.

GUAN, Y.; YU, Z. The effect of temperature on white spot syndrome infections in *Marsupenaeus japonicus*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 83, p. 257-60, 2003.

GUNALAN, B.; SOUNDARAPANDIAN, P.; DINAKARAN, G.K. Effect of Different Stocking Densities on the MBV Infected Seeds of Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). **Asian Journal of Agricultural Sciences**. v. 5, p. 5-8, 2010.

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

HARI, B. et al. The effect of carbohydrate addiction on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. **Aquaculture**, v. 252, p. 248-263, 2006.

HARVELL, C.; KIM, K.; BURKHOLDER, J.; COLWELL, R.; et al. Emerging Marine Diseases-Climate Links and Anthropogenic Factors. **Science**. 285, 1999

HASHIM, R.; MAT-SAAT, N.A. The utilization of seaweed meals as binding agents in pelleted feeds for snakehead (*Channa striatus*) fry and their effects on growth. **Aquaculture**. v. 108, p. 299-308, 1992.

HAYWARD, S. A. L.; MANSO, B.; COSSINS, A. R. Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 6-15, 2014.

HERMES-LIMA, M., MOREIRA, D.C., RIVERA-INGRAHAM, G.A., GIRAUBILLOU, M., GENARO-MATTOS, T.C., CAMPOS, E.G. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: revisiting the proposal two decades later. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 89, p. 1122-1143, 2015.

HOROWITZ, S.; HOROWITZ, A. Microbial intervention in aquaculture. In: Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems, 2002, Baton Rouge. **Proceedings of Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems**. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, p. 119-131, 2002.

HUANG, X.; POTTER, M.; PILGRIM, B.; et al. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, v. 191, p. 145-161, 2017.

HUANG, X.; ZHOU, H.; ZHANG, H. The effect of Sargassum fusiforme polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 20, p. 750-757, 2006.

JOSEPH, S.; LEHMANN, J. Biochar for Environmental Management: Science. **Technology and Implementation** (2nd ed.). Routledge. 2015.

KAKOOLAKI, S.; SHARIFPOUR, I.; AFSHARNASAB, M.; et al. Effects of temperature on hematological and histopathological changes and survival rate of juvenile *Fenneropenaeus vannamei* experimentally challenged to White Spot Virus. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**. v. 13, p. 91-102, 2014.

KAUTSKY, N.; RÖNNBÄCK, P.; TEDENGREN, M.; TROELL, M. Ecosystem perspectives on management of disease in pond farming. **Aquaculture**. v. 191, p. 145-161, 2000.

KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L.H.; ROMANO, L.A.; LARA, G.R.; ENCARNAÇÃO, P.; WASIELESKY JR, W. The Effect of Probiotics in a *Litopenaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 26, p. 370-379, 2014.

KUMAR, V. S.; PANDEY, P. K.; ANAND, T.; BHUVANESWARI, G. R.; DHINAKARAN, A.; KUMAR, S. 2018. Biofloc improves water, effluente quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. **Journal of Environmental Management**, v. 215, p. 206-215, 2018.

LEU, J.; YANG, F.; ZHANG, X.; XU, X.; KOU, G.; LO, C. Whispovirus. **Current topics in microbiology and immunology**. v. 328, p. 197-227, 2009.

LIGHTNER, D.V. Biosecurity in shrimp farming: Pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 36, n. 3, p. 229-248, 2005.

LIGHTNER, D.V. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. **World Aquaculture Society**, Baton Rouge. LA, 1996.

LIMA, C. A. O. et al. BNDES Setorial. **A carcinicultura brasileira**. Rio de Janeiro. Março/2004. 118p.

LIMA, M. S. B. **Utilização da espectroscopia no infravermelho próximo para o controle de qualidade do camarão (*Litopenaeus Vannamei*)**. 2015. 106f. Tese de Doutorado - Universidade Federal Do Rio Grande do Norte, Natal - RN, 2015.

MAPANAO R.; CHANG C.; CHENG W.; LIU K. Silencing tyrosine hydroxylase retards depression of immunocompetence of *Litopenaeus vannamei* under hypothermal stress. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 72, p. 519–527, 2018.

MENASVETA, P. Improved Shrimp Growout Systems for Disease Prevention and Environmental Sustainability in Asia. **Reviews in Fisheries Science**. v. 10, p. 391-402, 2002.

MEYER, T.N.; SILVA, A.L. Resposta celular ao estresse. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 2, 1999.

MONTEIRO, S.R.R. **Utilização de substrato artificial em cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei*, em água oligohalina e meio heterotófrico**. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca e Aquicultura. Recife, PE. 65p, 2008.

MOSS, S.M.; MOSS, D.R.; ARCE, S.M.; LIGHTNER, D.V.; LOTZ, J.M. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 247-250, 2012.

- NAKKA, V.P.; GUSAIN, A.; RAGHUBIR, R. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after cerebral ischemia/reperfusion in rats. **Neurotox Res.** v. 17 p. 189-202, 2010.
- NIU, K.; MESSIER, J.; HE, J.; LECHOWICZ, M. The effects of grazing on foliar trait diversity and niche differentiation in Tibetan alpine meadows. **Ecosphere.** v. 6, p. 1-15, 2015.
- OIDTMANN, B.; DIXON, P.; WAY, K.; JOINER, C.; BAYLEY, A.E. Risk of waterborne virus spread—review of survival of relevant fish and crustacean viruses in the aquatic environment and implications for control measures. **Reviews in Aquaculture,** v. 10, n. 3, p. 641-669, 2018.
- OTOSHI, C.A., MOSS, N.R. Establishing Nitrifying Bacteria in Super-Intensive Biofloc Shrimp Production. **Global Aquaculture Advocate,** May-June, 2011.
- PÁES-OSUNA, F. The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective. **Environmental Pollution,** v. 112, p. 229-231, 2001.
- PAN, P.; WANG, Y.; LENG, X.; DENG, J.; WANG, C. Protective effects of cistanches herba aqueous extract on cisplatin-induced premature ovarian failure in mice. **African Journal of Traditional.** v. 14, p. 90-101, 2017.
- PEIXOTO, S., WASIELESKY, W.J., LOUZADA, L. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme Southern Brazil. **Journal of Applied Aquaculture,** v. 14, p. 101-112, 2003.
- PENG, J. et al. Identification of cold responsive genes in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by suppression subtractive hybridization. **Gene,** v. 575, p. 667-674, 2016.
- PIEDRAHITA, R.H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture.** v. 226, p. 35–44, 2013.
- PONCE-PALAFOX, J.; MARTINEZ-PALACIOS, C. A.; ROSS, L. G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture,** v. 157, p. 107- 115, 1997.
- PRADEEP, B.; RAI, P.; MOHAN, S.A.; SHEKHAR, M.S.; KARUNASAGAR, I. Biology, Host Range, Pathogenesis and Diagnosis of White spot syndrome virus. **Indian J Virol.** v. 23, p. 161-174, 2012.
- PRADEEP, B.; SHEKAR, M.; GUDKOV, N.; KARUNASAGAR, I. Genotyping of white spot syndrome virus prevalent in shrimp farms of India. **Diseases of Aaquatic Organism.** v. 78, p. 189-198, 2008.
- PRUITT, N.L. Adaptations to temperature in the cellular membranes of crustacea: membrane structure and metabolism. **Journal of Thermal Biology,** v. 15, p. 1-8, 1990.
- QIU, J.; WANG, W.N.; WANG, L.J.; LIU, Y.F.; WANG, A.L. Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C,** v. 154, p. 36-41,

2011.

RAHMAN, M.M.; ESCOBEDO-BONILLA, C.M.; CORTEEL, M.; et al. Effect of high water temperature (33 °C) on the clinical and virological outcome of experimental infections with white spot syndrome virus (WSSV) in specific pathogen-free (SPF) *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. v. 261, Issue 3, p. 842-849, 2006.

RAJAN, P.R.; RAMASAMY, P.; PURUSHOTHAMAN, V.; BRENNAN, G.P. White spot baculovirus syndrome in the Indian shrimp *Penaeus monodon* and *P. indicus*. **Aquaculture**. v. 184, p. 31-44, 2000.

REYES, A.M.; SALAZAN, C.G. Temperature modifies gene expression in subcuticular epithelial cells of White spot syndrome virus-infected *Litopenaeus vannamei*. **Developmental & Comparative Immunology**. v. 31, p. 23-29, 2007.

ROCHA I.P. Agronegócio do camarão cultivado. **Revista da ABCC**. Recife, p. 23. Abril, 2000.

SAJEEVAN, T.P.; PHILIP, R.; BRIGHT I.S. Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*, **Aquaculture**. v. 287, p. 248-252, 2009.

SAMOCHA, T.M.; GANDY, R.L.; MCMAHON, D.Z.; MOGOLLÓN, M.; SMILEY, R.; BLACHER, T.S.; DE WIND, A.; FIGUERAS, E.; VELASCO, M. **The role of shrimp nursery systems to improve production efficiency of shrimp farms**. In Responsible Aquaculture for a Secure Future: Proceedings of a Special Session on Shrimp Farming pp 179-195 Ed DE Jory. World Aquaculture 2003. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 2003.

SATOH, J.; NISHIZAWA, T.; YOSHIMIZU, M. Protection against white spot syndrome virus (WSSV) infection in kuruma shrimp orally vaccinated with WSSV rVP26 and rVP28. **Diseases of aquatic organisms**. v. 82, p. 89-96, 2008.

SCHLEDER, D.D.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L.; VIEIRA, F.N. Impact of combinations of brown seaweeds on shrimp gut microbiota and response to thermal shock and White Spot Disease. **Aquaculture**, v. 519, 2020.

SCHLEDER, D.D.; PERUCH, L.G.B.; POLI, M.; FERREIRA, T.H.; SILVA, C.P.; ANDREATTA, E.R.; HAYASHI, L.; VIEIRA, F.N. Effect of brown seaweeds on Pacific white shrimp growth performance, gut morphology, digestive enzymes activity and resistance to white spot virus. **Aquaculture**, v. 495, p. 359-365, 2018.

SCHLEDER, D.D.; ROSA, J.R.; GUIMARÃES, A.M.; RAMLOV, F.; MARASCHIN, M.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N.; HAYASHI, L.; ANDREATTA, E.R. Brown seaweeds as feed additive for white-leg shrimp: effects on thermal stress resistance, midgut microbiology, and immunology. **Journal of Applied Phycology**, 2017.

SIMON, S.M.; PESKIN, C.S.; OSTER, G.F. What drives the translocation of proteins? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n.9, 3770-3774, 1992.

- STALIN V.R.; VIJAYAN, K.K.; ALAVANDI, S.; BALASUBRAMANIAN, C.P.; SANTIAGO, T.C. Effect of temperature and salinity on the infectivity pattern of white spot syndrome virus (WSSV) in giant tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius, 1837). **Indian Journal of Fisheries**. v. 59, p. 109-115, 2012.
- STENTIFORD, G.D.; NEIL, D.M.; PEELER, E.J.; SHIELDS, J.D.; SMALL, H.J.; FLEGEL, T.W. et al. Disease will limit future food supply from the global crustacean fishery and aquaculture sectors. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 141-157, 2012.
- TENDENCIA, E.A.; BOSMA, R.H.; VERRETH, J.A.J. White spot syndrome virus (WSSV) risk factors associated with shrimp farming practices in polyculture and monoculture farms in the Philippines. **Aquaculture**, v.311, p.87-93, 2011.
- TENDENCIA, E.A; BOSMA, R.H; USERO, R.C; VERRETH, J.A. Effect of rainfall and atmospheric temperature on the prevalence of the whitespot syndrome virus in pond-cultured *Penaeus monodon*. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 594 -597, 2010.
- VERBRUGGEN, B.; BICKLEY, L.K.; VAN, A.; ERLE, R.; BATEMAN, K.S.; STENTIFORD, G.D.; SANTOS, E.M.; et al. Molecular mechanisms of white spot syndrome virus infection and perspectives on treatments. **Viruses**, v. 8, p. 1-23, 2016.
- VIDAL, O.; GRANJA, C.; ARANGUREN, F.; BROCK, J.; SALAZAR, M. A Profound Effect of Hyperthermia on Survival of *Litopenaeus vannamei* Juveniles Infected with White Spot Syndrome Virus. **Journal of The World Aquaculture Society**. v. 32, p. 364-372, 2001.
- WAN WYK, P. AND SCARPA, **Journal Water quality requirements and management**. p.141-162. In: Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Wan Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K. L.; Mountain, J. and Scarpa, J., eds. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, FL, USA, 1999.
- WANG, R.; GUO, Z.; TANG, Y.; et al. Effects on development and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with probiotics treatment. **AMB Express**. v. 10, p. 109, 2020^a.
- WANG, H.; WAN, X.; XIE, G.; DONG, X.; WANG, X.; HUANG, J. Insights into the histopathology and microbiome of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, suffering from white feces syndrome. **Aquaculture**. v. 527, p; 735-747, 2020^b.
- WANG, J.; HUANG, Y.; XU, K.; ZHANG, X.; SUN, H. FAN, L.; YAN, M. White spot syndrome virus (WSSV) infection impacts intestinal microbiota composition and function in *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 84, 2019.
- WU, H.; ZHANG, J.; HE, Y.; ZHOU, J.; YAN, J.; JIANG, M. A metabolic study in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* response to white spot syndrome virus. **International Aquatic Research**, v. 9, n. 3, p. 195-201, 2017.
- WYBAN, J. Thailand's White Shrimp Revolution. **Global Aquaculture Advocate**, 2007.

XU, C.; LI, E.; WANG, X.; SHIFENG, W.; Z.; ZHANG, M.; QIN, J.; CHEN, L. Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**. v. 26, p. 1-19, 2018.

XU, W.J.; MORRIS, T.C.; SAMOCHA, T.M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-90 density, zero-exchange, outdoor tank system. **Aquaculture**, v. 453, p. 169-175, 2016.

XU, X.; JI, W.; CASTELL, D.J.; O'DOR, R. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). **Aquaculture**. v. 118, p. 277-285, 1993.
YTA, G. A.; ROUSE, D. B.; DAVIS, D. A. Influence of nursery period on the growth and survival of *Litopenaeus vannamei* under pond production conditions. **Journal World Aquaculture Society**, v. 35, n. 3, p. 357–365, 2004.

ZHAO X.F.; WANG, J.X. The antimicrobial peptides of the immune response of shrimp. **Invertebrate Survival Journal**. v. 5, p. 162–179, 2007.