



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

Abdon de Oliveira Vieira

**Imunocompetência de camarões marinhos alimentados com dietas
suplementadas com plantas do bioma amazônico, com ênfase no farelo de açaí
(*Euterpe oleraceae*)**

Florianópolis2024

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Perazzolo

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

Vieira, Abdon de Oliveira

Imunocompetência de camarões marinhos alimentados com dietas suplementadas com plantas do bioma amazônico, com ênfase no farelo de açaí (*Euterpe oleraceae*) / Abdon de Oliveira Vieira ; orientadora, Luciane Maria Perazzolo, 2024.

66 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Peneídeos. 3. compostos bioativos. 4. imunoparâmetros. 5. suplementação alimentar. I. Perazzolo, Luciane Maria . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Abdon de Oliveira Vieira

Imunocompetência de camarões marinhos alimentados com dietas suplementadas com plantas do bioma amazônico, com ênfase no farelo de açaí (*Euterpe oleraceae*)

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado em 28 de maio de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profª. Luciane Maria Perazzolo, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Walter Quadros Seiffert, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Alcir Luiz Dafré, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

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

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profª. Luciane Maria Perazzolo, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho à minha família, Zeno, Bianca e ao meu irmão gêmeo Antônio, e a todas as pessoas com quem compartilho minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente meu agradecimento à Deus, em que nos momentos que minha esperança esteve abatida, mantive minhas orações e fé em sua devoção.

A minha família, meus pais e meus avós, e particularmente todas pessoas que estiveram no meu cotidiano, que conhecem meus defeitos e minhas fortalezas. Também agradeço ao meu irmão e meu amor Débora por estarem sempre comigo.

A todos integrantes do Laboratório de Imunologia à Aquicultura que com certeza criamos amizades que ficaram para a vida toda. Em especial ao meu parceiro de experimentos José Stênio, Juliana Nascimento, Gustavo Pitta, Beatriz Garcia, Camila Martins, Ediane Rubas, Aletícia Pantoja, Thamiris e tantas outras pessoas que me ajudaram!

Em especial aos professores do meu laboratório, orientadora Luciane Maria Perazzolo pela orientação e formação científica de minha pessoa, como também agradecimento ao Professor Rafael Rosa, grandes pessoas com conhecimento muito rico!

Este trabalho também teve inspirações de pessoas de minha família que partiram, familiares de Floripa “in memoriam” primo Thiago Alano e Tio Mario Alano, grandes pessoas que aqueceram meus dias de praia em Floripa, vocês com certeza são fruto de minha inspiração e estarão sempre em meu coração!

Agradeço também a todos os profissionais da Universidade Federal de Santa Catarina, profissionais do centro de ciências biológicas, inclusive aos seguranças e zeladores que sempre me orientaram e foram grandes amigos. A todo o pessoal do Laboratório de Camarões Marinhos da UFSC, professor Felipe Alano e Walter Seiffert, servidores Uilson, Dimas, João que me ajudaram nas coletas de camarões para levar até o LIAA.

Aos meus amigos da aquicultura, Titio, Caio Farias, João Miguel, Sunshine, Ulisses, Ramon, e tantos outros aqui que foram parceiros para todas as horas. Obrigado por tudo!

“Se é verdade que românticos são loucos, também é verdade que em sua loucura, os românticos são os únicos a provar intensamente o sabor da presença e o da distância. Por isso são felizes ou tristes de modo intenso.... Por isso são plenos.... Vivem a vida e não apenas a assistem passar nas janelas abertas de seus corações’’. (Aluísio Cavalcante Jr.)

RESUMO

A utilização de medidas profiláticas para prevenção das doenças tem sido amplamente investigada nos últimos anos. A busca por compostos que aumentem a imunocompetência dos animais durante os cultivos é fundamental para o desenvolvimento sustentável da carcinicultura. Nesse contexto, plantas do bioma amazônico como açai, buriti e pracaxi, têm potencial para serem incluídas na dieta de organismos aquáticos devido à sua riqueza em compostos bioativos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e nutraceuticas. Neste estudo, avaliou-se o estado imunológico de camarões juvenis *Penaeus vannamei* alimentados com ração suplementada acrescida de farelo de açai a 4% ou 8% (A4 ou A8), farelo de buriti com 4% ou 8% (B4 ou B8) e farelo de pracaxi com 4% ou 8% (P4 ou P8). Foram realizadas análises bioquímicas (parâmetros hemato-imunológicos) e um desafio viral mediante infecção sistêmica contra o vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), DL_{50/15}. Os camarões alimentados com A8 apresentaram melhores condições gerais de imunocompetência em comparação com os demais tratamentos, possivelmente devido à concentração de farelo de açai. Camarões alimentados com B4 e A8 apresentaram maior número de células imunocompetentes circulantes (CTH) e camarões alimentados com P4 e A8 revelaram maior capacidade de atividade antimicrobiana intermediada pela enzima de melanização (PO). Independentemente do farelo vegetal utilizado na ração, os camarões apresentaram maior capacidade aglutinante da hemolinfa, sugerindo uma melhor capacidade de reconhecer e imobilizar agentes patogênicos. Curiosamente, a capacidade aglutinante dos eritrócitos caninos foi mais expressiva para o soro de animais alimentados por A8 e B8. Em relação às bactérias, a patogênica Gram-negativa *Vibrio harveyi*, foi mais reconhecida e aglutinada pelo soro dos animais alimentados por A4, B4, B8, P4 e P8. A outra bactéria patogênica Gram-negativa *V. nigripulchritudo*, também foi potencialmente reconhecida e aglutinada pelo soro de animais alimentados com A4, A8 e B4. A bactéria patogênica Gram-negativa *Aeromonas hydrophila* foi expressivamente aglutinada pelo soro dos animais alimentados com A8. Por outro lado, a aglutinação da bactéria Gram-positiva *Microbacterium maritypicum* foi superior com o soro dos animais alimentados com A4, B4, B8 e P8, enquanto para a bactéria Gram-positiva *C. stationis*, a aglutinação foi mais eficiente com o soro dos animais alimentados por A8. Por fim, quanto ao desafio com WSSV, a suplementação com farelo de açai a 8% não resultou em aumento da sobrevivência dos animais em comparação ao grupo controle, possivelmente associado a alta carga viral. Em conjunto, os resultados fornecem novas informações sobre a utilização de diferentes plantas do bioma amazônico na alimentação de camarões, visando melhorar a imunocompetência desses animais e prevenir doenças na carcinicultura.

Palavras-chave: Aquicultura; Peneídeos; compostos bioativos; imunoparâmetros; suplementação alimentar.

ABSTRACT

The use of prophylactic measures to prevent diseases has been widely investigated in recent years. The search for compounds that increase the immunocompetence of animals during farming is fundamental for the sustainable development of shrimp farming. In this context, plants from the Amazon biome, such as açai, buriti and pracaxi, have the potential to be included in the diet of aquatic organisms due to their richness in bioactive compounds with antioxidant, anti-inflammatory and nutraceutical properties. This study evaluated the immune status of juvenile *Penaeus vannamei* shrimp fed supplemented feed containing 4% or 8% açai flour (A4 or A8), 4% or 8% buriti flour (B4 or B8) and 4% or 8% pracaxi flour (P4 or P8). Biochemical analyses (hemato-immunological parameters) and a viral challenge were carried out by systemic infection with the White Spot Syndrome Virus (WSSV); DL_{50/15}. Shrimp fed with A8 showed better immunocompetence compared to the other treatments, possibly due to the concentration of açai flour. Shrimp fed B4 and A8 showed a greater number of circulating immunocompetent cells (CTH) and shrimp fed P4 and A8 showed a greater capacity for antimicrobial activity mediated by the melanization enzyme (PO). Regardless of the vegetable meal used in the feed, the shrimp showed greater hemolymph binding capacity, suggesting a better ability to recognize and immobilize pathogens. Interestingly, the agglutination capacity of canine erythrocytes was more significant for the serum of animals fed with A8 and B8. As for the bacteria, the Gram-negative pathogenic *Vibrio harveyi* was more recognized and agglutinated by the serum of animals fed A4, B4, B8, P4 and P8. The other pathogenic Gram-negative bacterium, *V. nigripulchritudo*, was also potentially recognized and agglutinated by the serum of animals fed A4, A8 and B4. The Gram-negative pathogenic bacterium *Aeromonas hydrophila* was significantly agglutinated by the serum of animals fed A8. On the other hand, agglutination of the Gram-positive bacterium *Microbacterium maritpicum* was higher with the serum from animals fed A4, B4, B8 and P8, while for the Gram-positive bacterium *C. stationis*, agglutination was more efficient with the serum from animals fed A8. Finally, when challenged with WSSV, supplementation with 8% açai flour did not result in increased survival of the animals compared to the control group, possibly associated with the high viral load. Taken together, the results provide new information on the use of different plants from the Amazon biome in shrimp feed, with the aim of improving the immunocompetence of these animals and preventing diseases in shrimp farming.

Keywords: Aquaculture; Penaeid; bioactive compounds; immunoparameters; food supplementation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Exemplar de camarão juvenil <i>Penaeus vannamei</i>	15
Figura 2:	Micrografia eletrônica da morfologia de vírions do WSSV	16
Figura 3:	Respostas imunológicas induzidas pelos hemócitos dos camarões.....	18
Figura 4:	Representação ilustrativa de espécimes e frutos das plantas de açaí, buriti e pracaxi.....	24
Figura 5:	Delineamento experimental do Experimento 1	31
Figura 6:	Delineamento experimental do Experimento 2	33
Figura 7:	Parâmetros hemato-imunológicos em juvenis de <i>Penaeus vannamei</i> alimentados com ração suplementada com ingredientes de plantas do bioma amazônico	39
Figura 8:	Capacidade aglutinante da hemolinfa de juvenis de <i>Penaeus vannamei</i> alimentados com rações suplementadas com ingredientes de plantas do bioma amazônico.....	40
Figura 9:	Variação dos níveis de amônia total e nitrito durante a suplementação alimentar de juvenis <i>Penaeus vannamei</i> em sistema de recirculação de água fechado	41
Figura 10:	Avaliação de diferentes parâmetros hemato-imunológicos em juvenis de <i>Penaeus vannamei</i> alimentados com ração suplementada com 8% de farelo de açaí.....	43
Figura 11:	Capacidade aglutinante da hemolinfa de <i>Penaeus vannamei</i> contra diferentes bactérias marinhas	44
Figura 12:	Taxa de sobrevivência (%) de camarões juvenis (<i>Penaeus vannamei</i>), alimentados por 30 dias com ração suplementada com farelo de açaí a 8% (A8), ração não suplementada (C, controle) e infectados com inóculo de WSSV correspondente a DL 50/15 dias. A suplementação alimentar foi continuada ao longo de 20 dias e a sobrevivência monitorada diariamente.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição centesimal das diferentes rações experimentais	32
Tabela 2: Variáveis de parâmetros de qualidade de água durante o período de alimentação de 30 dias em sistema de recirculação de água	37
Tabela 3: Desempenho zootécnico de juvenis <i>Penaeus vannamei</i> no experimento 1	38
Tabela 4: Variáveis de parâmetros de qualidade de água em sistema de recirculação de água fechado	41
Tabela 5: Desempenho zootécnico de juvenis <i>Penaeus vannamei</i> no Experimento 2.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A4	Camarões alimentados de dieta acrescida com 4% de farelo de açai
A8	Camarões alimentados de dieta acrescida com 8% de farelo de açai
AHPND	Doença de necrose hepatopancreática aguda
B4	Camarões alimentados de dieta acrescida com 4% de farelo de buriti
B8	Camarões alimentados de dieta acrescida com 8% de farelo de buriti
C	Grupo controle
CA	Capacidade aglutinante da hemolinfa
CP	Concentração proteica do soro
CTH	Contagem total de hemócitos
ETOse	Armadilhas extracelulares de ácidos nucleicos
FCA	Fator de conversão alimentar
IAFFD	<i>International Aquaculture Feed Formulation Database</i>
LCM	Laboratório de Camarões Marinhos
LIAA	Laboratório de Imunologia Aplicada à Aquicultura
LPS	Lipopolissacarídeos
MAS	Solução de Alsever Modificada
P4	Camarões alimentados de dieta acrescida com 4% de farelo de pracaxi
P8	Camarões alimentados de dieta acrescida com 8% de farelo de pracaxi
PAMPs	<i>Pathogen associated molecular patterns</i>
PAMs	Produção de moléculas microbidas, como as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e os peptídeos antimicrobianos
PO	Atividade da fenoloxidase
proPO	Melanização mediada pelo sistema de ativação da pró-fenoloxidase
PRPs/PRR	<i>Pattern recognition proteins/receptors</i>
PRRs/PRPs	Reconhecimento do não-próprio por receptores/proteínas de reconhecimento-padrão
PS	Polissacarídeos sulfatados
RAS	Recirculating Aquaculture Systems
RNAi	Sistemas antivirais mediados pela interferência por
RNAWSSV	White Spot Syndrome Vírus

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1	OBJETIVOS	25
1.2	OBJETIVO GERAL.....	25
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
1.4	ESTRUTURA DO TRABALHO.....	25
2.	ARTIGO CIENTÍFICO	26
2.1	INTRODUÇÃO	28
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.2.1	Animais e delineamento experimental.....	30
2.2.2	Experimento 1: definição das melhores concentrações de ingredientes vegetais	30
2.2.3	Experimento 2: avaliação da imunocompetência de camarões alimentados com dietasuplementada com farelo de açaí (8%) e desafiados com wssv.....	32
2.3	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATO-IMUNOLÓGICOS	33
2.3.1	Coleta de hemolinfa e preparação do soro.....	33
2.3.2	Atividade da fenoloxidase (PO) e concentração de proteínas totais (CP).....	34
2.3.3	Capacidade aglutinante da hemolinfa (CA) contra eritrócitos caninos e bactériasmarinhas	34
2.3.4	Contagem total de hemócitos (CTH)	35
2.4	PREPARO DO INÓCULO VIRAL E DESAFIO SISTÊMICO	36
2.5	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	36
2.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
2.7	RESULTADOS.....	37
2.7.1	Experimento 1: definição das melhores concentrações de ingredientes vegetais	37
2.7.2	Parâmetros de qualidade da água.....	37
2.7.3	Os animais alimentados de B8 e P4 obtiveram melhores índices de desempenho zootécnico.....	37
2.7.4	Alguns parâmetros hemato-imunológicos diferiram em função da suplementaçãoalimentar	38
2.7.5	Experimento 2: avaliação da imunocompetência de camarões alimentados com dietasuplementada com farelo de açaí (8%) e desafiados com wssv.....	40
2.7.6	Parâmetros de qualidade de água.....	40

2.7.7	O desempenho zootécnico foi similar entre os tratamentos	46
2.7.8	A suplementação alimentar com 8% de farelo de açaí estimulou algumas respostas hemato-imunológicas nos camarões	41
2.7.9	A suplementação alimentar com farelo de açaí a 8% não promoveu aumento na sobrevivência dos camarões frente ao desafio sistêmico por WSSV	42
2.8	DISCUSSÃO	45
2.9	CONCLUSÕES	52
2.10	REFERÊNCIAS.....	53
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	55

1 INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce mundialmente, devido ao desenvolvimento de tecnologias e intensificação nos sistemas de produção de animais (VERDEGEM et al., 2023). Além disso, o crescimento populacional requer uma maior demanda por alimentos, de preferência mais saudáveis e produzidos com sustentabilidade, ou seja, causando um menor impacto ambiental. Atualmente, a aquicultura representa uma das principais alternativas para suprir a demanda de alimento de forma sustentável, também chamada de “revolução azul” (MANSOUR et al., 2022).

O crescimento da aquicultura sofreu um importante impacto decorrente da pandemia (COVID-19), resultando em uma diminuição de 7% no valor das exportações globais em 2020 e de uma receita de US\$ 151 bilhões. Mesmo frente a esses desafios, a produção de crustáceos (carcinicultura) atingiu 22,8% da produção da aquicultura mundial com uma receita de US\$ 24,7 bilhões, o que a coloca como um setor destaque, após apenas da piscicultura (FAO, 2022). A carcinicultura mundial produziu, em 2023, cerca de 7,5 milhões de toneladas, o que permite suprir uma parcela significativa da demanda de camarões peneídeos (principal crustáceo produzido), considerando ainda que a captura de camarões por pesca comercial tem diminuído nos últimos anos (FAO, 2023).

Os cinco maiores produtores de camarões marinhos em 2020 foram a China, Vietnã, Índia, Indonésia e Equador, sendo o Brasil o 10º produtor (FAO, 2022). A China produziu 1,86 mil toneladas, ou seja, 32,05% da produção mundial. A espécie de peneídeo mais cultivado mundialmente é *Penaeus vannamei*, concentrando 79,43% da sua produção na Ásia e 20,53% na América latina, e cujos principais mercados consumidores são Estados Unidos, União Europeia e Japão (ZHANG et al., 2023). A espécie *Penaeus vannamei* (**Figura 1**) é cultivada em diversas regiões do mundo, devido as suas excelentes características zootécnicas, como boa taxa de conversão alimentar, crescimento vigoroso e alta fecundidade. Além disso, demonstram tolerância notável a altas densidades de estocagem, salinidades extremas e baixas temperaturas, enquanto se mostram resistentes ao manejo em cativeiro (BRIGGS M., SIMON FUNGE-SMITH; 2004).

Figura 1: Exemplar de camarão juvenil *Penaeus vannamei*



Fonte: Própria do autor.

No Brasil, desde 2016 a produção vem crescendo em uma taxa superior a 25% ao ano, de 60.000 t (2016) para 180.000 t (2023) ocupando o 6º lugar no *ranking* mundial de camarões marinhos cultivados (ABCC, 2024). A região Nordeste lidera a produção nacional, com 78,41 mil toneladas produzidos em 2021. As exportações, que incluem destinos como o Vietnã e os Estados Unidos, totalizaram US\$ 1,34 milhão em 2022. Apesar de representar apenas 10% do volume total da aquicultura brasileira, o camarão é a segunda espécie mais valiosa em termos de produção (22,3%), destacando seu alto valor agregado (XIMENES & VIDAL, 2023). Nos últimos anos, o rápido crescimento da carcinicultura e a intensificação dos cultivos pode promover o aumento dos níveis de estresse, debilitando os animais, diminuindo o desempenho de crescimento e limitando o bem-estar animal, o que pode propiciar o surgimento de doenças de origem infecciosa. (DAWOOD & KOSHIO, 2016).

Considerações sobre as enfermidades na carcinicultura

As respostas de estresse podem comprometer a taxa de crescimento e a qualidade do camarão produzido, além de surgirem potencialmente doenças infecciosas que impactam o sucesso da atividade (PAUL; VOGL, 2011). As boas práticas de manejo e de manutenção do bem-estar animal são fundamentais. Contudo, nem sempre as práticas de manejo adotadas nos cultivos possibilitam um melhor equilíbrio do sistema de produção, uma vez que as intempéries climáticas, juntamente com variações bruscas na qualidade de água, podem promover a desregulação fisiológica do sistema imune dos camarões, tornando-os particularmente suscetíveis a doenças.

No cultivo de peneídeos, as viroses e as bacterioses são as doenças que mais causam impacto para a atividade (KIBENGE, 2019; LIGHTNER et al., 2012). No Brasil, dentre os vírus com impacto econômico destacam-se o vírus da síndrome da mancha branca (*White spot syndrome virus* ou WSSV) e o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV) (NEVES, 2018). Há registros da presença de ambos os vírus infectando os camarões na produção localizada no Nordeste, enquanto no Sul somente o WSSV. O WSSV é considerado o patógeno mais importante na carcinicultura mundial, sendo responsável por afetar drasticamente populações inteiras desde o seu surgimento em 1992 (FLEGEL, 2012; LIGHTNER et al., 2012) e o impacto do WSSV na produção de *P. vannamei* no principal país produtor latino-americano, o Equador, foi igualmente severo após o surto da doença (LUCIEN H., 2017). Estima-se que, desde o seu surgimento, a síndrome da mancha branca promoveu perdas econômicas de aproximadamente 8 a 15 milhões de dólares (LIGHTNER et al., 2012). No estado de Santa Catarina, o WSSV foi o principal responsável pela quebra de produção da carcinicultura cuja produção de 4.189 t em 2004 caiu para 284,2 t em 2017 (EPAGRI, 2018). O WSSV é um vírus envelopado, de genoma de DNA de dupla fita circular (305 kpb), que codifica pelo menos 181 proteínas. Este genoma pertence ao gênero *Whispovirus*, que é o único representante da família *Nimaviridae*, no qual, este tipo de vírus realiza sua replicação no núcleo celular (**Figura 2**) (ESCOBEDO-BONILLA et al., 2008; LI; WENG; HE, 2019).

Figura 2: Micrografia eletrônica da morfologia de vírions do WSSV

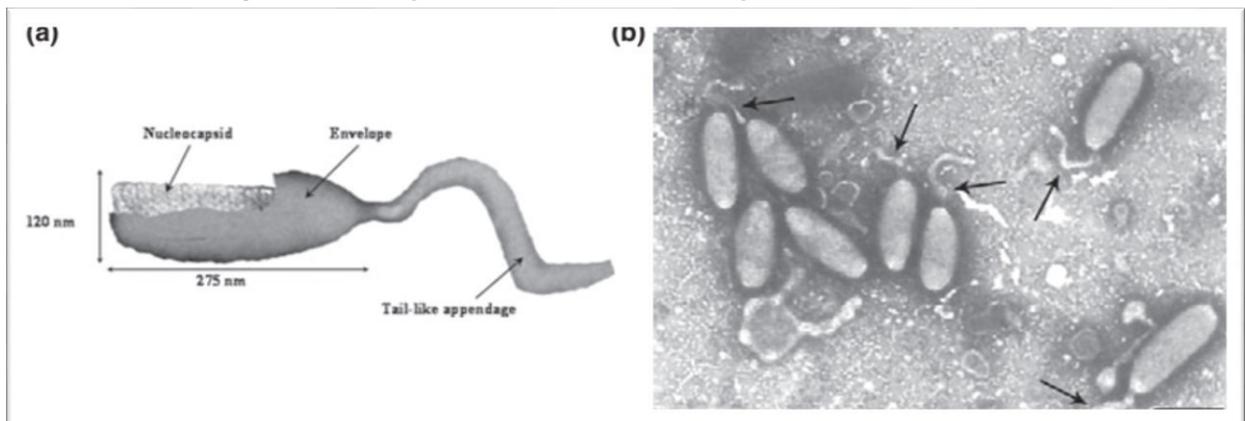


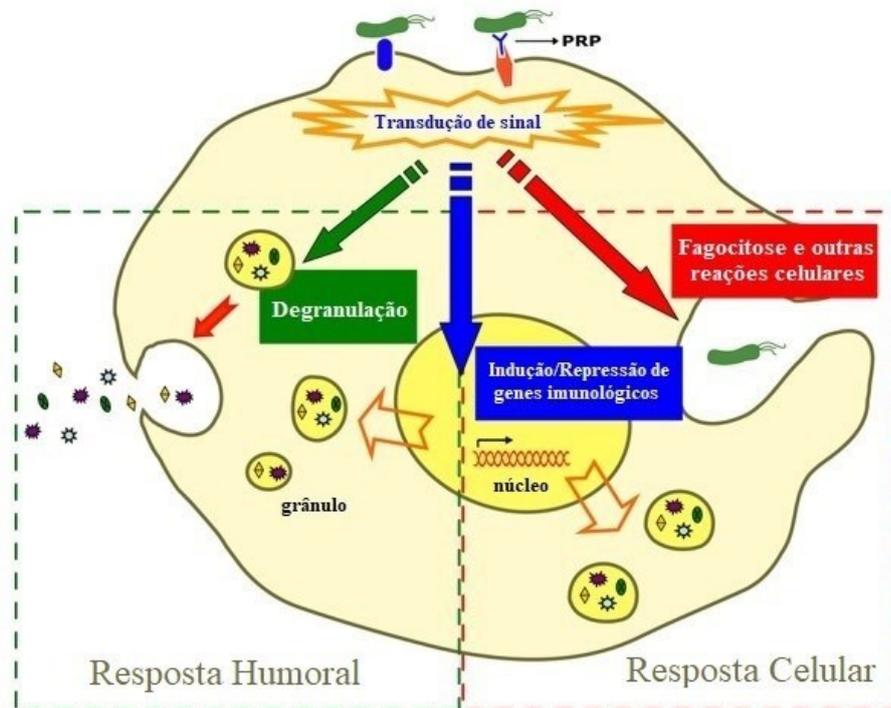
Figura 2: (A) Morfologia do vírion do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV). (B) Micrografia eletrônica indicando vírions WSSV com apêndice em forma de cauda (setas pretas) (barra = 250 nm). Fonte: DURAND et al., 1996.

O WSSV é capaz de infectar todos os crustáceos da ordem Decapoda, infectando células de diversos tecidos (KOU et al., 1998). Os hemócitos, que são as células imunocompetentes dos crustáceos, podem ser infectadas e comprometer o sistema imunológico do hospedeiro, desde o início do processo infeccioso (WANG, et al. 2002). Durante o cultivo, o canibalismo entre camarões saudáveis e doentes potencializa a transmissão horizontal dessa virose e a infecção pelo patógeno pode atingir uma taxa de mortalidade de 100% entre 3 a 10 dias (WU et al., 2001; OAKLEY et al., 2019). Outros fatores, como mudanças bruscas na temperatura da água de cultivo, afetam a homeostase da interação patógeno e hospedeiro, o que promove a infecção viral e facilita a replicação do vírus nos camarões cultivados (NUNES; FEIJÓ, 2017). Portanto, torna-se fundamental a adoção de medidas profiláticas que promovam o controle de surgimento de doenças durante o cultivo, visando o fortalecimento da imunocompetência dos animais, tornando-os menos suscetíveis aos patógenos. Nesse cenário, a investigação dos mecanismos de defesa dos camarões contra o WSSV e o uso de dietas suplementadas com potenciais substâncias imunostimulantes surgem como uma importante estratégia na prevenção e/ou tratamento de doenças.

Considerações sobre o sistema imunológico dos crustáceos

O sistema de defesa dos crustáceos é desprovido de sistema imune adaptativo composto por células linfocíticas clonais (linfócitos T e B), anticorpos e memória imunológica a longo prazo. Estes animais dependem da imunidade inata para ativar uma série de mecanismos celulares e moleculares de defesas para garantir a sua sobrevivência. Por isso, a ausência do sistema imunológico adaptativo impossibilita a geração de vacinas ou terapias baseadas no reconhecimento específico de patógenos por anticorpos, que evitam infecções recorrentes (BUCHMANN, 2014; BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2014). Segue abaixo alguns mecanismos de defesa celulares mediados pelos hemócitos (**Figura 3**).

Figura 3: Respostas imunológicas induzidas pelos hemócitos dos camarões



Fonte: Adaptado de BARRACCO, PERAZZOLO e ROSA (2014).

Figura 3. O reconhecimento de microrganismos pelos hemócitos ocorre, diretamente mediante ligação ao receptor celular ou por uma proteína de reconhecimento-padrão (PRP), desencadeando respostas simultâneas de defesa como: a degranulação/lise celular para a liberação de imunofetores, a fagocitose com a produção de espécies reativas de Oxigênio/Nitrogênio e a modulação da expressão de genes associados ao sistema imune.

A primeira barreira de defesa é caracterizada por uma carapaça externa rígida ou exoesqueleto, atuando como uma barreira física, composta por quitina, que também reveste internamente o trato digestório. Além disso, o trato digestório secreta enzimas e moléculas, algumas com atividade antimicrobiana (MCGAW; CURTIS, 2013; SOONTHORNCHAI et al., 2010). O trato gastrointestinal do camarão consiste em quatro partes principais: intestino anterior, hepatopâncreas, intestino médio e intestino posterior. O intestino anterior é altamente especializado e responsável pela digestão mecânica e extracelular, abrangendo boca, esôfago e estômago. O estômago está conectado ao esôfago e a região central do hepatopâncreas. O intestino médio, um tubo longo, inclui a parte anterior e ceco posterior do intestino médio e regula o movimento do conteúdo digerido e filtrado, direcionando-o para o hepatopâncreas (FELGENHAUER, 1992; SOONTHORNCHAI et al., 2015). Cabe ressaltar que o hepatopâncreas também desempenha um papel importante na resposta imune dos camarões (JI; YAO; WANG, 2009).

A maior parte do intestino é protegida por uma cutícula quitinosa que separa o conteúdo luminal do epitélio, proporcionando proteção contra a abrasão causada pelas partículas

alimentares. A exceção ocorre na região do intestino médio, onde há apenas uma membrana peritrófica quitinosa, que é acelular e porosa. Essa membrana permite a absorção seletiva de nutrientes e é composta por fibrilas associadas a glicoproteínas e proteoglicanas. (MCGAW; CURTIS, 2013; SOONTHORNCHAI et al., 2015; WANG et al., 2012). Portanto, havendo o rompimento dessas barreiras físico-químicas, os microrganismos adentram a hemocele e são desencadeados processos de reações imunológicas para eliminação dos invasores.

Os processos de reações imunológicas envolvem o reconhecimento inicial destes invasores, em decorrência das proteínas de reconhecimento padrão (PRPs/PRR, em inglês: *pattern recognition proteins/receptors*) presentes no plasma ou na superfície das células do hospedeiro. Essas proteínas são responsáveis pela ligação de diferentes compostos presentes na superfície dos patógenos aos hemócitos, denominado padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs, em inglês: *pathogen associated molecular patterns*). A partir do reconhecimento destes padrões, são desencadeados diferentes mecanismos de defesa, sendo atualmente os principais mecanismos reconhecidos em camarões: (1) reconhecimento do não-próprio por receptores/proteínas de reconhecimento-padrão (PRRs/PRPs); (2) ativação de vias de sinalização intracelular; (3) fagocitose, encapsulamento e nodulação, associadas à formação de armadilhas extracelulares de ácidos nucleicos (ETOs); (4) produção de moléculas microbicidas, como as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e os peptídeos antimicrobianos (PAMs); (5) melanização mediada pelo sistema de ativação da pró-fenoloxidase (proPO), gerando moléculas intermediárias altamente citotóxicas; (6) coagulação da hemolinfa mediada por transglutaminases; (7) reconhecimento e aglutinação celular mediada por lectinas e, (8) os sistemas antivirais mediados pela interferência por RNA (RNAi), citocinas *interferon-like*, apoptose e autofagia (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2014; KULKARNI et al., 2021).

Esses mecanismos celulares estão intimamente ligados à hemolinfa. No entanto, estudos com outros artrópodes, como os insetos, demonstram o envolvimento do sistema digestório na imunidade do animal. No caso dos crustáceos, há alguns estudos apontando para esse fato, uma vez que, o intestino é um importante local de expressão de genes relacionados ao sistema imune e conta com a participação de hemócitos infiltrados (SILVEIRA et al., 2018). O aumento da presença de patógenos e a redução de microrganismos benéficos ou comensais no intestino dos animais, gera uma condição de alteração nas comunidades bacterianas endobiontes, fenômeno este conhecido por disbiose ou disbacteriose. Geralmente ele está associado à patogênese em camarões (HUANG et al., 2020; CHEN et al., 2017; CORNEJO-GRANADOS et al., 2017, XIONG et al., 2017).

Embora pouco se conheça a respeito da imunidade associada ao intestino dos camarões, estudos apontam para a participação do intestino na sua imunidade, a exemplo dos insetos, seus parentes terrestres (CAPO; WILSON; DI CARA, 2019). Em estudo realizado pelo nosso grupo, Silveira et al. (2018) identificou a distribuição de transcritos associados à imunidade no trato gastrointestinal de *P. vannamei*, o que se sugere a importância de hemócitos infiltrados na comunicação sistêmica (associada à hemolinfa) e a imunidade epitelial (intestino médio) em camarões. Depois deste, outros estudos conduzidos pelo nosso grupo demonstraram a participação do epitélio intestinal na produção de efetores imunológicos, como o peptídeo antimicrobiano stylicina (FARIAS et al., 2019). Em uma avaliação do perfil transcricional no intestino médio, foram identificados 30 diferentes genes imunológicos diferencialmente expressos em camarões cultivados em bioflocos e comparados ao cultivo em água verde (PILOTTO, et al., 2020). Muito recentemente, um estudo realizado por do Nascimento Ferreira (2024) evidenciou que a maturação dos sistemas de bioflocos afeta tanto a imunidade sistêmica quanto a intestinal dos camarões, como também as suas comunidades bacterianas no intestino médio. Essas descobertas podem auxiliar a compreender como o ambiente, a imunidade do camarão e o microbioma bacteriano interagem para prevenir doenças nos cultivos de camarões.

Considerações sobre o uso de substâncias potencialmente imunoestimulantes na carcinicultura

O emprego de substâncias naturais que potencializem a competência imunológica dos camarões, com o intuito de prevenir doenças nos cultivos, é altamente recomendável. A estimulação da resposta imune através da suplementação dietética tem sido amplamente investigada na aquicultura como uma estratégia eficaz para aumentar a resistência dos animais, os quais promovem a ativação das células de defesas do sistema inato contra doenças infecciosas (AZAD et al., 2005; SAKAI, 1992). Isso interfere diretamente no sistema imune dos camarões, melhorando, portanto, a resistência dos animais contra possíveis enfermidades. Compostos microbianos, bem como extratos derivados de algas e plantas, podem auxiliar na melhora das respostas imunológicas e no aumento da sobrevivência de camarões peneídeos mediante infecção pelo WSSV (CITARASU et al., 2006; DECLARADOR, 2014; PALANIKUMAR et al., 2018).

Os imunoestimulantes compreendem um conjunto de substâncias naturais e compostos sintéticos que têm a capacidade de aprimorar os mecanismos de defesa celular e humoral em animais. Uma variedade extensa de compostos tem sido utilizada como imunoestimulantes para peixes e camarões, tais como, β -1,3/1,6-glicanas de fungos, lipopolissacarídeos (LPS) de

bactérias Gram-negativas (WONGPRASERT; RUDTANATIP; PRAIBOON, 2014), quitosana e quitina de artrópodes, vitaminas C e E (BARMAN; NEN, 2013), entre outras moléculas. Nesse contexto, o uso de extratos brutos ou purificados de plantas de origem do bioma amazônico, como farelo de açaí (*Euterpe oleraceae*), farelo de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) e farelo de buriti (*Mauritia flexuosa*) poderia ser de grande utilidade para a carcinicultura, devido a presença de compostos bioativos e propriedades nutraceuticas. O farelo é o produto resultante da moagem da "torta" desidratada obtida a partir do fruto inteiro (incluindo casca, polpa e semente), que passou por prensagem a frio para extrair o óleo. Após a remoção dos lipídeos da polpa do fruto para diversos fins, como na indústria cosmética, é possível obter o farelo a partir das sementes, casca e fibras da polpa (que são os resíduos). Esse farelo é então utilizado como ingrediente em rações. É importante destacar que o aproveitamento desse subproduto pode contribuir para a eficiência na utilização da matéria-prima. Além disso, o farelo contém uma quantidade significativa de lipídeos, bem como propriedades antioxidantes e outros compostos com potencial efeito imunestimulante para os animais. A composição desses recursos vegetais e suas propriedades funcionais já foram descritas em estudos anteriores e serão abordadas mais detalhadamente a seguir.

O açaí é uma palmeira da família Arecaceae, comum em áreas de planícies no norte da América do Sul (YAMAGUCHI et al, 2015), incluindo todo o bioma amazônico. Os frutos são processados por extração mecânica da polpa para produção de suco e sua polpa e óleo podem ser utilizados na indústria alimentícia devido ao seu alto valor nutricional (sorvete e bebidas energéticas), de cosméticos e produtos farmacêuticos (RODRIGUES et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2022; MONTEIRO et al., 2021). O fruto do açaí é considerado uma boa fonte nutricional pois é rico em vitaminas e minerais, além de apresentar compostos bioativos, como pigmentos, flavonóides carboidratos, esteróis e ácidos graxos (NERI-NUMA et al., 2018). A análise da composição apresenta altos níveis de ácidos graxos (ômega 6 e 9), carboidratos, fibras, vitaminas (A, C, D e E), proteínas, minerais (Mn, Fe, Zn, Cu e Cr) e antioxidantes (BICHARA 2011, 2011; DEMBITSKY et al., 2011; GORDON et al., 2012; SCHAUSS, 2016). Entre os compostos bioativos encontrados no açaí destacam-se os produtos fenólicos, flavonóides e antocianinas, que possuem, propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias em humanos (SCHAUSS, 2016). Além da ação antioxidante e anti-inflamatória do açaí, são também relatadas propriedades presentes nos flavonóides como efeitos anti-neurodegenerativos, antimutagênicos e antimicrobianos (NILE; PARK, 2014).

Na aquicultura, os relatos de uso de dietas enriquecidas com produtos do açaí não são muito frequentes e se concentram poucos trabalhos sobre peixes e camarões, em sua maioria

sobre o efeito zootécnico e sobre respostas bioquímicas do metabolismo antioxidante (COLOMBO et al., 2019; MOURA et al., 2022; LEITE et al., 2021; SILVA et al., 2020). Existem alguns trabalhos com resultados interessantes indicando que a suplementação alimentar de camarões com dietas contendo o fruto do açaí ou seus derivados podem desempenhar benefícios aos animais. Em estudo com alimentação durante 35 dias com inclusão de 10% de açaí liofilizado na dieta de *P. vannamei* não afetou os parâmetros zootécnicos, porém, resultou em aumento na composição de polifenóis e flavonóides no hepatopâncreas e aumento da capacidade antioxidante desse importante órgão frente a radicais livres (COLOMBO et al., 2019). Até o momento, não há relatos de estudos que tenham sido conduzidos para avaliar a sanidade ou imunidade de *P. vannamei* usando este fruto.

Outro estudo realizado com lagostins *Procambarus clarkii* foi observado que dieta enriquecida com quercetina purificada, um flavonoide presente no açaí, proporcionou efeito imunoprotetor dos animais frente ao desafio com o WSSV (ZHANG et al., 2021). Sabe-se que outros alcaloides (derivados de *Rhizoma coptidis*, uma planta tradicional chinesa), demonstrou induzir o sistema imune inato de carpas e conferiu resistência a certas doenças (ZHOU et al., 2016). Outro componente muito rico encontrado no açaí são as antocianinas, que são pigmentos azuis com potencial efeito quimioprotetor contra células cancerígenas em humanos (FRAGOSO et al., 2013; ROMUALDO et al., 2015). O efeito das antocianinas derivadas do açaí na aquicultura ainda não foi avaliado/descrito. Porém, um estudo com tilápia recebendo dieta experimental contendo antocianinas derivadas do arroz vermelho, há relatos de efeito imunostimulante e de benefícios no desempenho zootécnico dos peixes (LINH et al., 2022). Portanto, pode-se inferir que haja benefícios dos bioativos semelhantes, presentes no açaí, para a alimentação de organismos aquáticos.

Outro fruto do bioma amazônico com potencial para utilização na alimentação suplementada para animais aquáticos é o buriti. O buriti (*Mauritia flexuosa*) é uma palmeira encontrada principalmente nos biomas amazônico e cerrado, também conhecido como miriti, coco buriti e palmeira-do-brejo. A planta cresce em pântanos próximos a cursos de água permanentes e no topo de montanhas, o que é uma vantagem uma vez que estas áreas não são adequadas para outras atividades agrícolas (REIS; SCHMIELE, 2019). A polpa do buriti é utilizada pela população local no preparo de sucos, geleias, sorvetes, vinhos e bebidas fermentadas. Os alimentos e as bebidas feitas com a fruta também são vendidos nos mercados locais, gerando renda para a população e garantindo a manutenção da cultura local (MANHAES et al., 2015). O óleo e a polpa do buriti são comumente utilizados para prevenir e tratar algumas patologias em humanos, devido às propriedades antimutagênicas, antibacterianas e terapêuticas

(KOOLEN et al., 2018; VAN DER HOEK; SOLAS; PEÑUELA, 2019). Esse fruto possui importantes bioativos como terpenóides, esteróides, tococromanóis, ácidos orgânicos, fenólicos e flavonóides, além de apresentar cerca de 20% de conteúdo lipídico rico em ácidos graxos insaturados, como o ômega 9 ácido oleico (65,6 %) e um alto teor energético (BATAGLION et al., 2020). Além disso, o buriti contém carotenóides (especialmente o β -Caroteno), flavonóides, ácido ascórbico, bem como uma gama de antioxidantes e vitamina A, do complexo B, cálcio e ferro (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022).

Na aquicultura, o uso do buriti está descrito em apenas dois trabalhos na literatura avaliando a suplementação alimentar para camarões, sendo que nenhum deles aborda aspectos de sanidade ou imunidade. Dietas suplementadas com polpa de buriti (até 10%) resultam em aumentos na quantidade de carotenóides, flavonóides no hepatopâncreas e músculo, além de melhorar a capacidade antioxidante em *P. vannamei* (SIMIÃO et al., 2020). Em dieta suplementada com óleo de buriti (20%) para alimentação do camarão dulcícola *Macrobrachium amazonicum*, observou-se maior biomassa final durante o cultivo, indicando afetar positivamente o desempenho zootécnico da espécie (GUERRA et al., 2019).

Por fim, outra planta do bioma amazônico com potencial uso para a alimentação animal, é o pracaxi (*Pentaclethra maculosa*), nativo do bioma amazônico e vários países da América Central e Caribe (TEIXEIRA, et al.; 2020; VIANA, et al. 2011; DE OLIVEIRA, et al. 2019; XIMANGO, et al. 2022). As sementes do pracaxi possuem compostos bioativos como flavonóides, taninos, saponinas, catequinas, quercetinas, alcaloides e antocianinas (DOS SANTOS COSTA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2020). Esses compostos estão também presentes em outras plantas e já foram avaliados como compostos bioativos (isolados) na suplementação alimentar de crustáceos decápodos, havendo relatos de aumento de sobrevivência nas infecções virais (ZHANG; XIAO; ZHU, 2021) e bacterianas (BOLÍVAR-RAMÍREZ et al., 2022). A **Figura 4** ilustra essas plantas do bioma amazônico.

Figura 4: Representação ilustrativa de espécimes e frutos das plantas de açai, buriti e pracaxi



Figura 4. Espécimes de açai, buriti e pracaxi e seus frutos respectivos: (a-b) açai (*Euterpe oleraceae*), (c-d) buriti (*Mauritia flexuosa*) e (e-f) pracaxi (*Pentaclethra macroloba*). Fonte: adaptado de MORAIS et al. 2022; LAMARÃO et al. 2023; LAURINDO et al. 2023.

Apesar do seu potencial, até o momento não há registros na literatura de estudos sobre o efeito da suplementação alimentar de camarões *P. vannamei* com açai, pracaxi e buriti sobre a imunocompetência e resistência frente a infecções virais. Estudos desta natureza poderão contribuir para o controle e prevenção de enfermidades nos cultivos. Para preencher essa lacuna do conhecimento, o presente estudo, propôs avaliar a imunocompetência de juvenis *P. vannamei* alimentados com dieta suplementada com farelo de açai, buriti e pracaxi, mediante análises hemato-imunológicas dos diferentes imunoparâmetros e o potencial efeito protetor contra o WSSV. Considerando que estes animais não podem ser vacinados, a utilização de compostos bioativos na dieta pode contribuir no desenvolvimento de ferramentas que visem o controle de enfermidades na carcinicultura. No presente estudo será inicialmente apresentado a parte experimental referente a avaliação com dietas crescidas de um dos farelos (açai, buriti ou pracaxi) e, em seguida, enfocando os resultados com as dietas suplementadas somente com açai. Os resultados deste trabalho serão submetidos para publicação na revista *Aquaculture International* (F.I. 2,9).

1.1 OBJETIVOS

1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a imunocompetência de camarões juvenis *Penaeus vannamei* alimentados com dietas suplementadas com farelo de açaí, buriti e pracaxi e seu efeito protetor contra infecção pelo Vírus da Síndrome da Mancha Branca.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a condição geral de imunocompetência dos animais após 30 dias de suplementação alimentar através da contagem total de hemócitos, atividade da fenoloxidase, concentração de proteínas totais do soro e capacidade aglutinante da hemolinfa;
- b) Determinar o nível de inclusão de farelo de açaí, buriti e pracaxi (4% ou 8%) capaz de induzir melhor imunocompetência aos camarões;
- c) Determinar a capacidade aglutinante da hemolinfa contra hemácias de cã e bactérias marinhas, Gram-positivas (*Lactobacillus plantarum*, *Microbacterium maritypicum* e *Corynebacterium stationis*) e Gram-negativas (*Vibrio nigripulchritudo*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Aeromonas hydrophila*);
- d) Avaliar a sobrevivência dos camarões desafiados pelo vírus da Síndrome da Mancha Branca após suplementação alimentar com farelo de açaí por 30 dias.

1.4 ESTRUTURA DO TRABALHO

O desenvolvimento deste trabalho está apresentado na forma de artigo científico que será submetido à publicação na revista *Aquaculture International*.

2 ARTIGO CIENTIFICO

Imunocompetência de camarões marinhos alimentados com dietas suplementadas com plantas do bioma amazônico, com ênfase no farelo de açaí (*Euterpe oleraceae*)

Abdon de O. Vieira¹, José Stênio A. R. Junior¹, Felipe W. Mendonça², Rafael D. Rosa¹, Luciane M. Perazzolo^{1*}

¹Laboratório de Imunologia Aplicada à Aquicultura, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brasil

²Empresa Prospera Nutri®– Florianópolis/SC

*Autor Correspondente: Tel.: +55 483721 4196; Fax: +55 48 3721 5528E-mail: l.m.perazzolo@ufsc.br (L.M.Perazzolo)

RESUMO

A utilização de medidas profiláticas para prevenção das doenças tem sido amplamente investigada nos últimos anos. A busca por compostos que aumentem a imunocompetência dos animais durante os cultivos é fundamental para o desenvolvimento sustentável da carcinicultura. Nesse contexto, plantas do bioma amazônico como açai, buriti e pracaxi, têm potencial para serem incluídas na dieta de organismos aquáticos devido à sua riqueza em compostos bioativos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e nutraceuticas. Neste estudo, avaliou-se o estado imunológico de camarões juvenis *Penaeus vannamei* alimentados com ração suplementada acrescida de farelo de açai a 4% ou 8% (A4 ou A8), farelo de buriti com 4% ou 8% (B4 ou B8) e farelo de pracaxi com 4% ou 8% (P4 ou P8). Foram realizadas análises bioquímicas (parâmetros hemato-imunológicos) e um desafio viral mediante infecção sistêmica contra o vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV), DL_{50/15}. Os camarões alimentados com A8 apresentaram melhores condições gerais de imunocompetência em comparação com os demais tratamentos, possivelmente devido à concentração de farelo de açai. Camarões alimentados com B4 e A8 apresentaram maior número de células imunocompetentes circulantes (CTH) e camarões alimentados com P4 e A8 revelaram maior capacidade de atividade antimicrobiana intermediada pela enzima de melanização (PO). Independentemente do farelo vegetal utilizado na ração, os camarões apresentaram maior capacidade aglutinante da hemolinfa, sugerindo uma melhor capacidade de reconhecer e imobilizar agentes patogênicos. Curiosamente, a capacidade aglutinante dos eritrócitos caninos foi mais expressiva para o soro de animais alimentados por A8 e B8. Em relação às bactérias, a patogênica Gram-negativa *Vibrio harveyi*, foi mais reconhecida e aglutinada pelo soro dos animais alimentados por A4, B4, B8, P4 e P8. A outra bactéria patogênica Gram-negativa *V. nigripulchritudo*, também foi potencialmente reconhecida e aglutinada pelo soro de animais alimentados com A4, A8 e B4. A bactéria patogênica Gram-negativa *Aeromonas hydrophila* foi expressivamente aglutinada pelo soro dos animais alimentados com A8. Por outro lado, a aglutinação da bactéria Gram-positiva *Microbacterium maritypicum* foi superior com o soro dos animais alimentados com A4, B4, B8 e P8, enquanto para a bactéria Gram-positiva *C. stationis*, a aglutinação foi mais eficiente com o soro dos animais alimentados por A8. Por fim, quanto ao desafio com WSSV, a suplementação com farelo de açai a 8% não resultou em aumento da sobrevivência dos animais em comparação ao grupo controle, possivelmente associado a alta carga viral. Em conjunto, os resultados fornecem novas informações sobre a utilização de diferentes plantas do bioma amazônico na alimentação de camarões, visando melhorar a imunocompetência desses animais e prevenir doenças na carcinicultura.

Palavras-chave: Peneídeos; compostos bioativos; imunoparâmetros; suplementação alimentar.

2.1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce mundialmente, devido ao desenvolvimento de tecnologias e intensificação nos sistemas de produção de animais (VERDEGEM et al., 2023). Atualmente, a aquicultura representa uma das principais alternativas para suprir a demanda de alimento de forma sustentável, também chamada de “revolução azul” (MANSOUR et al., 2022). A espécie *Penaeus vannamei* é cultivada em diversas regiões do mundo, devido as suas excelentes características zootécnicas, como boa taxa de conversão alimentar, crescimento vigoroso e alta fecundidade (BRIGGS M., SIMON FUNGE-SMITH; 2004). O equilíbrio em sistemas aquáticos é sensível e as intempéries climáticas, juntamente com variações bruscas na qualidade de água, podem levar à depleção do sistema imune dos camarões, tornando-os particularmente suscetíveis a doenças que impactam o sucesso da atividade (PAUL; VOGL, 2011).

No cultivo de peneídeos, as viroses e as bacterioses são as principais doenças que mais impactam e comprometem economicamente a atividade (KIBENGE, 2019; LIGHTNER et al., 2012). O vírus da síndrome da mancha branca (*White spot syndrome virus* ou WSSV) é considerado o patógeno mais importante na carcinicultura mundial, sendo responsável por afetar drasticamente populações inteiras desde o seu surgimento em 1992 (FLEGEL, 2012; LIGHTNER et al., 2012) e é capaz de infectar todos os crustáceos da ordem Decapoda, infectando células de diversos tecidos (KOU et al., 1998). Quanto as bacterioses, todos os crustáceos aquáticos são susceptíveis à infecção pelos vibrios. Perdas substanciais de produção são frequentemente observadas como consequência de surtos de vibrioses e doenças como a doença da necrose hepatopancreática aguda (AHPND), que têm afetado a produção de comercial de camarões, como por exemplo, *Penaeus monodon* e *Penaeus vannamei* (SCHRYVER et al., 2014).

Para se protegerem, os camarões contam apenas com uma imunidade inata capaz de ativar uma série de mecanismos celulares e moleculares de defesa. Os principais mecanismos atualmente reconhecidos são: (1) reconhecimento do não-próprio por receptores/proteínas de reconhecimento-padrão (PRRs/PRPs); (2) ativação de vias de sinalização intracelular; (3) fagocitose, encapsulamento e nodulação, associadas à formação de armadilhas extracelulares de ácidos nucleicos (ETOs); (4) produção de moléculas microbicidas, como as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e os peptídeos antimicrobianos (PAMs); (5) melanização mediada pelo sistema de ativação da pró-fenoloxidase (proPO), gerando moléculas intermediárias altamente citotóxicas; (6) coagulação da hemolinfa mediada por

transglutaminases; (7) reconhecimento e aglutinação celular mediada por lectinas e, (8) os sistemas antivirais mediados pela interferência por RNA (RNAi), citocinas *interferon-like*, apoptose e autofagia (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2014; KULKARNI et al., 2021). A ausência de um sistema imune adaptativo impossibilita o uso de vacinas ou terapias baseadas no reconhecimento específico de patógenos que evitem infecções recorrentes em camarões (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2014; BUCHMANN, 2014). Assim, torna-se fundamental a adoção de medidas profiláticas que promovam o controle de surgimento de doenças durante o cultivo, bem como o uso de substâncias imunoestimulantes que aumentem a imunocompetência dos animais, tornando-os menos suscetíveis aos patógenos. Nesse cenário, o uso de ingredientes nas rações na forma de extratos brutos ou purificados de plantas, como as de origem do bioma amazônico, são de potencial interesse para a carcinicultura brasileira. Nesse cenário, destaca-se a adição farelo de plantas do bioma amazônico, como açaí (*Euterpe oleraceae*), pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) ou buriti (*Mauritia flexuosa*) devido à presença de compostos bioativos e propriedades nutracêuticas reconhecidas. O fruto do açaí é considerado uma boa fonte nutricional pois é rico em vitaminas e minerais, além de apresentar compostos bioativos, como pigmentos, flavonóides, carboidratos, esteróis e ácidos graxos (NERI-NUMA et al., 2018). A análise da composição apresenta altos níveis de ácidos graxos (ômega 6 e 9), carboidratos, fibras, vitaminas (A, C, D e E), proteínas, minerais (Mn, Fe, Zn, Cu e Cr) e antioxidantes (BICHARA & ROGEZ, 2011; DEMBITSKY et al., 2011; SCHAUSS, 2011; GORDON et al., 2012). Dentre os compostos bioativos encontrados no açaí destacam-se os produtos fenólicos, flavonóides e antocianinas, que possuem, propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias em humanos (SCHAUSS, 2016). Além da ação antioxidante e anti-inflamatória do açaí, são também relatadas propriedades presentes nos flavonóides como efeitos anti-neurodegenerativos, antimutagênicos e antimicrobianos (NILE; PARK, 2014).

Apesar do potencial imunoestimulante destes ingredientes, não há até o momento registros na literatura de estudos sobre o efeito da suplementação alimentar de camarões *P. vannamei* com açaí, pracaxi e buriti sobre a imunocompetência e resistência frente a infecções virais. Para preencher essa lacuna do conhecimento, o presente estudo, propôs avaliar a imunocompetência de juvenis *P. vannamei* alimentados com dieta suplementada com farelo de açaí, buriti e pracaxi, mediante análises hemato-imunológicas dos diferentes imunoparâmetros e o potencial efeito protetor do farelo de açaí contra o WSSV. Estudos desta natureza poderiam contribuir para o controle e prevenção de enfermidades nos cultivos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Animais e delineamento experimental

Camarões juvenis de *Penaeus vannamei* de ambos os sexos, aparentemente saudáveis e em estágio de intermuda, foram utilizados nesse estudo. Os animais foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Camarões Marinhos (LCM/UFSC) e transportados para o setor de aquários do Laboratório de Imunologia aplicada à Aquicultura (LIAA/UFSC). Dois experimentos foram conduzidos, utilizando-se 210 animais ($15 \pm 2,4$ g) no **Experimento 1** (item 2.2.2) e 120 animais (7 ± 1 g) no **Experimento 2** (item 2.2.3). Os camarões foram aleatoriamente alocados em aquários de 40 L (10 animais/aquário), preenchidos com 25 L de água marinha artificial (35 g/L de salinidade; *Blue Treasure Aquarium Sea Salt*®), dispostos em sistemas de recirculação fechada de água e totalmente independentes entre si (sala de pré-infecção e sala de infecção).

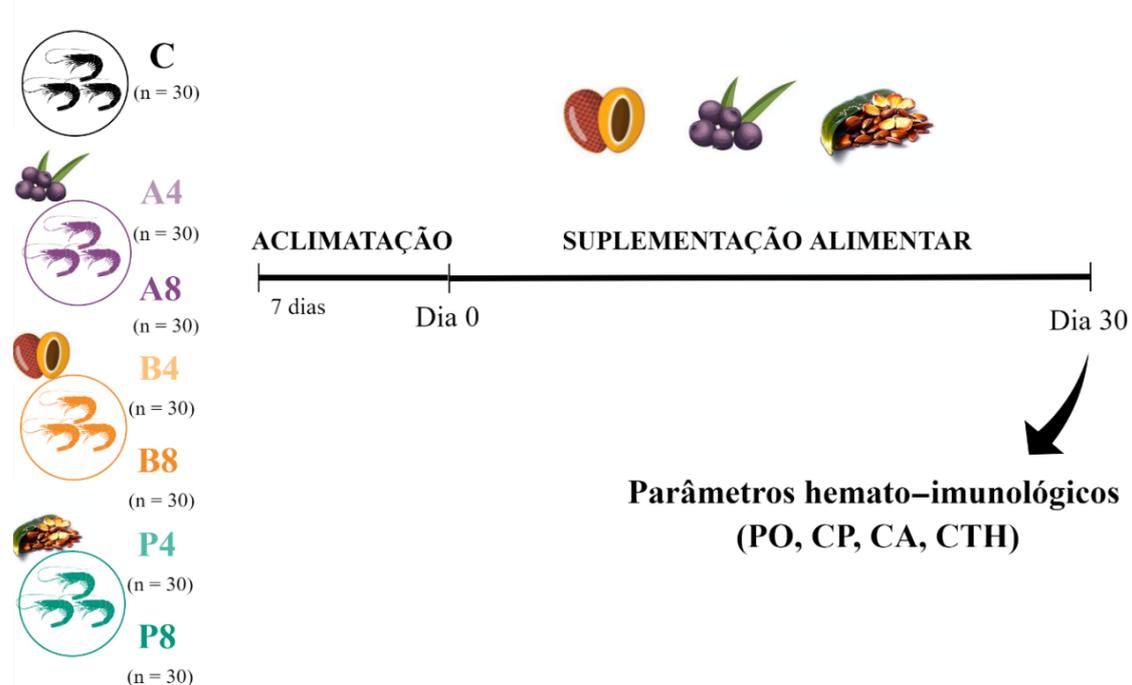
Ao longo dos experimentos, os seguintes parâmetros de qualidade de água foram monitorados regularmente: salinidade (g.L^{-1}), pH, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), e alcalinidade (CaCO_3 mg. L^{-1}), amônia total (mg. L^{-1}) e nitrito (N-NO_2 mg. L^{-1}) (LINDHOLM-LEHTO, 2023). A temperatura (28°C) e a aeração da água foram mantidos constantes durante os experimentos. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (manhã e noite) com fornecimento de 3 % da biomassa viva. O delineamento experimental foi constituído de dois experimentos, como detalhado a seguir (**Figuras 5 e 6**).

2.2.2 Experimento 1: definição das melhores concentrações dos ingredientes nas rações

Inicialmente um experimento foi realizado para definir as melhores concentrações dos ingredientes nas rações suplementadas (farelos de pracaxi, buriti ou açaí, 4 e 8%) capaz de induzir melhor imunocompetência nos animais. As rações suplementadas foram produzidas pela Indústria e comércio de alimentos desidratados Alcon® Ltda, tendo como base a ração *Nano Shrimp Stick* e os ingredientes vegetais foram fornecidos pela empresa Prospera Nutri®, de forma também a serem isocalóricas e isoprotéicas. As recomendações nutricionais mínimas estabelecidas para dietas de *P. vannamei* seguiram as diretrizes da *International Aquaculture Feed Formulation Database* (IAFFD), levando também em consideração o cultivo de camarões em sistemas de recirculação de água (RAS, *Recirculating Aquaculture System*) (EMERENCIANO et al., 2022). Após um período de aclimação de sete dias no LIAA, os animais foram divididos em sete grupos experimentais, em triplicata (10 animais/réplica/tratamento; 30 animais/grupo), como segue: grupo C (ração controle: *Nano*

Shrimp Stick); **A4** (ração suplementada com farelo de açaí a 4%); **A8** (ração suplementada com farelo de açaí a 8%); **B4** (ração suplementada com farelo de buriti a 4%); **B8** (ração suplementada com farelo de buriti a 8%); **P4** (ração suplementada com farelo de pracaxi a 4%); **P8** (ração suplementada com farelo de pracaxi a 8%). A composição nutricional das diferentes rações experimentais está apresentada pela **Tabela 1**. As unidades experimentais foram organizadas em triplicata (n = 30/tratamento) e os animais alimentados por 30 dias. A avaliação do ganho de peso corporal foi feita mediante peso inicial (Dia 1) e peso final (Dia 30). O esquema desta etapa experimental está apresentado pela **Figura 5**.

Figura 5: Delineamento do Experimento 1



Dia 0: início da alimentação (30 dias) com ração sem suplementação (grupo experimental C) ou suplementada com farelo de açaí a 4% (**A4**) ou 8% (**A8**); ração suplementada com farelo de buriti a 4% (**B4**) ou 8% (**B8**); ração suplementada com farelo de pracaxi a 4% (**P4**) ou 8% (**P8**). **Dia 30:** Coleta de hemolinfa e obtenção do soro para as análises dos imunoparâmetros: **PO:** atividade da fenoloxidase; **CP:** concentração de proteínas totais da hemolinfa; **CA:** capacidade aglutinante da hemolinfa; **CTH:** contagem total de hemócitos.

Tabela 1: Composição centesimal das diferentes rações experimentais

Ração	Umidade (%)	PB (%)	EE (%)	MF (%)	MM (%)	EM (kcal/kg)
C	7,68	35,20	5,62	2,42	7,94	3.522
A4	7,78	34,24	7,13	2,93	7,78	3.616
A8	7,57	33,27	8,66	3,43	7,63	3.688
B4	7,95	34,09	5,69	4,53	7,82	3.472
B8	7,89	32,99	5,77	6,64	7,71	3.399
P4	7,92	34,84	6,43	3,31	7,79	3.560
P8	7,84	34,47	7,26	4,20	7,63	3.576

C (Alcon Shrimp Nano Stick – ração base oferecida ao grupo controle); **A4** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 4% de farelo de açaí); **A8** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 8% de farelo de açaí); **B4** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 4% de farelo de buriti); **B8** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 8% de farelo de buriti); **P4** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 4% de farelo de pracaxi); **P8** (Alcon Shrimp Nano Stick acrescida de 8% de farelo de pracaxi). **PB** (Proteína bruta), **EE** (Extrato etéreo), **MF** (Matéria fibrosa), **MM** (Material mineral), **EM** (Energia metabolizável).

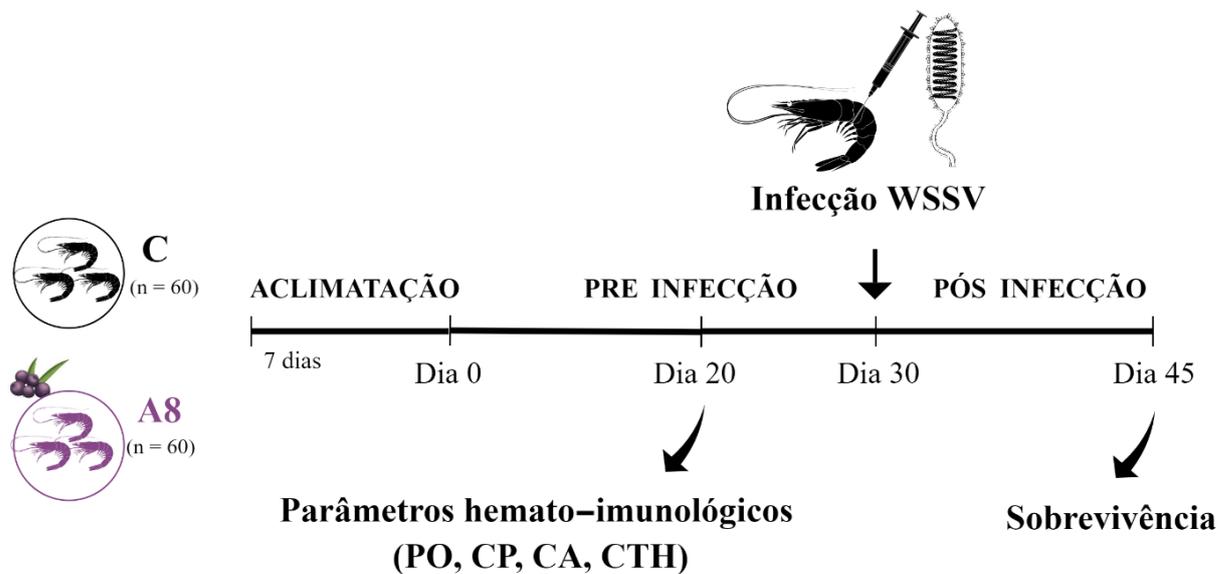
2.2.3 Experimento 2: avaliação da imunocompetência dos camarões alimentados com dieta suplementada com farelo de açaí (8%) e desafiados com WSSV

Com base nos resultados obtidos no **Experimento 1** (item 2.2), foi conduzido o segundo experimento ou **Experimento 2** (**Figura 6**) que avaliou mais especificamente a imunocompetência de camarões alimentados com ração **A8** e seu efeito protetor contra uma infecção sistêmica pelo WSSV. Após a aclimação dos animais, os mesmos foram aleatoriamente divididos em dois grupos experimentais, em triplicata (10 animais/réplica/tratamento; 30 animais/grupo). Os animais foram alimentados por 20 dias com uma das rações experimentais: **C** (Alcon Shrimp Nano Stick): ração sem suplementação com farelo de açaí e **A8** (Alcon Shrimp Nano Stick - Açaí 8%): ração suplementada com farelo de açaí a 8%. No 20º dia da suplementação, uma parte dos camarões ($n = 30/\text{grupo}$) de cada grupo foi sacrificado por hipotermia para coleta de hemolinfa (3 *pools* de 3-5 animais/tratamento) para análises dos imunoparâmetros (abaixo detalhado a metodologia).

Os animais não coletados no 20º dia, permaneceram no sistema por mais 10 dias ($n = 30/\text{grupo}$) e foram desafiados com inóculo de WSSV no 30º dia (item 2.4), por meio de injeção intramuscular com solução viral (100 μl , diluição 4×10^{-8}), capaz de matar 50% dos animais em 15 dias, correspondendo à uma $DL_{50/15}$. O período inicial de 30 dias de suplementação foi definido como *pré-desafio viral*, cujo objetivo foi avaliar no 20º dia o potencial de imunocompetência dos camarões suplementados com 8% farelo de açaí, independentemente da infecção por WSSV. Após o desafio, a alimentação foi continuada por mais 15 dias e a mortalidade monitorada cinco vezes ao dia, afim de retirar os animais mortos para evitar a disseminação do vírus na água e uma possível reinfecção vertical. Os aquários foram desconectados do sistema de recirculação fechada e a água renovada a 30% do volume/dia.

Após o término dos experimentos, a água e o material utilizado (aquários, mangueiras, etc.) foram desinfetados por hipercloração com dióxido de cloro (Dioxiplus® a 3 mg/mL), por 24 a 48 horas, seguindo as recomendações do fabricante. Todos os camarões infectados foram anestesiados através de choque hipotérmico (banho de gelo de 10 minutos) e autoclavados para o descarte definitivo. Detalhes do desenho experimental está apresentado na **Figura 6**.

Figura 6: Delineamento do Experimento 2



Dia 0: início da alimentação (30 dias) com ração sem suplementação (grupo experimental C) ou suplementada com farelo de açaí a 8% (A8). **Dia 20:** Coleta de hemolinfa e obtenção do soro para as análises dos imunoparâmetros: **PO:** atividade da fenoloxidase; **CP:** concentração de proteínas totais da hemolinfa; **CA:** capacidade aglutinante da hemolinfa; **CTH:** contagem total de hemócitos. **Dia 30:** infecção com WSSV (DL_{50}), a taxa de sobrevivência foi verificada após infecção experimental até o 45º dia.

2.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATO-IMUNOLÓGICOS

Os imunoparâmetros celulares e humorais realizados foram comparados entre o grupo controle e os grupos experimentais, sendo eles: contagem total de hemócitos (CTH), concentração total de proteínas séricas (CP), atividade da fenoloxidase (PO) e título de aglutinação da hemolinfa (CA) (adaptado de PERAZZOLO et al. 2002; CANTELLI et al. 2019; PILOTTO et al. 2019).

2.3.1 Coleta de Hemolinfa e obtenção do Soro

A hemolinfa foi coletada na parte ventral do camarão, utilizando-se seringas resfriadas (1 ml), contendo ou não uma solução anticoagulante MAS (Solução de Alsever Modificada, 336 mM NaCl, 115 mM glicose, 27 mM de sódio, 9 mM EDTA, pH 7,2) acrescida de 4% de formaldeído. A coleta foi feita em 3 *pools* de 3 animais por tratamento, respeitando a proporção

mínima de 1:2 (hemolinfa: MAS-formol) e utilizada para a Contagem Total de Hemócitos (CTH) (item 2.4.4). Paralelamente, outros animais de cada tratamento (3 *pools* de 5 animais por tratamento) foram amostrados para a obtenção do soro, a partir de hemolinfa coletada sem anticoagulante e deixada coagular por 1,5 horas em temperatura ambiente. O coágulo formado foi macerado com bastão de vidro e a mistura centrifugada repetidamente a $6.000 \times g$ por 10 min, a 4°C . O precipitado foi então descartado, o sobrenadante aliquoteado e congelado a -20°C para uso posterior e avaliar a atividade da fenoloxidase (item 2.3.2), a concentração de proteínas totais (item 2.3.2) e a capacidade aglutinante (item 2.3.3).

2.3.2 Atividade da fenoloxidase (PO) e concentração de proteínas totais (CP)

A atividade da enzima PO de cada *pool* de amostras foi avaliada com $50 \mu\text{L}$ de soro diluído $15 \times$ em TBS-PO (50 mM Tris, 330 mM NaCl, 5 mM CaCl_2 , 10 mM MgCl_2 , pH 7,4) depositados em microplacas de fundo chato e em presença de $50 \mu\text{L}$ de tripsina (1 mg/mL, em água ultrapura). Após 5 min de incubação a 20°C , igual volume do substrato enzimático LDOPA ($3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, em água ultrapura) foi adicionado e a formação do pigmento vermelho coral DOPA-cromo foi quantificada em leitora de microplaca a $\lambda = 490 \text{ nm}$ (Multileitora Infinite M200 TECAN), nos tempos 0, 5 e 10 min. A atividade da PO foi expressa pela variação da absorbância por minuto por miligrama de proteína, onde uma unidade da atividade enzimática corresponde ao aumento de 0,001 na absorbância por minuto e por miligrama de proteína (SODERHALL; HALL, 1984). A concentração de proteínas totais da hemolinfa representada por cada *pool* de amostras, foi determinada pelo método de ensaio do ácido bicinchonínico, Kit Pierce BCA Protein Assay (Thermo Fisher Scientific), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como proteína-padrão. Utilizou-se o protocolo para microplacas, preconizado pelo fabricante. Para tal, foi utilizado soro diluído $1.000 \times$ e a absorbância mensurada em leitora de microplacas (Multileitora Infinite M200 TECAN) a $\lambda = 562 \text{ nm}$. Os ensaios foram realizados em quintuplicatas (PO) ou triplicatas (CP).

2.3.3 Capacidade aglutinante da hemolinfa (CA) contra eritrócitos caninos e bactérias marinhas

A capacidade aglutinante da hemolinfa dos animais de cada grupo experimental foi avaliada seguindo o protocolo descrito em (DO NASCIMENTO FERREIRA et al., 2024). A titulação de lectinas/aglutininas na hemolinfa dos camarões foi avaliada em cada *pool* de amostras, utilizando-se $50 \mu\text{L}$ de soro depositados em microplacas de 96 poços (fundo em “U”),

sendo serialmente diluído em tampão TBS-Lec (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl₂, 5mM MgCl₂, pH 7,4). As amostras foram incubadas com igual volume de uma suspensão de eritrócitos de cão (2%), por 1,5 h a 20 °C, em câmara úmida e, nos poços controle, o soro foi substituído por tampão. O título aglutinante natural do soro foi expresso como o recíproco da maior diluição ainda capaz de apresentar aglutinação. A capacidade aglutinante da hemolinfa contra diferentes microrganismos de cada grupo experimental foi avaliada através da incubação do soro (50 µL) com uma das soluções de bactérias inativadas a seguir: (I) Gram-negativas: *Vibrio nigripulchritudo* CIP 103195, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 e *V. harveyi* ATCC 14126, *Vibrio parahaemolyticus* IOC 18950 e (II) Gram-positivas: *Lactobacillus plantarum*, *Mycrobacterium maritipicum* CPI 105733, *Corynebacterium* (= *Brevibacterium*) *stationis* ATCC 14403 (adaptado de DO NASCIMENTO FERREIRA et al., 2024).

Inicialmente, as bactérias foram cultivadas em meio LB-NaCl (1 % peptona, 0,5 % extrato de levedura, 3 % NaCl, pH 7,4) ou meio LB (2% peptona, 1% extrato de levedura, pH 7,4) por 12 h a 20°C ou 30°C sob agitação constante (120 rpm). Posteriormente, as bactérias foram inativadas por tratamento térmico em 70°C durante 1 hora. Em seguida, as soluções bacterianas foram lavadas três vezes com TBS-lectina (50 mM Tris, 5 mM MgCl₂, 10 mM CaCl₂ e 330 mM NaCl, pH 7,4) por centrifugação a 2.000 ×g por 10 min a 20°C. A fim de avaliar a efetividade da inativação, alíquotas de cada cultura bacteriana foram submetidas a um novo crescimento. Após confirmação da inativação a concentração bacteriana foi ajustada a uma densidade óptica de 2,0 (DO_{600nm}; espectrofotômetro WPA®) e utilizada nos ensaios de aglutinação. Para isso, 50 µL de soro (diluído 10x) foram serialmente diluídos em TBS-lectina, utilizando microplacas de 96 poços (fundo em “U”), e incubados com mesmo volume de uma das suspensões bacterianas, ou TBS-lectina (controle negativo), por 2 h à temperatura ambiente. O título aglutinante foi observado em microscópio invertido (Axiovert 25®) e foi expresso como Log₂ do recíproco da maior diluição ainda capaz de aglutinar. Todos os ensaios foram realizados em duplicatas.

2.3.4 Contagem total de hemócitos (CTH)

Alíquotas de hemolinfa (coletadas diretamente em MAS-formol) de cada *pool* de animais/condição foram diluídas (5 ou 10 x) em MAS-formol para realizar a contagem de hemócitos em câmara de Neubauer, utilizando o campo de contagem para leucócitos (BEÇAK; PAULETE, 1976). Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

2.4 PREPARO DO INÓCULO VIRAL E DESAFIO SISTÊMICO

Todos os experimentos utilizando a forma infectante do WSSV foram feitos no LIAA, respeitando a legislação local vigente quanto às normas de segurança preconizadas pela CIDASC (Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina). O inóculo viral foi preparado a partir de músculos de camarões sabiamente infectados com WSSV por Nested-PCR, segundo descrito em PILOTTO et al. (2018). As alíquotas (1 mL) foram armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) e em nitrogênio líquido (-196 °C), sendo uma parte utilizada para a determinação prévia da dose letal, capaz de matar cerca de 50% dos animais (DL50) no período de 15 dias (MESLIN; KAPLAN; KOPROWSKI, 1996).

2.5 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

No experimento 1 a pesagem dos animais foi realizada somente no início e no final do experimento. No experimento 2 a pesagem foi realizada semanalmente, a conversão alimentar obtida a partir da quantidade de alimento ofertado, considerando o ganho de peso. Os parâmetros utilizados para as análises foram os seguintes:

1. Média do peso inicial (g): peso inicial (g) / número inicial de camarões;
2. Média do peso final (g): peso final (g) / número final de camarões;
3. Ganho de peso (g): peso final (g) – peso inicial (g);
4. Ganho de peso semanal (g/semana⁻¹): [peso final (g) – peso inicial (g)] / tempo (semana);
5. Fator de conversão alimentar (FCR): alimento ofertado (g) / ganho de peso (g);
6. Sobrevivência (%): (número final de camarões / número inicial de camarões) × 100. (SILVA et al., 2020; PRATES; E. 2021; SANT’ANNA, M. 2021).

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos referentes aos parâmetros hemato-imunológicos foram considerados diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$, usando o teste ANOVA de uma via com *post-hoc* de Tukey (PO, CP e CTH) ou o teste Kruskal-Wallis com *post-hoc* de Dunn (CA). Os dados estão apresentados em gráficos com todos os tratamentos em comparação com ANOVA de uma via em relação ao grupo controle. Os parâmetros zootécnicos foram aplicados teste ANOVA de uma via com *post-hoc* em Dunnet ou Tukey, $p < 0,05$.

2.7 RESULTADOS

2.7.1 Experimento 1: definição das melhores concentrações dos ingredientes nas rações

2.7.2 Parâmetros de qualidade da água

Os diferentes parâmetros de qualidade de água foram mensurados ao longo dos 30 dias de suplementação alimentar dos camarões e os valores médios estão apresentados na (Tabela 2). A concentração média de amônia total no sistema foi de $1,95 \pm 1,20$ mg. mL⁻¹, registrando-se, contudo, um importante pico de elevação no 8º dia (4 mg. mL⁻¹) equivalente ao pico de 0,051 mg. mL⁻¹ de amônia tóxica e 14º dia (2,75 mg. mL⁻¹), que foi imediatamente corrigido mediante renovação semanal de 30% do volume de água do sistema. Quanto à concentração de nitrito, esta manteve-se estável apresentando um valor médio de $2,46 \pm 0,35$ mg. mL⁻¹, apesar de também ter havido um leve pico deste composto nitrogenado no 24º dia do cultivo (3 mg. mL⁻¹) (dados não mostrados). Seguido ao aumento da amônia e nitrito, registrou-se uma diminuição na alcalinidade da água no 17º dia (70 mg CaCO₃.L⁻¹), que foi corrigida para 22º dia (120 mg CaCO₃.L⁻¹), com a adição de 12 g/L diário de NaHCO₃ ao sistema, este parâmetro é considerado ideal entre 100 a 140 mg L⁻¹ de CaCO₃ (HERNANDEZ, 2000). Os demais parâmetros de qualidade de água (salinidade, pH e temperatura) mantiveram-se com menores variações.

Tabela 2: Variáveis de parâmetros de qualidade de água durante o período de alimentação de 30 dias em sistema de recirculação de água

Parâmetros	Média e desvio padrão
Amônia total (mg.L ⁻¹)	1,90 ± 1,2
Nitrito (N-NO ₂ – mg.L ⁻¹)	2,46 ± 0,33
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	116,25 ± 45
Salinidade (g/L)	34,90 ± 0,29
pH	7,65 ± 0,42
Temperatura (°C)	28 ± 0

Média ± desvio padrão das variáveis de qualidade da água após 30 dias de suplementação alimentar de juvenis de *Penaeus vannamei* em sistema de recirculação de água (RAS).

2.7.3 Os animais alimentados de B8 e P4 obtiveram melhores índices de desempenho zootécnico

Os parâmetros zootécnicos avaliados foram ganho de peso e taxa de sobrevivência dos animais alimentados com as rações suplementadas. Os parâmetros zootécnicos foram diferentes estatisticamente para os tratamentos **B8** e **P4**, na qual, o grupo **B8** apresentou maior média de peso final ($18,23 \pm 3,46$ g), ganho de peso ($2,58 \pm 0,79$ g) e 100% sobrevivência. Animais do

grupo **P4** também tiveram alta taxa sobrevivência ($93 \pm 1,15$ %) e maior ganho de peso ($1,29 \pm 0,43$ g) em relação ao grupo controle (**Tabela 3**). Valores negativos na média de peso final foram registrados nos grupos C, B4 e P8, associados às taxas de mortalidade de 17 a 30% nestes grupos. Em relação à taxa de sobrevivência, em quase todos os tratamentos foram registradas mortalidades, exceto, no grupo **B8** que não se registrou mortalidade durante os 30 dias de suplementação alimentar. O consumo alimentar ao longo do experimento foi completo em relação à oferta (3-4% da biomassa viva por dia), o que indica que as rações eram altamente palatáveis. Observou-se que os camarões consumiram o alimento dentro de 20 minutos após a oferta.

Tabela 3: Desempenho zootécnico de juvenis *Penaeus vannamei* no experimento 1

Tratamentos	Variáveis			
	Média peso inicial (g)	Média peso final (g)	Ganho de peso (g)	Sobrevivência (%)
C	15,54 ± 3,05	14,78 ± 2,45	-0,74 ± 0,87	83 ± 1,12
A4	14,16 ± 2,02	14,91 ± 2,43	0,74 ± 0,46	83 ± 1,15
A8	15,21 ± 2,04	15,78 ± 2,26	0,57 ± 0,47	83 ± 1,15
B4	16,64 ± 2,20	15,76 ± 3,60	-0,89 ± 2,84	83 ± 1,53
B8	15,65 ± 1,65	18,23 ± 3,46 *	2,58 ± 0,79 *	100 *
P4	12,89 ± 2,05	14,18 ± 2,62	1,29 ± 0,43 *	93 ± 1,15 *
P8	14,87 ± 2,78	12,45 ± 2,94	-2,42 ± 1,28	70 ± 1,73

Tabela 3. Média ± desvio padrão dos parâmetros zootécnicos após 30 dias de alimentação experimental de juvenis de *Penaeus vannamei* com diferentes dietas experimentais, ração sem suplementação (**C**), ração suplementada com farelo de açaí a 4% (**A4**) ou a 8% (**A8**), ração suplementada com farelo de buriti a 4% (**B4**) ou a 8% (**B8**), ração suplementada com farelo de pracaxi a 4% (**P4**) ou a 8% (**P8**). * $p < 0,05$.

2.7.4 Alguns parâmetros hemato-imunológicos diferiram em função da suplementação alimentar

Diferentes parâmetros hemato-imunológicos foram avaliados nos animais alimentados com as rações suplementadas com plantas do bioma amazônico. A atividade da fenoloxidase (PO), concentração proteica (CP) e a capacidade aglutinante da hemolinfa representam respostas imune-humorais, enquanto a contagem de hemócitos totais (CTH), se caracteriza como uma resposta celular. Após o período de 30 dias de suplementação alimentar, apenas dois imunoparâmetros se alteraram em função da suplementação: PO e CTH (**Figura 7**). Camarões alimentados com ração acrescida de buriti a 4% (**B4**) apresentaram uma quantidade de hemócitos circulantes 1,42x vezes superior ($41,2 \pm 4,1 \times 10^6$ cel.ml⁻¹) aos animais do grupo controle ($29 \pm 4,4 \times 10^6$ cel.ml⁻¹), recebendo ração não suplementada (**Figura 7A**). Já, os animais de todos os outros grupos não apresentaram alteração para esse imunoparâmetro. Por outro lado, animais que receberam ração suplementada com pracaxi a 4% (**P4**) apresentaram a

atividade da enzima associada à melanização, a fenoloxidase (PO) 1,63x vezes superior ($144,90 \pm 17,80$ U/min/mg) ao grupo controle ($88,80 \pm 24,70$ U/min/mg), como apresentado na **Figura 7B**. Já, nos outros grupos não foi registrada alteração nesse imunoparâmetro. A concentração de proteínas totais do soro apresentou valores similares entre os grupos, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos, como demonstrado na **Figura 7C**.

Figura 7: Parâmetros hemato-imunológicos em juvenis de *Penaeus vannamei* alimentados com ração suplementada com ingredientes de plantas do bioma amazônico

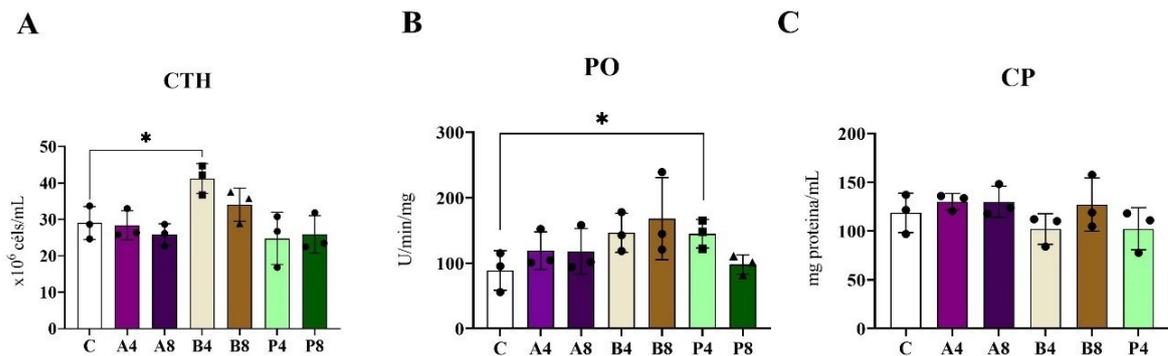


Figura 7. A: Contagem Totais de hemócitos (CTH); **B:** atividade da fenoloxidase (PO); **C:** concentração de proteínas totais do soro (CP). Os camarões foram alimentados por 30 dias com ração suplementada com farelo de açaí a 4% (A4), ou 8% (A8), farelo de buriti a 4% (B4) ou 8% (B8), farelo de pracaxi a 4% (P4) ou 8% (P8), ração sem suplementação (C, grupo controle). As barras representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,05$ (n = 3 pools de 4 animais/ tratamento).

Em relação à capacidade aglutinante da hemolinfa, os animais dos grupos **A8** e **B8** apresentaram uma maior capacidade de reconhecimento e aglutinação de eritrócitos caninos (aglutinante de $49.152\times$), que os animais alimentados com ração não suplementada, cujo título foi significativamente inferior ($24.576\times$) (**Figura 8A**). Quando o alvo foi bactérias marinhas, em especial a Gram-positiva comensal *Microbacterium maritypicum*, foi particularmente aglutinada pelos soros dos animais de quatro tratamentos cujos títulos foram estatisticamente superiores em **A4** ($1.536\times$ e $3.072\times$), **B4** ($3072\times$ e $6144\times$), **B8** ($6.144\times$ e $12.288\times$;) e **P8** ($3.072\times$), comparado àquele dos animais controle ($84\times$ e $768\times$) (**Fig. 8B**). De maneira interessante, a bactéria oportunista patogênica, *Vibrio nigripulchritudo*, foi mais reconhecida e aglutinada pelo soro dos camarões alimentados com ração acrescida de 4% de açaí (**A4** = $3072\times$) ou buriti (**B4** = $6.144\times$) e 8% de farelo de açaí (**A8** = $12.288\times$ e $24.576\times$), em relação ao título baixo registrado nos animais controle ($768\times$) (**Figura 8C**). Contudo, em relação a outra bactéria vibrionácea, patogênica oportunista, *Vibrio harveyi*, o soro dos camarões dos grupos suplementados, **A4** ($384\times$ e $768\times$), **B4** ($384\times$ e $768\times$), **B8** ($192\times$ e $384\times$), **P4** ($1.536\times$ e $768\times$) e **P8** ($384\times$ e $768\times$) apresentaram títulos aglutinantes significativamente maiores àqueles do grupo controle ($96\times$ e $192\times$) (**Fig. 8D**). Curiosamente, a aglutinação da bactéria Gram- negativa *Aeromonas hydrophila*, um conhecido patógeno de peixes, não foi diferencialmente

reconhecida ou aglutinada pelo soro dos camarões recebendo suplementação alimentar (**Figura 8E**). E, finalmente, não se observou aglutinação por nenhum dos soros avaliados, da bactéria comensal do intestino de camarões, a Gram-positiva *Lactobacillus plantarum*.

Figura 8: Capacidade aglutinante da hemolinfa de juvenis de *Penaeus vannamei* alimentados com rações suplementadas com ingredientes de plantas do bioma amazônico

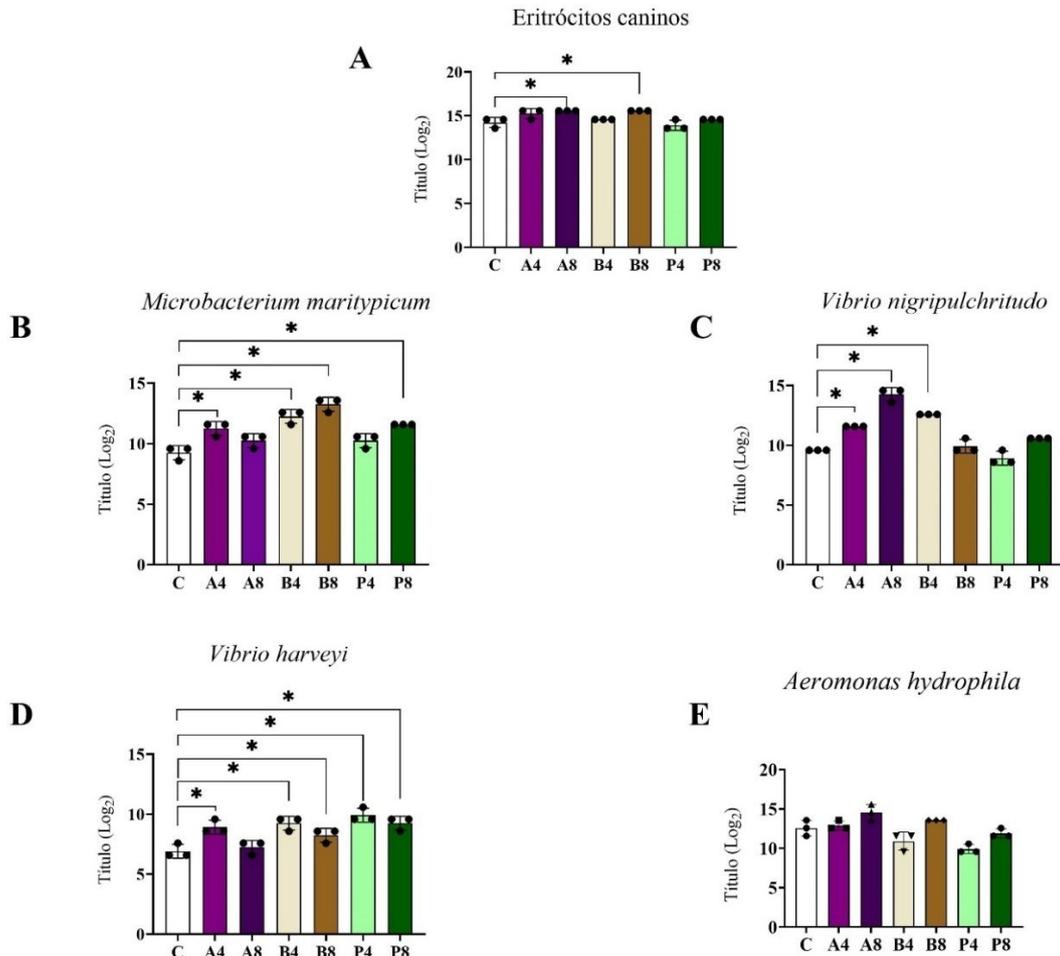


Figura 8. A: Eritrócitos caninos, **B:** Bactéria marinha Gram-positiva *Microbacterium maritypicum*; **C:** Bactéria marinha Gram-negativa *Vibrio nigripulchritudo*, **D:** Bactéria marinha Gram-negativa *Vibrio harveyi*; **E:** Bactéria marinha Gram-negativa *Aeromonas hydrophila*. Os camarões foram alimentados por 30 dias com ração suplementada com 4% de farelo de açaí (A4) ou 8% (A8), farelo de buriti a 4% (B4) ou 8% (B8), 4% de farelo de pracaxi (P4) ou 8% (P8), ração sem suplementação (C, grupo controle). As barras representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,05$ (n = 3 pools de 4 animais/ tratamento).

2.7.5 Experimento 2: avaliação da imunocompetência de camarões alimentados com dieta suplementada com farelo de açaí 8% e infectados por WSSV

2.7.6 Parâmetros de qualidade de água

Os diferentes parâmetros de qualidade de água foram mensurados ao longo dos 20 dias de suplementação alimentar dos camarões e os valores médios estão apresentados na **Tabela 4**.

Os parâmetros de qualidade de água apresentaram menores variações quando comparado ao Experimento 1. A alcalinidade ($171 \pm 18,10 \text{ mg. L}^{-1}$), o pH ($8,0 \pm 0,19$), a amônia total ($0,25 \pm 0,31 \text{ mg. L}^{-1}$), a temperatura ($28 \pm 0 \text{ }^\circ\text{C}$) e a salinidade ($35 \pm 0,19 \text{ g/L}$), mantiveram-se constantes ao longo do experimento. Contudo, observou-se um pico de nitrito (5 mg. L^{-1}) logo no 1º dia do experimento, porém esse valor decaiu para $2,20 \pm 0,90 \text{ mg. L}^{-1}$ a partir do 4º dia (Figura 9), os valores encontrados para estes parâmetros estavam na faixa ótima para o bem-estar animal.

Figura 9: Variação dos níveis de amônia total e nitrito durante a suplementação alimentar de juvenis *Penaeus vannamei* em sistema de recirculação de água fechado

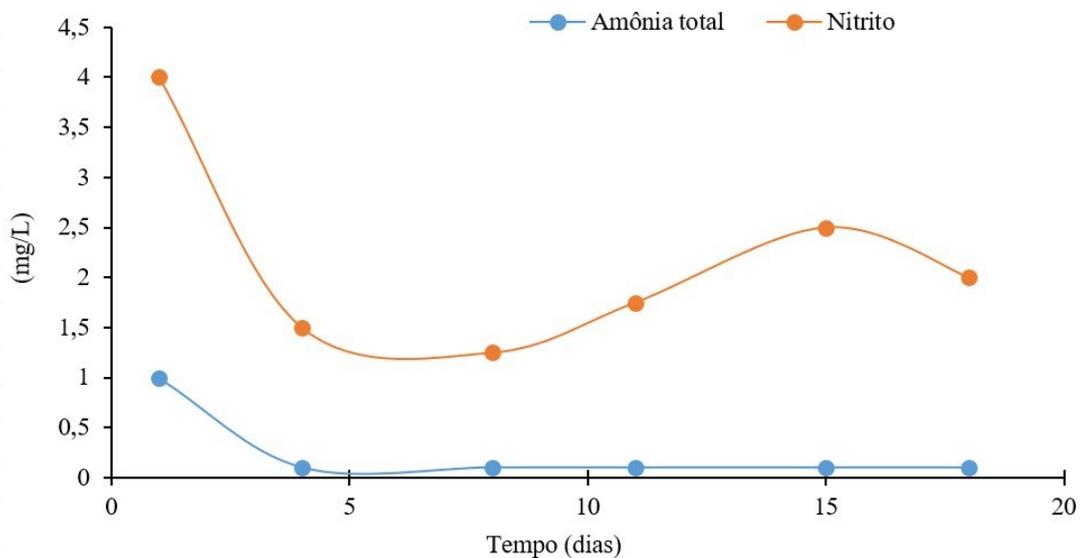


Tabela 4: Variáveis de parâmetros de qualidade de água em sistema de recirculação de água fechado

Parâmetros	Média e desvio padrão
Amônia total (mg.L^{-1})	$0,25 \pm 0,31$
Nitrito ($\text{N-NO}_2 - \text{mg.L}^{-1}$)	$2,20 \pm 0,89$
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	$171,0 \pm 18,10$
Salinidade (g/L)	$35 \pm 0,19$
pH	$8,0 \pm 0,19$
Temperatura ($^\circ\text{C}$)	28 ± 0

Tabela 4. Média \pm desvio padrão das variáveis de qualidade da água após 20 dias de suplementação alimentar de juvenis de *Penaeus vannamei* em sistema de recirculação de água (RAS).

2.7.7 O desempenho zootécnico dos camarões foi similar entre os tratamentos

Neste segundo experimento, foram avaliados os parâmetros zootécnicos com biometrias semanais, peso inicial, ganho de peso (peso final), sobrevivência e fator de conversão alimentar. Nenhuma mortalidade foi registrada nos tratamentos e não houve diferença entre os diferentes

parâmetros avaliados, como apresentado na **Tabela 5**. Confirmando o observado anteriormente, o consumo alimentar ao longo do experimento foi total ao ofertado (3-4% da biomassa viva/diário) e a conversão alimentar apresentou uma tendência em ser menor pelos animais alimentados de ração suplementada com farelo de açaí a 8% em relação ao grupo controle.

Tabela 5: Desempenho zootécnico de juvenis *Penaeus vannamei*

Parâmetros zootécnicos	Tratamentos	
	Controle	A8
Média peso inicial (g)	7,20 ± 0,6	7,05 ± 0,5
Média peso final (g)	8,37 ± 0,3	8,24 ± 0,1
Ganho de peso (g)	1,17 ± 0,56	1,19 ± 0,43
Sobrevivência (%)	100	100
Ganho de peso semanal (g)	0,39 ± 0,2	0,4 ± 0,1
FCA	5,86 ± 4,6	4,52 ± 2,2

Tabela 5. Média ± desvio padrão dos parâmetros zootécnicos após 20 dias de suplementação alimentar de juvenis de *Penaeus vannamei* com ração sem suplementação (C) ou suplementada com farelo de açaí a 8% (A8). FCA (Fator de conversão alimentar).

2.7.8 A suplementação alimentar com 8% de farelo açaí estimulou algumas respostas hemato-imunológicas nos camarões

Apenas dois dos imunoparâmetros avaliados se alteraram em função da suplementação alimentar com farelo de açaí (A8). Neste grupo, o número de células imunocompetentes circulantes foi cerca de 1,6 x superior (CTH = $56,10 \pm 1,9 \times 10^6$ cel.ml⁻¹) ao CTH dos animais do grupo controle ($35,20 \pm 14,40 \times 10^6$ cel.ml⁻¹) (Fig. 10A). Igualmente, registrou-se um aumento expressivo de 2,7 x na atividade da fenoloxidase no soro dos animais alimentados com farelo de açaí a 8% (A8) (PO = $88,60 \pm 26,30$ U/min/mg), comparado ao grupo sem suplementação ($32,9 \pm 15,9$ U/min/mg) (Fig. 10C). Já, a concentração de proteínas totais da hemolinfa mostrou-se similar entre os animais do tratamento suplementado (CP = $138,90 \pm 22,0$ mg. mL⁻¹) e do grupo controle (CP = $116,30 \pm 20,40$ mg. mL⁻¹) (Figura 10B).

Figura 10: Avaliação de diferentes parâmetros hemato-imunológicos em juvenis de *Penaeus vannamei* alimentados com ração suplementada com 8% de farelo de açaí

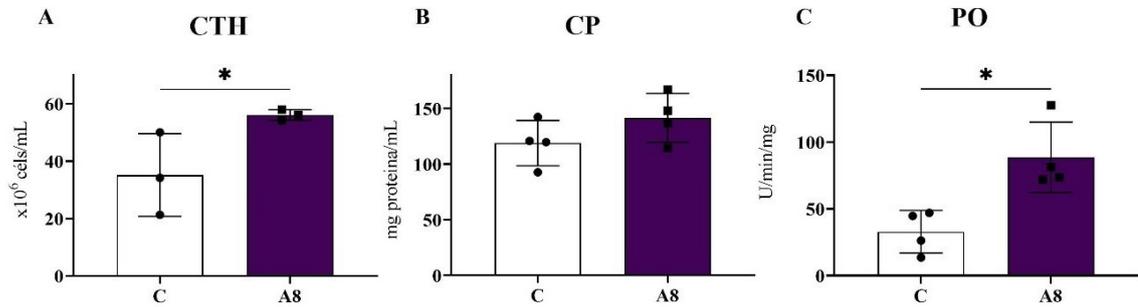


Figura 10. A: Contagem totais de hemócitos (CTH); B: Concentração de proteínas totais do soro (CP); C: Atividade da fenoloxidase (PO). Os camarões foram alimentados por 20 dias com ração suplementada com farelo de açaí a 8% (A8) e ração sem suplementação (C, grupo controle). As barras representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,05$ ($n = 3$ pools de 4 animais/ tratamento).

Quanto à capacidade aglutinante da hemolinfa contra diferentes bactérias marinhas, apenas três espécies foram diferencialmente reconhecidas e aglutinadas pelo soro dos animais recebendo ração suplementada. Foram elas: *Corynebacterium stationis*, *Vibrio nigripulchritudo* e *Aeromonas hydrophila*. Os camarões alimentados com ração suplementada com farelo de açaí a 8% (A8), foram capazes de reconhecer e aglutinar de forma bastante expressiva a bactéria não patogênica Gram-positiva, *C. stationis* (título aglutinante 24.576 \times e 12.288 \times) em relação ao grupo que não recebeu suplementação alimentar, cujo título foi muito inferior (384 \times e 768 \times) (Figura 11A). Em relação à vibrionácea potencialmente patogênica para camarões, *V. nigripulchritudo*, o grupo suplementado com farelo de açaí a 8%, A8 (24.576 \times e 12.288 \times) apresentou diferenças em relação ao grupo C (6144 \times e 3072 \times) (Figura 11B). Já, para a bactéria patogênica Gram-negativa *Aeromonas hydrophila*, o grupo A8 (49.152 \times) apresentou diferenças estatísticas para o não suplementado (6.144 \times e 12.288 \times) (Figura 11C). As demais bactérias avaliadas, a Gram-positiva não patogênica *M. maritropicum* e as potencialmente patogênicas Gram-negativas *V. parahaemolyticus* e *V. harveyi* não foram diferencialmente aglutinadas pelo soro dos animais A8 e C (Figuras 11D, E e F). Novamente aqui, a bactéria Gram-positiva *Lactobacillus plantarum* não foi reconhecida, nem aglutinada pelo soro de nenhum animal avaliado.

Figura 11: Capacidade aglutinante da hemolinfa de *Penaeus vannamei* contra diferentes bactérias marinhas

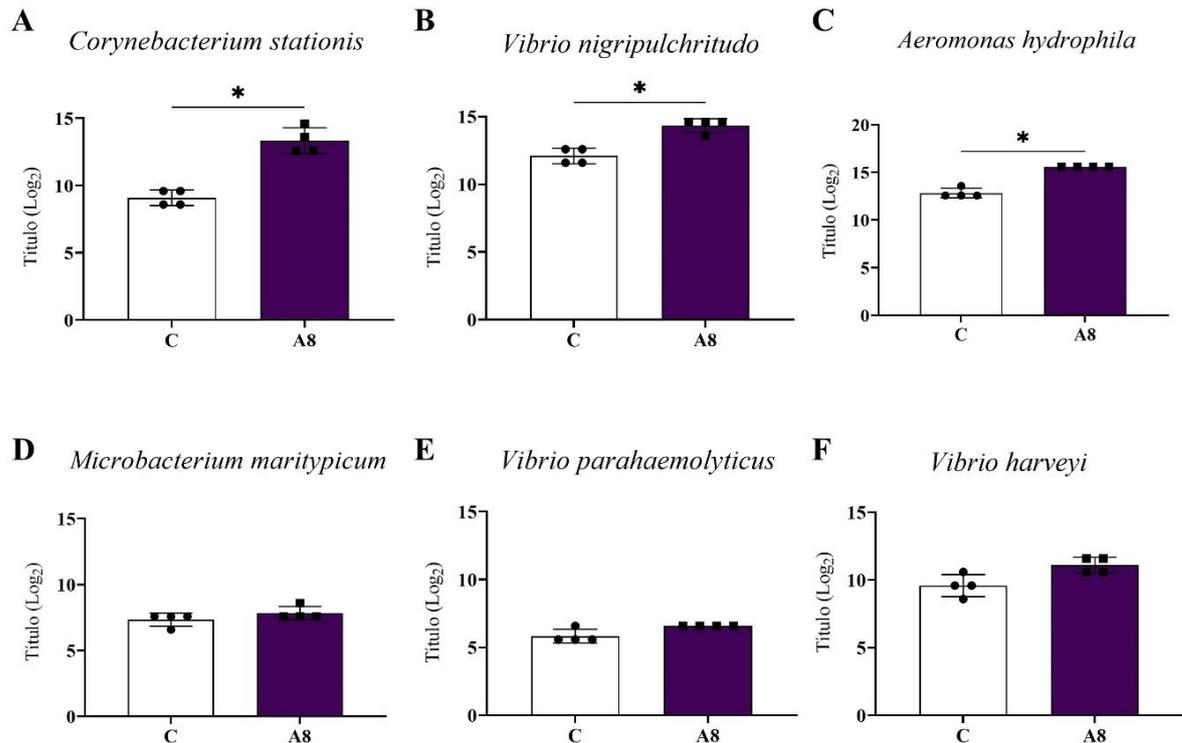
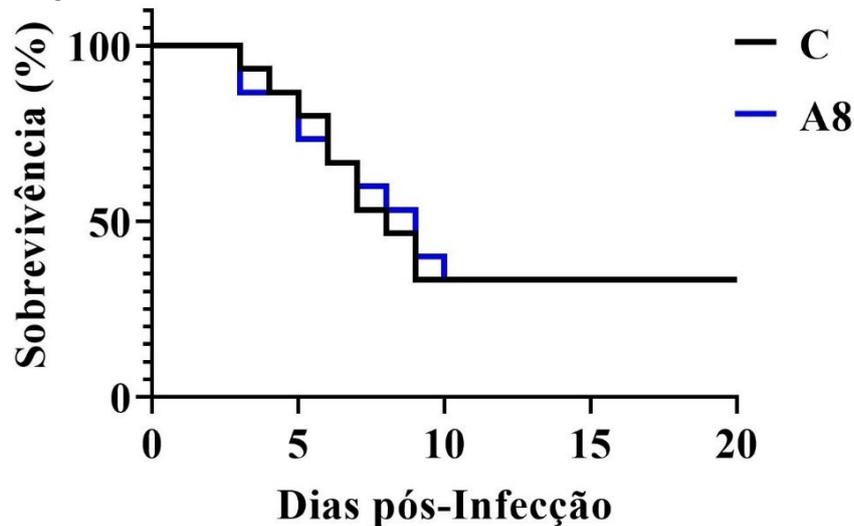


Figura 11. A: Bactéria marinha Gram-positiva *Corynebacterium stationis*, **B:** Bactéria marinha Gram-negativa *Vibrio nigripulchritudo*; **C:** Bactéria marinha Gram-negativa *Aeromonas hydrophila*; **D:** Bactéria marinha Gram-positiva *Microbacterium maritypicum*; **E:** Bactéria marinha Gram-negativa *Vibrio parahaemolyticus*; **F:** Bactéria marinha Gram-negativa *Vibrio harveyi*. Os camarões foram alimentados por 20 dias com ração suplementada com 8% de farelo de açai (A8) e de ração sem suplementação (C, grupo controle). As barras representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,05$ (n = 3 pools de 4 animais/ tratamento).

2.7.9 A suplementação alimentar com farelo de açai a 8% não promoveu aumento na sobrevivência dos camarões frente ao desafio sistêmico por WSSV

Não foram observadas diferenças entre os animais alimentados com ração suplementada com farelo de açai a 8% (A8) em relação ao grupo controle. Os animais alimentados com farelo de açai a 8% e o grupo controle apresentaram a mesma taxa de sobrevivência (44%), após 20 dias de desafio viral. Cerca de metade dos animais (56%) de cada tratamento morreram, com mortalidade iniciando a partir de 72 horas da infecção sistêmica com uma DL_{50/15} (WSSV) (Figura 12).

Figura 12: Taxa de sobrevivência (%) de camarões juvenis (*Penaeus vannamei*), alimentados por 30 dias com ração suplementada com farelo de açaí a 8% (A8) ou ração não suplementada (C, controle) e infectados com inóculo de WSSV (4×10^{-8}) correspondente a DL50/15. A suplementação alimentar foi continuada ao longo de 20 dias e a sobrevivência monitorada diariamente.



2.8 DISCUSSÃO

A utilização de medidas profiláticas que visem a prevenção de enfermidades na carcinicultura é altamente desejável e recomendado. O uso de substâncias potencialmente imunostimulantes é uma alternativa que pode promover o fortalecimento do sistema imunológico dos animais, especialmente por meio da suplementação dietética com compostos naturais, de origem vegetal (SAKAI, et al. 1992; AZAD et al., 2005). Os camarões cultivados em diferentes sistemas de produção interagem com diferentes microrganismos presentes no ambiente aquático. A exposição a condições de estresse afetado por diferentes agentes bióticos e abióticos, pode promover a desequilíbrio do sistema imunológico do hospedeiro, tornando-o mais suscetível às doenças. Assim, a manutenção do equilíbrio no sistema de produção, alinhado às boas condições de manejo, qualidade de água, nutrição e bem-estar animal, são fundamentais para a sustentabilidade da atividade.

No presente estudo, as condições gerais de imunocompetência de camarões juvenis *P. vannamei* alimentados com dieta suplementada com ingredientes de plantas do bioma amazônico em concentrações de 4 e 8% [ração suplementada com farelo de açaí (A4 ou A8), buriti (B4 ou B8) ou pracaxi (P4 ou P8)] foi avaliada em dois experimentos independentes (30 e 20 dias, respectivamente Experimento 1 e Experimento 2), mediante análises hematoimunológicas (imunoparâmetros) e da taxa de sobrevivência a um desafio sistêmico pelo WSSV (DL50/15). Durante a suplementação alimentar, diferentes parâmetros zootécnicos e de qualidade de água foram também avaliados e as interações entre os resultados obtidos serão

aqui discutidos.

De maneira geral, os resultados obtidos no Experimento 1 indicam que as suplementações dietéticas de três tratamentos induziram melhores respostas imunológicas nos camarões (**A8** = suplementação com farelo de açaí 8%, **B4** = farelo de buriti 4% e **P4** = farelo de pracaxi 4%). Camarões do grupo **A8** apresentaram melhor capacidade de reconhecimento e aglutinação tanto de eritrócitos caninos como de bactérias Gram-negativas potencialmente patogênicas para camarões, *V. nigripulchritudo*. Assim, esse grupo foi escolhido para novas análises no Experimento 2. Efetivamente, nas análises subsequentes animais **A8** apresentaram melhores condições gerais de imunocompetência que no experimento anterior, com o aumento do número total de hemócitos circulantes na hemolinfa (CTH), maior atividade da fenoloxidase (PO), maior capacidade aglutinante de bactérias Gram-positiva *Corynebacterium stationis* e das Gram-negativas *V. nigripulchritudo*, *A. hydrophila*.

Em relação à qualidade da água, observou-se uma maior variação nos níveis de amônia total e na alcalinidade da água no Experimento 1 em relação ao Experimento 2, com registros de picos de amônia total no 8º dia (4 mg. mL⁻¹) e no 14º dia (2,75 mg. mL⁻¹) do experimento, registrando-se no momento de maior pico aproximadamente 0,051 mg. mL⁻¹ de amônia tóxica. O nível de toxicidade da amônia total é influenciado pelo pH, salinidade e temperatura da água (ZHAO et al., 2020) e, em alguns momentos, os níveis de amônia aproximaram-se do limite máximo da concentração considerada como segura para camarões marinhos (0,06 mg/L de NH₃) (KUBITZA, 2017). No 17º dia de cultivo, a alcalinidade da água esteve inferior (70 mg CaCO₃.L⁻¹) à taxa ideal estabelecida para a espécie (100 a 140 mg. L⁻¹ de CaCO₃) (HERNANDEZ, 2000). Já, os níveis de nitrito mantiveram-se estáveis (2,46 ± 0,35 mg. mL⁻¹) e muito abaixo do limite máximo, considerado seguro para camarões em ambiente marinho (7,6 mg. mL⁻¹) (KUBITZA, 2017). Cabe salientar que, no primeiro experimento, todos os aquários do sistema de recirculação de água fechado estavam com animais (seis tratamentos e um controle) e esta grande quantidade de animais deve ter sobrecarregado o sistema, alterando momentaneamente alguns parâmetros da água. Contudo, assim que os problemas foram detectados, os mesmos foram solucionados por meio da renovação parcial de água (30% semanalmente, até o final do experimento) e recomposição da alcalinidade a cada dois dias utilizando bicarbonato de sódio (NaHCO₃), como recomendado por Furtado (2011). Esse fato provavelmente contribuiu para a mortalidade registrada nos tratamentos (**C**, **A4**, **A8**, **B4**, **P4**, **P8**) e influenciada pelos níveis de amônia elevados no 8º dia (4 mg/L), e 14º dia (2,75 mg. mL⁻¹), como também pela diminuição da alcalinidade no 17º dia (70 mg CaCO₃.L⁻¹). Por outro lado, os camarões sobreviventes mantiveram-se aparentemente pouco alterados

fisiologicamente, o que possibilitou a continuidade do experimento e as análises subsequentes. Na aquicultura uma das soluções para manutenção da qualidade de água é o desenvolvimento de sistemas de aquicultura recirculantes (RAS, do inglês *Recirculating Aquaculture Systems*) (MALONE & PFEIFFER 2006; VERDEGEM et al., 2006). Diferentemente dos sistemas tradicionais de cultivo, o RAS é projetado para remover partícula e converter amônia tóxica em nitrato menos tóxico e, assim, minimizar as trocas de água (MARTINS et al. 2010). Os sistemas de aquicultura recirculantes têm a capacidade de transformar de forma eficaz os resíduos metabólicos do camarão, como a amônia e o nitrito, em nitrato de baixa toxicidade, mantendo assim a amônia e o nitrito em níveis seguros para acriação de camarões. O desequilíbrio na relação carbono/nitrogênio pode inibir o crescimento das bactérias nitrificantes, visto que a nitrificação no biofiltro é principalmente realizada por bactérias nitrificantes autotróficas (CHEN et al., 2020). Além disso, pode-se promover um maior controle sobre o ambiente e melhorar as condições sanitárias que são particularmente importantes durante as fases iniciais de larvas ou juvenis de várias espécies de peixes e crustáceos (SUMMERFELT et al. 2009; TAL et al. 2009). Porém, em relação aos dados obtidos em nosso estudo, o desequilíbrio da relação carbono/nitrogênio comprometeu o processo de nitrificação, o que afetou sobre os níveis dos compostos nitrogenados e estes fatores abióticos podem afetar a fisiologia e as condições gerais imunológicas dos animais na primeira semana do experimento. Entretanto, o experimento prosseguiu por mais três semanas, teoricamente, permitindo a recuperação dos animais, uma vez que não foram observadas alterações comportamentais significativas ao longo do restante do experimento.

No caso de cultivos em bioflocos as condições ideais dos parâmetros de qualidade de água são pH (6,8-8,0), amônia total e nitrito ($< 1,0 \text{ mg. L}^{-1}$) e alcalinidade ($> 100 \text{ mg. L}^{-1}$) (EMERENCIANO et al., 2017). Em estudo realizado durante 7 dias com camarões juvenis ($5.51 \pm 0.21 \text{ g}$), o nível de 2 mg. mL^{-1} de amônia promoveu redução da taxa de sobrevivência de camarões *P. vannamei* e afetou a saúde intestinal do camarão, danificando a morfologia da mucosa e interferindo na homeostase da comunidade fisiológica, microbiana e do metabolismo (DUAN et al., 2024). Esses fatores de desequilíbrio na qualidade de água foram superados no Experimento 1 e mantidos sob condições constantes no Experimento 2, o que possibilitou obtermos resultados mais fidedignos sobre a imunocompetência dos camarões juvenis do grupo **A8**.

Os parâmetros zootécnicos de ganho de peso (Experimento 1) possivelmente foram negativamente influenciados pela alteração nos parâmetros de qualidade de água anteriormente mencionados, uma vez que houve mortalidade em todos os grupos, com exceção do **B8**. Apesar

disso, vale ressaltar que os animais apresentaram um ótimo consumo alimentar, em que as rações eram rapidamente consumidas, em torno de 20 minutos, denotando sua alta palatabilidade. Entre os tratamentos observou-se que animais alimentados com **B8** apresentaram uma maior média de peso final, ganho de peso e sobrevivência, como também maior sobrevivência e ganho de peso dos animais alimentados com pracaxi a 4% (**P4**) em relação aos outros tratamentos.

Em relação aos parâmetros zootécnicos dos animais no Experimento 2, não houve diferença no ganho de peso dos animais em função da dieta suplementada com farelo de açaí 8%. O consumo alimentar foi similar ao observado no Experimento 1, sem resíduos de sobra de ração após 20 minutos da oferta. Em estudo com inclusão de diferentes níveis de açaí liofilizado (*Euterpe oleraceae*) durante 43 dias de alimentação de camarões juvenis *P. vannamei*, foram observados que a inclusão de 10% do açaí liofilizado pode ser uma alternativa na substituição do óleo de peixe sem afetar o desempenho zootécnico (SILVA et al., 2020). Outro estudo com peixes ornamentais *Heros severus* e *Pterophyllum scalare*, durante a alimentação com inclusão de óleo essencial de açaí por 30 dias na fase de pós larva, proporcionou resultados positivos para parâmetros zootécnicos como o comprimento final, ganho de comprimento, taxa de crescimento específica para comprimento, peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específica para peso e lote uniformidade de peso para ambas as espécies de peixes, após inclusão de 2,48% e 0,88% na dieta alimentar (MOURA et al., 2022). Portanto, estudos futuros merecem ser realizados com maior tempo de suplementação alimentar para avaliar efetivamente o ganho de peso dos camarões (por exemplo, 3 meses de cultivo).

Em relação às análises hemato-imunológicas, nossos resultados no Experimento 1 demonstraram que camarões alimentados com ração suplementada com farelo de ingredientes amazônicos, especialmente **B4**, levou a um aumento de 1,42x vezes superior na quantidade de células imunocompetentes (hemócitos) na circulação da hemolinfa dos animais (CTH), quando comparado com os animais alimentados sem suplementação. No entanto, após realização do experimento 2, foi observada a diferença entre os animais alimentados com **A8** em 1,6x superior o número de células imunocompetentes na circulação da hemolinfa em relação aos animais alimentados sem suplementação. Sabe-se que fatores ambientais estressores para os camarões durante a produção, podem influenciar no hemograma de camarões (do Nascimento Ferreira et al. 2024). Neste sentido, maior quantidade de células imunocompetentes, como a induzida pelo tratamento **A8**, pode representar uma melhor condição imunológica durante os cultivos.

Os mecanismos de efetores imunológicos podem ser desencadeados a partir do reconhecimento de patógenos realizado por proteínas de reconhecimento padrão, PRPs/PRR,

como a ativação do sistema de ativação da pró-fenoloxidase (proPO). No sistema proPO são gerados produtos intermediários como as quinonas que são altamente citotóxicos e atacam os patógenos invasores (AMPARYUP et al., 2013). No Experimento 1, a maior atividade da enzima fenoloxidase (PO) foi dos animais alimentados com dieta acrescida de 4% de farelo de pracaxi (**P4**) e observada uma pequena tendência para os animais alimentados da dieta acrescida com 8% de farelo de açaí (**A8**). Porém, no Experimento 2 os animais **A8** registraram um aumento expressivo (3x) na atividade da PO, em relação aos animais não suplementados. Embora não existam estudos comparativos desses componentes vegetais na alimentação, a suplementação com polissacarídeos sulfatados (PS) registrou valores superiores na atividade da enzima fenoloxidase, quando os organismos foram alimentados com uma dieta enriquecida com polissacarídeos sulfatados de *Gracilaria birdiae* durante 32 dias (CANTELLI et al., 2019). No entanto, esses valores de atividade da enzima para animais alimentados com o farelo de açaí a 8%, também foram similares quando comparados a camarões juvenis *P. vannamei* alimentados com dieta suplementada por 20 dias com extrato seco da cianobactéria *Arthrospira platensis* (PILOTTO et al., 2019). Baseado nestes dados, foi observada uma maior atividade da PO na dieta com **A8**, o que proporcionou aumento da imunocompetência dos camarões.

Quanto à capacidade aglutinante da hemolinfa, observou-se maior capacidade aglutinante da hemolinfa contra eritrócitos caninos do soro dos animais **A8** e **B8**. Este resultado está associado provavelmente à presença de compostos bioativos presentes no açaí e no buriti, o que resultou numa maior capacidade de reconhecimento e aglutinação de células sanguíneas o que seria interessante no futuro, investigar sobre essa hipótese. Dentre os compostos bioativos encontrados no açaí propriedades presentes nos flavonóides como efeitos anti-neurodegenerativos, antimutagênicos e antimicrobianos, já forma descritos em humanos (NILE; PARK, 2014). O buriti também está presente importantes bioativos como terpenóides, esteróides, tococromanóis, ácidos orgânicos, fenólicos e flavonóides (BATAGLION et al. 2020). O que de fato, estas substâncias podem aumentar a capacidade de reconhecimento das aglutininas e diferentes lectinas, que são proteínas de reconhecimento padrão que reconhecem e ligam-se especificamente a carboidratos presentes na superfície de diferentes microrganismos, promovendo a aglutinação. As lectinas desempenham uma série de mecanismos imunológicos inatos, os quais, como ativação da profenoloxidase, cascatas de sinalização para ativação de peptídeos antimicrobianos, indução de fagocitose ligando-se a patógenos e agindo como uma opsonina (LIU et al., 2020).

A capacidade aglutinante da hemolinfa dos camarões recebendo suplementação alimentar com ingredientes amazônicos também foi investigada contra bactérias marinhas,

potencialmente patogênicas para camarão (*Vibrio nigripulchritudo*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*) e comensais não patogênicas, Gram-positivas (*Microbacterium maritypicum* e *Corynebacterium stationis*). No Experimento 1, o soro dos animais dos grupos **A4**, **A8** e **B4** foi mais capaz de reconhecer e aglutinar a bactéria patogênica Gram-negativa *Vibrio nigripulchritudo*. Esse fato pode estar associado à indução e produção em maior quantidade de lectinas/aglutininas na hemolinfa capazes de reconhecer e eliminar potenciais patógenos bacterianos Gram-negativos. A bactéria Gram-negativa *Vibrio nigripulchritudo*, está associada à mortalidade pela síndrome de verão em *P. japonicus* (GOARANT et al., 2006), causadora de vibriose e pode causar mortalidades também em *P. vannamei* (KAWATO et al., 2018). No bacterioma intestinal de camarões peneídeos também estão presentes numerosas espécies de vibrios (MORALES-COVARRUBIAS et al., 2018); (PERAZZOLO et al., 2023). Os camarões podem ser vulneráveis a certas cepas de vibrios, que podem promover infecções durante condições adversas como disbiose e estresse durante o cultivo (BIN et al. 2022). Tendo em vista isso, foi avaliada a capacidade aglutinante da hemolinfa contra a bactéria Gram-negativa *Vibrio harveyi* e observou-se maior capacidade aglutinante da hemolinfa para os animais alimentados com **A4**, **B4**, **B8**, **P4** e **P8** em relação aos animais não suplementados. No entanto, para o grupo **A8**, observou-se uma tendência de aglutinação em ambos os resultados nos dois experimentos. É importante destacar o aumento da imunocompetência dos camarões em relação ao *Vibrio harveyi*, pois essa espécie apresenta cepas identificadas como agentes causadores da doença de necrose hepatopancreática aguda (AHPND), juntamente com *V. parahaemolyticus* e outras espécies, em *P. vannamei* (MUTHUKRISHNAN et al., 2019). Já, a capacidade aglutinante contra bactérias Gram-positivas, a bactéria Gram-positiva *Microbacterium maritypicum*, houve maior capacidade aglutinante pelo soro dos animais alimentados de ração suplementada com **A4**, **B4**, **B8** e **P8**. Essa bactéria está associada ao microbioma de *Crassostrea virginica* (CHAUHAN et al., 2013).

Quanto à capacidade aglutinante da hemolinfa contra bactérias marinhas Gram-positivas e Gram-negativas do Experimento 2, foram observadas diferenças na capacidade aglutinante do soro dos animais alimentados com dieta suplementada com 8% de farelo de açaí (**A8**) contra a bactéria Gram-negativa *Vibrio nigripulchritudo*, o que corrobora com o resultado do primeiro experimento. Entretanto, para bactéria *Vibrio harveyi* novamente a suplementação com **A8** não levou a uma maior capacidade de aglutinação desse potencial patógeno.

Outra bactéria Gram-negativa avaliada foi *Aeromonas hydrophila* e os resultados revelaram que os animais alimentados com ração acrescida de 8% de farelo de açaí (**A8**) apresentaram maior capacidade aglutinante da hemolinfa em relação ao grupo não

suplementado, diferente do experimento 1 em que não houve diferença para este parâmetro. Esta bactéria é patogênica para peixes, porém, há primeiros relatos de incidência como patógeno bacteriano para camarões *P. vannamei* criados em água doce na China (ZHOU et al., 2019). Outros estudos revelaram que uso de extrato de ervas como *Acorus calamus*, *Indigofera aspalathoides*, *Coleus aromaticus*, *Thymus vulgaris* e *Trifolium pannonicum*, revelaram ser eficientes para inibir in-vitro a patogenicidade de *Aeromonas hydrophila* (BHUVANESWARY et al., 2006; HANIFFA et al., 2012; AL LAHAM et al., 2014; TURKER et al., 2009). Como também, na utilização oral de extratos de ervas como *Allium sativum*, *Epilobium hirsutum*, *Panax quinquefolium*, e *Toona sinensis*, podem promover o aumento de resistência a infecções em peixes (NYA et al., 2009; PAKRAVAN et al., 2012; ABDEL-TAWWAB et al., 2012; WU et al., 2010). Esses compostos extraídos de ervas relatados na literatura podem promover ação antibiótica e que os farelos destas frutas podem potencialmente ter alguma ação antimicrobiana potencializada em comparação a estes derivados vegetais. Já para a bactéria Gram-positiva *Lactobacillus plantarum* não foram observadas nenhuma aglutinação em ambos experimentos, em razão de ser um probiótico bastante utilizado e não haver relatos na literatura sobre sua patogenicidade. Enquanto para a bactéria Gram-positiva *Corynebacterium stationis*, a capacidade aglutinante da hemolinfa de animais alimentados de ração acrescida com 8% de farelo de açaí (A8) foi maior em relação aos animais não suplementados. Esta bactéria como também *Microbacterium maritypicum* sem relatos sobre patogenicidade na aquicultura. Portanto, estas diferenças foram reveladas para diferentes células-alvo, conforme a especificidade de cada bactéria.

Quanto ao desafio viral, não houveram diferenças na sobrevivência entre os animais infectados alimentados de ração acrescida com 8% de farelo de açaí (A8) em relação aos animais alimentados com ração não suplementada. Possivelmente, associado à diluição do inóculo viral (4×10^{-8}), tendo em vista que ocorreram 56% de mortalidade para ambos os tratamentos. Análises futuras poderão ser feitas com dosagens mais diluídas como DL20/15 e DL30/15. Em estudo realizado por Cantelli (2019), animais desafiados por WSSV com solução equivalente a mortalidade de 30% dos animais em 15 dias, resultaram no aumento significativo de 11% da taxa de sobrevivência dos camarões infectados, após suplementação alimentar com PS de *Gracilaria birdiae* durante 32 dias. Enquanto, para Pilotto (2019) os animais foram desafiados com alíquotas de 3×10^2 partículas de WSSV (correspondente a DL30/15) e resultando em aumento significativo de 10% da taxa de sobrevivência dos animais suplementados.

Portanto, novos estudos são necessários para avaliar os possíveis efeitos antivirais dos farelos vegetais utilizados, uma vez que há indícios de que eles possam ser eficazes contra

infecções causadas por agentes bacterianos, como *Vibrio harveyi*. Estudos de desafio com esta bactéria poderiam confirmar essa hipótese.

2.9 CONCLUSÕES

Em conjunto, os resultados obtidos neste estudo indicam evidências sobre as condições gerais de imunocompetência de camarões juvenis *P. vannamei* influenciados pela alimentação com dietas suplementadas com diferentes farelos vegetais amazônicos. Independentemente do farelo vegetal incluído na alimentação dos animais, os resultados apontam para maior imunoestimulação dos camarões suplementados com todos ingredientes utilizados, variando em função da concentração de inclusão. No primeiro experimento, os animais alimentados com dieta suplementada de B4, P4 e A8 apresentaram melhores condições gerais de imunocompetência. Enquanto no segundo experimento, os animais alimentados com A8 apresentaram maior atividade da fenoloxidase, maior contagem de células imunocompetentes, maior capacidade de aglutinação e reconhecimento de microrganismos invasores, sugerindo uma melhora significativa na imunocompetência dos camarões. Apesar deste efeito positivo, a dieta com farelo de açaí a 8% não resultou em maior sobrevivência dos animais quando desafiados com injeção intramuscular com partículas de WSSV (DL50/15).

Em conclusão, nossos resultados sugerem melhora da imunocompetência de camarões alimentados com dietas suplementadas com farelos vegetais amazônicos, além de contribuir com inovações na utilização de diferentes compostos imunoestimulantes. Novos produtos derivados de outros frutos merecem ser avaliados, considerando maior tempo de alimentação e desafio com inóculo viral menos concentrado. Além disso, seria interessante testar a ração a campo para avaliar com maior precisão os parâmetros zootécnicos, além de novas análises de parâmetros moleculares, capacidade antioxidante do hepatopâncreas, como também avaliar o potencial imunoestimulante das rações com desafios bacterianos.

2.10 REFERÊNCIAS

- BARRACCO, M. A.; PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. Avances en la Inmunología del Camarón. **Guía Práctica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos**. p. 237–304, 2014.
- BICHARA, C. M. G. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. **Fundamental issues**. Woodhead Pub, 2011.
- BUCHMANN, K. Evolution of innate immunity: Clues from invertebrates via fish to mammals. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. SEP, 2014.
- DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, ago. 2011.
- FLEGEL, T. W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 166–173, 1 jun. 2012.
- GORDON, A. et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (Euterpeoleraceae Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 256–263, 15 jul. 2012.
- KIBENGE, F. S. Emerging viruses in aquaculture. **Current Opinion in Virology**, v. 34, p. 97–103, 2019.
- KOU, G.-H. et al. **Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and crabs**. 1998.
- KULKARNI, A. et al. Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 431–459, 2021.
- LIGHTNER, D. V. et al. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 174–183, 2012.
- MANSOUR, A. T. et al. **Aquatic Plants and Aquatic Animals in the Context of Sustainability: Cultivation Techniques, Integration, and Blue Revolution**. **Sustainability (Switzerland)** MDPI, , 1 mar. 2022.
- MATTHEW BRIGGS, SIMON FUNGE-SMITH, R. S. AND M. P. Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. **FAO**, 2004.
- NERI-NUMA, I. A. et al. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345–360, 1 jan. 2018.
- NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v.30, n. 2, p. 134–144, 1 fev. 2014.

PAUL, B. G.; VOGL, C. R. Impacts of shrimp farming in Bangladesh: challenges and alternatives. **Ocean & Coastal Management**, v. 54, n. 3, p. 201-211, 2011.

SCHAUSS, A. G. Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea* Mart., known as “Açaí”. In: **Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods in Health Promotion**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. p. 179–220.

SCHRYVER, P., DEFOIRDT, T., SORGELOOS, P. Early mortality syndrome outbreaks: a microbial management issue in shrimp farming? **Plos Pathog**. 10 (4), 2014.

VERDEGEM, M.; et al. The contribution of aquaculture systems to global aquaculture production. **Journal of the World Aquaculture Society** John Wiley and Sons Inc, 1 abr. 2023.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO:

ABCC. Associação Brasileira de Criadores de Camarões Marinhos. Carcinicultura marinha, uma análise da produção, exportações e importações mundial em 2023 e os desafios e projeções para 2024. 2024

ABDEL-TAWWAB, M. The use of American ginseng (*Panax quinquefolium*) in practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance and challenge with *Aeromonas hydrophila*. **J. Appl. Aquacult.** 2012, 24, 366–376.

ALTMAN RFA. O caroço do açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.). **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Norte**, Belém (PA), Brasil, v.31, p.109-111, 1956.

AL LAHAM, S.A.; AL FADEL, F.M. Antibacterial activity of various plants extracts against antibiotic-resistant. *Aeromonas hydrophila*. Jundishapur. **J. Microbiol.** 2014.

AMPARYUP, P.; CHAROENSAPSRI, W.; TASSANAKAJON A. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. **Fish Shellfish Immunol** 34:990–1001. 2013. <https://doi.org/10.1016/j>

ARIANDI; YOPI; MERYANDINI, A. N. J. A. Enzymatic Hydrolysis of Copra Meal by Mannanase from *Streptomyces* sp. BF3.1 for The Production of Manno oligosaccharides. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 22, n. 2, p. 79–86, 2015.

AZAD, I. S. et al. Routes of immunostimulation vis-à-vis survival and growth of *Penaeus monodon* postlarvae. **Aquaculture**. Anais Elsevier, 29 jul. 2005.

BARRACCO, M. A.; PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. Avances en la Inmunología del Camarón. **Guía Práctica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos**. p. 237–304, 2014.

BARMAN, D.; NEN, P. Immunostimulants for Aquaculture Health Management. **Journal of Marine Science: Research & Development**, v. 03, n. 03, 2013.

BATAGLION, J.-M.; RAMAWAT, K. G. **Reference Series in Phytochemistry Series Editors 2020**. Disponível em: <<http://www.springer.com/series/13872>>.

BEÇAK, W.; PAULETE, J. Técnicas de citologia e histologia. **Nobel**, 1976.

BHUVANESWARI, R. and; BALASUNDARAM, C. Traditional Indian herbal extracts used in vitro against growth of the pathogenic bacteria –*Aeromonas hydrophila*. **Isr. J. Aquacult.** Bamid. 2006, 58, 89–96.

BICHARA, C. M. G. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. **Fundamental issues**. Woodhead Pub, 2011.

BIN, Y.Y.; CHOI, J.H.; KANG, J.C. et al. Shrimp bacterial and parasitic disease listed in the OIE: a review. **Microb Pathog** 166:105545. <https://doi.org/10.1016/j.micpa.2022.105545>

BOLÍVAR-RAMÍREZ, N. C. et al. Tannins as a food additive in pacific white shrimp diet. **Aquaculture**, v. 556, p. 738232, 15 jul. 2022.

BONDAD-REANTASO, M. G. et al. The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: Past, present and future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 158–165, 2012.

BOWEN-FORBES, C. S.; ZHANG, Y.; NAIR, M. G. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 554–560, 1 set. 2010.

BUCHMANN, K. Evolution of innate immunity: Clues from invertebrates via fish to mammals. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. SEP, 2014.

CANTELLI, L.; GONCALVES, P.; GUERTLER, C.; KAYSER, M.; PILOTTO, M.R.; BARRACCO, M.A.; PERAZZOLO, L.M. Dietary supplementation with sulfated polysaccharides from *Gracilaria birdiae* promotes a delayed immunostimulation in marine shrimp challenged by the white spot syndrome virus, **Aquac. Int.** (2019). doi:10.1007/s10499-018-0328-1.

CAPO, F.; WILSON, A.; DI CARA, F. The intestine of *Drosophila melanogaster*: An emerging versatile model system to study intestinal epithelial homeostasis and host-microbial interactions in humans. **Microorganisms MDPI AG**, 1 set. 2019.

CHARIANDY, C.M.; SEAFORTH, C.E; PHELPS, R.H.; POLLARD, G.V.; KAMBAY, B.P.S. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **J Ethnopharmacol** 64:265-270. 1999.

CHAUHAN, A. et al. Whole-genome sequences of five oyster-associated bacteria show potential for crude oilhydrocarbon degradation. **Genome Announcements**, v. 1, n. 5, p. 1–2, 2013.

CHEN, W. Y. et al. Microbiome Dynamics in a Shrimp Grow-out Pond with Possible Outbreak of AcuteHepatopancreatic Necrosis Disease. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017

CHEN Z.; CHANG Z.; ZHANG L.; WANG J.; QIAO L.; SONG X.; L.I. J. (2020) Effects of carbon source addition on microbial community and water quality in recirculating aquaculture systems for *Litopenaeusvannamei*. **Fish Sci** 86(3):507-517. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01423-3>

CITARASU, T. et al. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 21, n. 4, p. 372–384, 2006.

COLOMBO, G. M. et al. The role of açai (*Euterpe oleracea* Mart. 1824) as a chemoprotective agent in the evaluation of antioxidant defence, oxidative damage and histology of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) exposed to ammonia. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 4, p. 1551–1566, 2020.

- CORNEJO-GRANADOS, F. et al. Microbiome of Pacific Whiteleg shrimp reveals differential bacterial community composition between Wild, Aquacultured and AHPND/EMS outbreak conditions. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 11783, 2017.
- COSTA, S. W. Prospecção de fatores associados à manifestação e dispersão da enfermidade do vírus da síndrome da mancha branca em Santa Catarina. Tese de doutorado Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.
- DAWOOD M. A. O. et al. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*. **Fish & Shellfish Immunology** 49: 275– 285, 2016.
- DE GREGORIS, T. B. et al. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. **Journal of Microbiological Methods**, v. 86, n. 3, p. 351–356, 2011.
- DURAND, S.V.; NUNAN, D.V.; REDMAN, L.; MARI, R.M.; BONAMI, J. Application of gene probes as diagnostic tools for White Spot Baculovirus (WSBV) of penaeid shrimp. **Diseases of Aquatic Organisms - DISEASE AQUAT ORG.** 27. 59-66. 1996. DOI: 10.3354/dao027059.
- DE MOURA, L. B. et al. Dietary Euterpe oleracea Essential Oil, the Amazon Açaí, as Feed Additive to Amazonian Ornamental Fish, during Post-Larvae Growing Stage: A Preliminary Study. **Fishes**, v. 7, n. 6, 1 dez. 2022.
- DE OLIVEIRA, W.S.; DA SILVA, J.A.M.; ROCHA, C.A.M. Prospecção Científica e Tecnológica da Utilização do Óleo de Pracaxi Scientific and Technological Prospection of the use of Pracaxi Oil. **Cad. Prospecção** 2019, 12, 1560–1571.
- DECLARADOR, et al. Ulvan extract acts as immunostimulant against white spot syndrome virus (WSSV) in juvenile black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Institute of Aquaculture, College of Fisheries and Ocean Sciences, University of the Philippines Visayas. **AAFL BIOFLUX**. 2014.
- DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, ago. 2011.
- DO NASCIMENTO FERREIRA, J. et al. Assessing the impact of chemoautotrophic and heterotrophic biofloc cultivation systems on the immunity and intestinal bacteriome of shrimp. **Aquaculture International**, 2024.
- DOS SANTOS COSTA, M. N. F. et al. Characterization of *Pentaclethra macroloba* oil: Thermal stability, gas chromatography and Rancimat. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2269–2275, mar. 2014.
- DUAN, Y.; NAN, Y.; ZHU, X.; YANG, Y.; XING, Y. The adverse impacts of ammonia stress on the homeostasis of intestinal health in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Environmental Pollution**, Volume 340, Part 2, 2024, 122762, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122762>.

EMERENCIANO, M. G. C. et al. Intensification of Penaeid Shrimp Culture: An Applied Review of Advances in Production Systems, Nutrition and Breeding. **Animals**, v. 12, n. 3, 2022.

EMERENCIANO, M. G. C. et al. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture. In: **Water Quality**. [s.l.] InTech, 2017.

ESCOBEDO-BONILLA, C. M. et al. **Review A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus**. 2008.

EPAGRI. Centro de Desenvolvimento em Aquicultura e Pesca. **Síntese Informativa da Maricultura**, p. 1–8, 2018.

FAO. Fishery Statistical Collection. Global Aquaculture Production. Available online: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en> (accessed on 17 October 2022).

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Fisheries and Aquaculture: Global capture production Quantity 1950 -2020). Disponível em: https://www.fao.org/fishery/statistics-query/en/capture/capture_quantity. Acesso em 29 março 2023.

FARIAS, N. D. et al. *Litopenaeus vannamei* stylicins are constitutively produced by hemocytes and intestinal cells and are differentially modulated upon infections. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, p. 82–92, 2019.

FELGENHAUER, B.E. Internal anatomy of the Decapoda: an overview. In: Humes A, Harrison F (eds) **Microscopic Anatomy of Invertebrates, Decapoda Crustacean**. Wiley-Liss, Inc, New York, p. 45–75, 1992.

FURTADO, P. S. (2011). O efeito do hidróxido de cálcio, do carbonato e do bicarbonato de sódio na qualidade de água e no desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado com tecnologia de bioflocos (BFT).

FIGUEIREDO, Amanda Menezes et al. Açai supplementation (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats through different mechanistic pathways. **Plos one**, v. 17, n. 3, p. e0264854, 2022.

FLEGEL, T. W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 166–173, 1 jun. 2012.

FRAGOSO, M. F. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) feeding attenuates dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 68–76, ago. 2013.

F.X. MESLIN; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. Laboratory techniques in rabies: the fluorescent antibody test. **Monograph series. World Health Organization**, n. 23, p. 73–84, 1996.

GAO, S. et al. Metagenomic insights into the structure and function of intestinal microbiota of

the farmed Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 499, p. 109–118, 2019.

GUERRA, J. et al. Oleo de buriti (*mauritia flexuosa*) na alimentação do camarão *macrobrachium amazonicum* (heller, 1862) buriti oil (*mauritus flexuosa*) in the prawn feed *macrobrachium amazonicum* (heller, 1862). 2019.

GOARANT, C. et al. “Summer Syndrome” in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. **Aquaculture**, v. 253, n. 1–4, p. 105–113, 2006.

GORDON, A. et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 256–263, 15 jul. 2012.

HANIFFA, M.A.; KAVITHA, K. Antibacterial activity of medicinal herbs against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. *J. Agric. Tech.* **2012**, 8, 205–211.

HERNANDEZ, J. Z. Manual Purina de Bioseguridade no Cultivo de Camarões Marinhos. Paulinia: Purina, 2000. p. 36

HUANG, Z. et al. Microecological Koch’s postulates reveal that intestinal microbiota dysbiosis contributes to shrimp white feces syndrome. **Microbiome**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2020.

JI, P. F.; YAO, C. L.; WANG, Z. Y. Immune response and gene expression in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) hemocytes and hepatopancreas against some pathogen-associated molecular patterns. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 27, n. 4, p. 563–570, 2009.

JORY D., CABRERA T., J.S., LUCAS, SOUTHGATE, P. C. (Eds.), Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants. **Blackwell Publishing Ltd**, Oxford, p. 476-513. 2012.

KAWATO, S.; LU, J.; NOZAKI, R.; KONDO, H.; HIRONO, I. Genome Sequence of *Vibrio nigripulchritudo* Strain TUMSAT-TG-2018, Isolated from Diseased Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Microbiol Resour Announc.** 2020 Dec 3;9(49): e01206-20. doi: 10.1128/MRA.01206-20. PMID: 33273004; PMCID: PMC7714859.

KIBENGE, F. S. Emerging viruses in aquaculture. **Current Opinion in Virology**, v. 34, p. 97–103, 2019.

KULKARNI, A. et al. Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 431–459, 2021.

KOOLEN, H. H. F. et al. Buriti fruit—*Mauritia flexuosa*. In: **Exotic Fruits Reference Guide**. Elsevier, 2018. p. 61–67.

KOU, G.-H. et al. **Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and crabs**. 1998.

LAMARÃO, M.L.; FERREIRA, L.M.; GYLES, D.; MORAIS, L.R.B.; SILVA-JÚNIOR, J.O.C.; RIBEIRO-COSTA, R.M. *Pentaclethra macroloba*: A Review of the Biological,

Pharmacological, Phytochemical, Cosmetic, Nutritional and Biofuel Potential of this Amazonian Plant. **Plants**, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12061330>

LAURINDO, L.F.; BARBALHO, S.M.; ARAÚJO, A.C.; GUIGUER, E.L.; MONDAL, A.; BACHTEL, G.; BISHAYEE, A. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) in Health and Disease: A Critical Review. **Nutrients**. 2023 Feb 16;15(4):989. doi: 10.3390/nu15040989. PMID: 36839349; PMCID: PMC9965320.

LEE, S. Y.; SÖDERHÄLL, K. Characterization of a Pattern Recognition Protein, a Masquerade-Like Protein, in the Freshwater Crayfish *Pacifastacus leniusculus*. **The Journal of Immunology**, v. 166, n. 12, p. 7319–7326, 2001.

LEITE, T. C. et al. The effects of açai oil addition in tilapia diets on performance, hepatic energy metabolism enzymes and antioxidant responses. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 1, p. 395–402, 1 jan. 2021.

LI, C.; WENG, S.; HE, J. WSSV–host interaction: Host response and immune evasion. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 84, n. August 2018, p. 558–571, 2019.

LINDHOLM-LEHTO, P. Water quality monitoring in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture, Fish and Fisheries**, v. 3, n. 2, p. 113–131, abr. 2023.

LINH, N. V. et al. Influence of black rice (*Oryza sativa* L.) bran derived anthocyanin-extract on growth rate, immunological response, and immune-antioxidant gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in a biofloc system. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 128, p. 604–611, 2022.

LIGHTNER, D. V. et al. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 2, p. 174–183, 2012.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, 2001.

LIU, S. et al. Hemocyte-Mediated Phagocytosis in Crustaceans. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. March, p. 1–9, 2020.

LO, C. F. et al. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 25, n. 1–2, p. 133–141, 1996

LUCIEN, H. a Success Story: Ecuadorian Shrimp Farming. **International Aquafeed**, n. May 2017, 2017.

NERI-NUMA, I. A. et al. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345–360, 1 jan. 2018.

NEVES, S. R. A. O programa de saúde nas fazendas de camarão (PSF_Camarão) e os seus impactos sobre o desempenho produtivos e econômicos na carcinicultura familiar do Baixo

Rio Pirangi, Ceará, Brasil. 2018. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, n. 2, p. 134–144, 1 fev. 2014.

NUNES, A.J.P; FEIJÓ, R.G.; O Vírus da Mancha Branca e a convivência no cultivo de camarão marinho no Brasil. **Panorama da aquicultura**. 2017. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/o-virus-da-mancha-branca-e-a-convivencia-no-cultivode-camarao-marinho-no-brasil/>. Acesso em: 03 abr. 2017.

NYA, E.J.; AUSTIN, B. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **J. Fish. Dis.** 2009, 32, 963–970.

OAKEY, J. et al. Global distribution of white spot syndrome virus genotypes determined using a novel genotyping assay. **Archives of Virology**, v. 164, n. 8, p. 2061–2082, 1 ago. 2019.

MALONE, R.F; PFEIFFER, T.J. Rating fixed film nitrifying biofilters used in recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering** 34: 389–402. 2006.

MANSOUR, A. T. et al. Aquatic Plants and Aquatic Animals in the Context of Sustainability: Cultivation Techniques, Integration, and Blue Revolution. **Sustainability (Switzerland)** MDPI, 1 mar. 2022.

MANHÃES, L.; MENEZES, E.; MARQUES, A.; SABAA SRUR, A. Flavored buriti oil (*Mauritia flexuosa*, Mart.) for culinary usage: Innovation, production and nutrition value. **J. Culin. Sci. Technol.** 2015, 13, 362–374. DOI: 10.1080/15428052.2015.1058205

MARTINS, C.I.M.; EDING, E.H; VERDEGEM M.C.J; HEINSBROEK L.T.N.; SCHNEIDER O. Blancheton JP et al. (2010) New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: a perspective on environmental sustainability. **Aquacultural Engineering** 43: 83–93.

MATTHEW BRIGGS, SIMON FUNGE-SMITH, R. S. AND M. P. Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. **FAO**, 2004.

MCGAW, I. J.; CURTIS, D. L. A review of gastric processing in decapod crustaceans. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 183, n. 4, p. 443–465, 2013.

MONTEIRO, C. E. et al. *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) attenuates experimental colitis in rats: involvement of TLR4 / COX - 2 / NF - κB. **Inflammopharmacology**, v. 29, n. 1, p. 193–204, 2021.

MORAIS, R.A.; TEIXEIRA, G.L.; FERREIRA, S.R.S.; CIFUENTES, A.; BLOCK, J.M. Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Native Brazilian Fruits of the Areaceae Family and Its Potential Applications for Health Promotion. **Nutrients**. 2022 Sep. 27;14(19):4009. doi: 10.3390/nu14194009.

MORALES-COVARRUBIAS, M.; CUÉLLAR-ANJEL, J.; ELIZONDO-OVARES, C.

Shrimp Bacterial Infections in Latin America: A Review. **Asian Fisheries Science**. 31S. 76-87, 2019. 10.33997/j.afs.2018.31.S1.005.

MUTHUKRISHNAN, S. et al. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* causing Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) isolated from Malaysian shrimp ponds. **Aquaculture**, v. 511, p. 734227, 2019.

KUBITZA, F. PANORAMA DA AQUICULTURA NO BRASIL: Desafios e oportunidades. Revista Panoramada Aquicultura, Rio de Janeiro, n. 164, v. 27 p. 14-27. 2017.

PAUL, B. G.; VOGL, C. R. Impacts of shrimp farming in Bangladesh: challenges and alternatives. **Ocean & Coastal Management**, v. 54, n. 3, p. 201-211, 2011.

PALANIKUMAR, P. et al. Effect of *Argemone mexicana* active principles on inhibiting viral multiplication and stimulating immune system in Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 75, p. 243–252, 1 abr. 2018.

PAKRAVAN, S.; HAJIMORADLOO, A.; GHORBANI, R. Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. **Aquac. Res.** 2012, 43, 861–869.

PERAZZOLO, L.; GARGIONI, R.; OGLIARI, P.; BARRACCO, M. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress, **Aquaculture**. 214 (2002) 19–33. doi:10.1016/S0044-8486(02)00137-0.

PERAZZOLO L.M.; AZEVEDO G.P.R.; FERREIRA J.N.; ROSA R.D. Bacterioma intestinal de camarões marinhos: características, plasticidade e interação com o sistema imune. In: Pilarski F, Campos-Tavares G, Valladão GMR, Dota G, Lizana ML, Takemoto RM (Org.). Sanidade de Organismos Aquáticos: Avanços no diagnóstico, controle e monitoramento de doenças. 1ed. Maringá: **ABRAPOA**, p. 613-632, 2023.

PILOTTO, M. R. et al. Environmental rearing conditions are key determinants of changes in immune gene expression patterns in shrimp midgut. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 106, n. January, p. 103618, 2020.

PILOTTO, M. R. et al. Exploring the impact of the biofloc rearing system and an oral wssv challenge on the intestinal bacteriome of *Litopenaeus vannamei*. **Microorganisms**, v. 6, n. 3, 2018.

PILOTTO, M. R. et al. Potential immunomodulatory and protective effects of the Arthrospira-based dietary supplement on shrimp intestinal immune defenses. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 88, n. February, p. 47–52, 2019.

PRATES, E. C. A. Crescimento compensatório no Camarão Branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931), cultivado em diferentes temperaturas sob restrição alimentar em sistema de bioflocos. 2021.62 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande do Sul.

RAMOS-ESCUADERO, F. et al. Oil From Three Aguaje Morphotypes (*Mauritia flexuosa* L.f.) Extracted by Supercritical Fluid With CO₂: Chemical Composition and Chromatic Properties. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 6, 15 mar. 2022.

REIS, A. F.; SCHMIELE, M. Characteristics and potentialities of Savanna fruits in the food industry. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019.

RODRIGUES, R. B. et al. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4162-4167, 2006.

ROMUALDO, G. R. et al. Protective effects of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart) fruit pulp against initiation step of colon carcinogenesis. **Food Research International**, v. 77, p. 432–440, 1 nov. 2015.

RUNGRASSAMEE, Wanilada et al. Mannooligosaccharides from copra meal improves survival of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) after exposure to *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v. 434, p. 403-410, 2014.

SAKAI, M. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Diseases in Asian Aquaculture**, v. 0, p. 412–417, 1992.

SANT'ANNA, M. Comparação do desempenho zootécnico de juvenis de camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei*, na engorda em sistemas intensivos e superintensivos de bioflocos, em escala piloto. 2021. 38 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande do Sul.

SCHAUSS, A. G. Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea* Mart., known as “Açai”. In: **Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods in Health Promotion**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. p. 179–220.

SHINN, A. P. et al. Asian shrimp production and the economic costs of disease. **Asian Fisheries Science**, v. 31, n. Special Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND), p. 29–58, 2018.

SILVA, S. M. et al. Zootechnical performance, biochemical response, and chromaticity in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931) after the inclusion of lyophilized açai (*Euterpe oleracea*) in the diet. **Aquaculture International**, v. 28, n. 4, p. 1563–1577, 1 ago. 2020.

SILVEIRA, A. S. et al. An immune-related gene expression atlas of the shrimp digestive system in response to two major pathogens brings insights into the involvement of hemocytes in gut immunity. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 79, p. 44–50, 2018.

SIMIÃO, C. DOS S. et al. Inclusion of Amazonian *Mauritia flexuosa* fruit pulp as functional feed in the diet for the juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 4, p. 1731–1742, 1 abr. 2020.

SUMMERFELT, S.T.; SHARRER, M.J.; TSUKUDA, S.M.; GEARHEART, M. Process

requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. **Aquacultural Engineering** 40: 17–27. 2009.

SOONTHORNCHAI, W. et al. Expression of immune-related genes in the digestive organ of shrimp, *Penaeus monodon*, after an oral infection by *Vibrio harveyi*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 34, n. 1, p. 19–28, 1 jan. 2010.

SOONTHORNCHAI, W. et al. Interaction of vibrio spp. with the inner surface of the digestive tract of *Penaeus monodon*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, 18 ago. 2015.

SODERHALL, K.; HALL, L. Lipopolysaccharide-induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish haemocyte lysate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 797, n. 1, p. 99–104, jan. 1984.

TAL, Y; SCHREIER, H.J.; SOWERS K.R.; STUBBLEFIELD J.D.; PLACE A.R.; ZOHAR Y. Environmentally sustainable land-based marine aquaculture. **Aquaculture** 286: 28–35. 2009.

TEIXEIRA, G. L. et al. Composition, thermal behavior and antioxidant activity of pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) seed oil obtained by supercritical CO₂. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 24, 1 mar. 2020.

TÜRKER, H.; YILDIRIM, A.B.; KARAKA, S.; F.P.; KÖYLÜO, H. Antibacterial activities of extracts from some Turkish endemic plants on common fish pathogens. **Turk. J. Biol.** **2009**, 33, 73–78.

TÜRKER, H. et al. Antibacterial activities of extracts from some Turkish endemic plants on common fish pathogens. **Turkish journal of biology**, v. 33, n. 1, p. 73-78, 2009.

VAN DER HOEK, Y.; SOLAS, S. Á.; PEÑUELA, M. C. **The palm *Mauritia flexuosa*, a keystone plant resource on multiple fronts.** **Biodiversity and Conservation** Springer Netherlands, , 15 mar. 2019.

VANDESOMPELE, J. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v. 3, n. 7, p. 1–12, 2002.

VERDEGEM, M.; et al. The contribution of aquaculture systems to global aquaculture production. **Journal of the World Aquaculture Society** John Wiley and Sons Inc, 1 abr. 2023.

VERDEGEM, M.C.J; BOSMA, R.H; VERRETH, J.A.J. Reducing water use for animal production through aquaculture. **International Journal of Water Resources Development** 22: 101–113. 2006.

VIANA, C.A.S.; PAIVA, A.O.; JARDIM, C.V.; RIOS, M.N.S.; PINAGÉ, G.R.; ARIMORO, O.A.S.; SUGANUMA, E.; GUERRA, C.D.; ALVEZ, M.M.P.J. *Plantas da Amazônia: 450 Espécies de Uso Geral*; Universidade de Brasília: Brasília, Brazil, 2011; 3378p, ISBN 9788564593022.

VIEIRA, G. C. et al. Morphological and functional characterization of the hemocytes from the pearl oyster *Pteridaster* and their immune responses against *Vibrio* infections. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 70, p. 750–758, 2017.

WANG, Y. T. et al. White spot syndrome virus (WSSV) infects specific hemocytes of the shrimp *Penaeus merguensis*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 52, p. 249–259, 2002.

WANG, L. et al. Structure and partial protein profiles of the peritrophic membrane (PM) from the gut of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 33, n. 6, p. 1285–1291, 1 dez. 2012.

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 and Shellfish Immunology**, v. 36, n. 1, p. 52–60, 2014.

WU JL, NAMIKOSHI A, NISHIZAWA T, MUSHIAK K, TERUYA K, MUROGA K. Effects of shrimp density on transmission of penaeid acute viremia in *Penaeus japonicus* by cannibalism and the waterborne route. **Disease of Aquatic Organisms**, v. 47, n. 2, p. 129-135, 2001. doi: 10.3354/dao047129. PMID: 11775794.

WU, C.C.; LIU, C.H.; CHANG, Y.P.; HSIEH, S.L. Effects of hot-water extract of *Toona sinensis* on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis mossambicus*. **Fish Shellfish Immun.** 2010, 29, 258–263.

WYCOFF, W. et al. Chemical and nutritional analysis of seeds from purple and white açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 181–187, 2015.

YAMAGUCHI, K. K. DE L. et al. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, n. 4, p. 137–151, 2015.

XIMANGO, P.B.; DA ROCHA, E.B.D.; DE SOUSA, A.M.F.; Scofield, C.F.; Paredes, M.L.L.; Lima, E.R.D.A. Preparation and characterization of patauá and pracaxi Brazilian vegetable oil emulsions. *J. Dispers. Sci Technol.* **2022**, 1–11.

XIMENES, L. F.; VIDAL, M. F. Carcinicultura. **Caderno Setorial ENE. Pesca e Aquicultura**. n° 274, mar. 2023

XIONG, J. et al. Integrating gut microbiota immaturity and disease-discriminatory taxa to diagnose the initiation and severity of shrimp disease. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 4, p. 1490–1501, 2017.

YE, Q. et al. Effects of dietary Gelsemium elegans alkaloids on growth performance, immune responses and disease resistance of *Megalobrama amblycephala*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 91, p. 29–39, 1 ago. 2019.

ZHANG, J. et al. Occurrence, distribution and risk assessment of antibiotics at various aquaculture stages in typical aquaculture areas surrounding the Yellow Sea. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 126, p. 621–632, 1 abr. 2023.

ZHANG, Y.; XIAO, C.; ZHU, F. Effects of dietary quercetin on the innate immune response and resistance to white spot syndrome virus in *Procambarus clarkii*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 118, p. 205–212, 1 nov. 2021

ZHAO, M. et al. Effects of ammonia on shrimp physiology and immunity: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 4, p. 2194–2211, 18 nov. 2020.

ZHOU, H. et al. *Aeromonas hydrophila*, an emerging causative agent of freshwater-farmed whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Microorganisms**, v. 7, n. 10, p. 450, 2019

ZHOU, X. et al. Effects of dietary supplementations with the fibrous root of *Rhizoma Coptidis* and its main alkaloids on non-specific immunity and disease resistance of common carp. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 173, p. 34–38, 2016.