

Fernanda Guimarães de Carvalho

APLICAÇÃO DO SISTEMA DE BIOFLOCOS NA
MATURAÇÃO DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*
(Boone, 1931).

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

Orientador: Edegar Roberto Andreatta

Florianópolis
2015

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

Carvalho, Fernanda Guimarães de

Aplicação do sistema de bioflocos na maturação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) / Fernanda Guimarães de Carvalho ; orientador, Edegar Roberto Andreatta - Florianópolis, SC, 2015.

94 p.

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

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. cultivo heterotrófico. 3. reprodução em cativeiro. 4. camarão branco do Pacífico. 5. hematoimunologia. I. Andreatta, Edegar Roberto. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Aplicação do sistema de bioflocos na maturação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

Por

FERNANDA GUIMARÃES DE CARVALHO

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

DOUTOR EM AQUICULTURA

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



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

Banca Examinadora:



Dr. Edemar Roberto Andreatta – *Orientador*



Dr. Artur de Lima Preto



Dr. Bruno Corrêa da Silva



Dr. José Luiz Pedreira Mouriño



Dr. Rodolfo Luis Petersen



Dr. Walter Quadros Seiffert

Dedico esse trabalho aos meus pais, irmãos e ao meu companheiro Amir, fontes constantes e incansáveis de incentivo e força. Sem vocês minha jornada não teria propósito.

AGRADECIMENTOS

Ao **Departamento de Aquicultura – CCA/UFSC**, em especial ao **Carlito**, por toda a orientação e auxílio durante minha jornada acadêmica nesta instituição;

À equipe do LCM – funcionários, bolsistas e pesquisadores, em especial ao funcionário **Carlos Miranda**, por todo o auxílio ao longo do trabalho de pesquisa. Como muito bem dito em outras ocasiões, ninguém consegue fazer nada sozinho;

Ao servidor **João Santana** por todos os encaminhamentos burocráticos desse trabalho;

Aos gerentes **Carlos Manoel do Espírito Santo, Walter Seiffert** e **Felipe Vieira** por todos os conselhos, dicas e auxílios durante meu trabalho de pesquisa. Enquanto a maioria dos graduandos/pós graduandos tem um coorientador, eu tive três, e sou muito grata por isso;

Aos colegas de laboratório **Janaína, Ícaro, Marco Lorenzo, Priscila, Tarik, Márcia, Gabriella, Isabela, Esmeralda, Lucas, Marysol** e **Daniel** pela ajuda direta nos experimentos. Vocês são show de bola!

Aos alunos Bruno Raupp Lisboa, Cauê Fernando de Menezes Dias, Thiago Januário Silva, Tainá Kuhn, Matheus Pereira Rubi e Giovani Jorge Grape, graduandos do curso de Engenharia de Aquicultura - UFSC, pela preciosa ajuda durante os experimentos. Vocês vão longe! Continuem assim!

À doutoranda **Christiane Guertler** pelas análises hematológico-imunológicas e pela paciência e companheirismo na elucidação das (muitas) dúvidas;

A todos que, direta ou indiretamente, participaram de alguma forma neste trabalho;

À **FAPEU - Fundação de Amparo à Pesquisa e Extensão Universitária**; e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, através da Chamada Universal nº 14/2012 (CNPq/521454/473572/2012-5), pelo apoio financeiro a este trabalho de pesquisa;

À **instituição Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari** por ter me acolhido e apostado em mim como profissional e pela concessão do afastamento integral tão importante para a realização deste trabalho;

À **família IFC-Campus Araquari**, em especial aos amigos e colegas de trabalho **Jonas, Stella, Maurício, Simone, Artur, João, Erica, Delano** e **Jatobá** por toda a amizade ao longo desse tempo;

Ao professor **Edemar Roberto Andreatta**, por toda a paciência e orientação, não só academicamente, mas também para a vida, ao longo desses treze (!) anos de convivência presencial ou virtual;

Ao meu companheiro, amigo, amor da minha vida e maior incentivador **Amir Tauille** por todo carinho, compreensão e paciência durante todo o meu trabalho. Sem sua ajuda e presença isso tudo seria infinitamente mais difícil. Obrigada por estar na minha vida;

À minha **família** – pais e irmãos, por todo o amor e suporte emocional, mesmo à distância;

A **Deus**, pela onipresença e bênçãos lançadas ao longo de toda a minha vida;

A todos vocês, o meu MUITO OBRIGADO!

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”. (George Bernard Shaw)

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver estrutura para cercamento e captura de reprodutores em tanque de maturação com sistema de bioflocos, bem como avaliar a viabilidade e o desempenho nos parâmetros reprodutivos, de qualidade de água e hemato-imunológicos da inserção do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. No primeiro trabalho, foi proposto o uso de uma estrutura móvel para concentração e suspensão das matrizes a fim de contornar a falta de limpidez da água para a separação de fêmeas copuladas. Estratégias adaptadas de manejo alimentar e qualidade de água também são aplicadas. Os rearranjos foram avaliados quanto aos valores de pH, oxigênio dissolvido, temperatura, sólidos suspensos, alcalinidade, amônia total, nitrito e nitrato, além do número de cópulas com desova, número de ovos/fêmea, número de náuplios/fêmea e taxa de eclosão de ovos observados durante o período de análise. Detectou-se que os resultados de desempenho reprodutivo e dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água são compatíveis com a espécie cultivada, indicando a possibilidade de utilização do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro de *Litopenaeus vannamei*. No segundo trabalho foram aplicados dois tratamentos, com três repetições cada: um teste (Bioflocos - BFT) e um controle (Água Clara - AC). Os tratamentos foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos de água, parâmetros reprodutivos e hemato-imunológicos. Com exceção da viabilidade espermática e sobrevivência, nos quais o tratamento AC alcançou melhores resultados, não houve diferença significativa no desempenho reprodutivo dos tratamentos aplicados ($p > 0,05$). Já em relação aos parâmetros físico-químicos de água, exceto para o pH, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os parâmetros avaliados; tendo o tratamento BFT alcançado resultados melhores e mais homogêneos ao longo do período experimental. Por fim, sobre os resultados dos parâmetros hemato-imunológicos, o tratamento BFT alcançou desempenho melhor em relação à contagem total de hemócitos; contudo, em ambos os tratamentos, os resultados da fenoxidase sugerem que a condição de estresse em que os mesmos se encontravam é atribuída aos eventos fisiológicos da reprodução. A ausência de detecção de efeito significativo dos tratamentos aplicados sobre o desempenho reprodutivo e o perfil imunológico dos organismos avaliados, em conjunto com o melhor desempenho do tratamento BFT nos parâmetros físico-químicos de água, sugerem ser possível a inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação em cativeiro sem

maiores comprometimentos ao desempenho reprodutivo e imunológico de *Litopenaeus vannamei* em cativeiro.

Palavras-chave: Aquicultura; cultivo heterotrófico; reprodução em cativeiro; camarão branco do Pacífico; hemato-imunologia.

ABSTRACT

The goals of this study were to develop a framework for breeders fencing and capture in reproductive system with bioflocos technology, as well as to evaluate the feasibility and reproductive, water quality and hemato-immunological performance of using bioflocs system in marine shrimp *Litopenaeus vannamei* broodstock. In the first study, it was proposed to use a movable structure to concentration and suspension arrays in order to overcome the lack of water clarity for the separation of females copulated. Adapted strategies for feed management and water quality are also applied. Rearrangements were evaluated for pH, dissolved oxygen, temperature, suspended solids, alkalinity, total ammonia, nitrite and nitrate, and the number of copulations with spawning, egg number / female, number of nauplii / female and hatching rate of eggs observed during the analysis period. It was found that the results of reproductive performance and physicochemical parameters of water quality are compatible with the cultivated species, indicating the possibility of using the bioflocs system with maturation in captivity of *Litopenaeus vannamei*. In the second study were applied two treatments with three replicates each: a test (Bioflocos - BFT) and a control (Water Clara - AC). The treatments were evaluated for physicochemical parameters of water, reproductive and hemato-immunological parameters. Except for sperm survival and viability, in which the AC treatment achieved better results, there was no significant difference in reproductive performance of the applied treatments ($p > 0.05$). In relation to the physical-chemical parameters of water, except for the pH, a significant difference ($p < 0.05$) was detected in all parameters; having BFT treatment achieved better results and more homogeneous throughout the experimental period. Finally, on the results of hemato-immunological parameters, the BFT treatment achieved better performance in relation to the total count of hemocytes; However, in both treatments, of phenoloxidase results suggest that the stress condition in which they are found is attributed to physiological events of reproduction. The lack of significant effect detection of the treatments on reproductive performance and the immune profile of this body, together with the best performance BFT treatment in the physico-chemical water parameters suggest that is possible the insertion of bioflocs technology in the captive maturation without major compromises the reproductive and immune performance of *Litopenaeus vannamei*.

Keywords: aquaculture; heterotrophic culture; broodstock; Pacific white shrimp; hemato-immunology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características físico-químicas do inóculo de bioflocos utilizado em tanque de reprodução de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i>	41
Tabela 2 Características físico-químicas do inóculo de bioflocos utilizado em tanques de reprodução de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos ao tratamento experimental: Bioflocos (BFT)	56
Tabela 3 Resultados de parâmetros físico-químicos de qualidade de água (média + e.p) em tanques de reprodução de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).	62
Tabela 4 Desempenho reprodutivo (média + e.p) de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).....	65
Tabela 5 Resultados médios de Contagem Total de Hemócitos (CTH), Quantificação de ânion superóxido (ROIS), Título Aglutinante, Proteínas Totais do Soro (CP) e Atividade da Fenoloxidase (PO) (média + e.p) de reprodutores de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura armada utilizada para captura de reprodutores de <i>Litopenaeus vannamei</i> em tanque de cultivo inoculado com bioflocos: A) Gaiola móvel; B) Tela móvel destacável; C) Roldanas para suspensão da estrutura completa.	40
Figura 2 Comportamento dos níveis de amônia total (AT-N - A), nitrito (N-NO ₂ - B) e nitrato (N-NO ₃ - C) em tanque de reprodutores de <i>Litopenaeus vannamei</i> inoculado com bioflocos ao longo do período de análises (quatro semanas).	44
Figura 3 Esquema de armação móvel utilizada em tanques de maturação de <i>L. vannamei</i> para captura de reprodutores do tratamento Bioflocos (BFT). 1A: gaiola no tanque; 1B: tela móvel.....	58
Figura 4 Comportamento de parâmetros físico químicos: Temperatura (A); Oxigênio Dissolvido (B) e Consumo semanal de água (C) em tanques de reprodução de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).	66
Figura 5 Comportamento de parâmetros físico químicos de qualidade de água: Fosfato (A); Amônia (B), Nitrito (C), Nitrato (D), Alcalinidade (E) e pH (F) em tanques de reprodução de camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).	67

SUMÁRIO

Capítulo I.....	23
Revisão: Carcinicultura em sistema de bioflocos, maturação em cativeiro e sistema imunológico de crustáceos.....	23
1 Introdução	24
1.1 Carcinicultura Marinha.....	24
1.2 Carcinicultura no sistema de bioflocos (BFT).....	25
1.3 Maturação em cativeiro: características, entraves e estratégias..	27
1.4 Sistema imunológico de crustáceos.....	28
2 Justificativa.....	31
3 Objetivos	33
3.1 Geral.....	33
3.2 Específicos.....	33
4 Formatação dos Artigos.....	33
Capítulo II	35
PRIMEIRO RELATO DA INSERÇÃO DO SISTEMA DE BIOFLOCOS NA MATURAÇÃO EM CATIVEIRO DO CAMARÃO MARINHO <i>Litopenaeus vannamei</i>	35
5 Resumo.....	36
6 abstract	36
7 Introdução	37
8 Material e Métodos.....	38
8.1 Local de execução e material biológico	38
8.2 Ambiente de maturação.....	38
8.3 Manejo alimentar.....	39
8.4 Estratégia para manejo e captura de reprodutores.....	39
8.5 Inoculação de bioflocos.....	40
8.6 Manejo de qualidade de água	41
8.7 Desempenho reprodutivo.....	41
9 Resultados.....	42
9.1 Qualidade de Água	42
9.2 Desempenho reprodutivo.....	42
10 Discussão	43

11	Conclusão	46
12	Agradecimentos	46
13	Referências Bibliográficas	46
Capítulo III.....		51
AVALIAÇÃO DA INSERÇÃO DO SISTEMA DE BIOFLOCOS NA MATURAÇÃO EM CATIVEIRO DO CAMARÃO MARINHO <i>Litopenaeus vannamei</i>		51
14	Resumo.....	52
15	Introdução.....	53
16	Material e Métodos.....	54
16.1	Material biológico	54
16.2	Delineamento e ambiente experimental	55
16.3	Manejo alimentar.....	55
16.4	Água de cultivo	55
16.5	Manejo de qualidade de água	56
16.6	Estratégia para manejo e captura de reprodutores	57
16.7	Desempenho reprodutivo	57
16.7.1	Produção de ovos e náuplios	57
16.7.2	Viabilidade espermática.....	58
16.8	Parâmetros Hemato-imunológicos	58
16.8.1	Coleta de hemolinfa para contagem total de hemócitos e quantificação da produção intracelular de ânions superóxido	59
16.8.2	Preparação do soro	59
16.8.3	Determinação do título de aglutininas/lectinas do soro	59
16.8.4	Concentração das proteínas totais do soro (CP).....	60
16.8.5	Atividade da fenoloxidase (PO).....	60
16.9	Análise estatística.....	60
17	Resultados e discussão.....	60
17.1	Parâmetros físico-químicos de qualidade de água.....	60
17.2	Desempenho reprodutivo	64
17.3	Parâmetros Hemato-imunológicos	68
17.3.1	Contagem total de hemócitos (CTH)	68

17.3.2	Quantificação da produção intracelular de ânions superóxido.....	70
17.3.3	Título aglutinante.....	70
17.3.4	Concentração das proteínas totais do soro (CP).....	71
17.3.5	Atividade da fenoloxidase (PO).....	71
18	Conclusões.....	72
19	Agradecimentos	72
20	Referências Bibliográficas.....	72
	CONCLUSÕES.....	83
	ÚLTIMAS CONSIDERAÇÕES E RECOMENDAÇÕES	85
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO	87

CAPÍTULO I

**REVISÃO: CARCINICULTURA EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS, MATURAÇÃO EM CATIVEIRO E SISTEMA
IMUNOLÓGICO DE CRUSTÁCEOS.**

1 INTRODUÇÃO

1.1 Carcinicultura Marinha

Os crustáceos constituem um dos mais importantes grupos zoológicos da natureza. É chamado de carcinicultura marinha o cultivo de crustáceos de águas marinhas e salobras, sendo que, dentre estes, os camarões se destacam devido ao fato do seu ciclo produtivo ser rápido e em larga escala, o que proporciona grandes possibilidades de lucros (BARRACCO et al., 2008). A carcinicultura teve seu início no Sudeste da Ásia, mediante abastecimento dos viveiros com os regimes de marés (ANDREATTA; BELTRAME, 2008; BARRACCO et al., 2008). Na década de 1930 iniciou-se a chamada carcinicultura moderna, com o início das primeiras larviculturas de *Marsupenaeus japonicus* no Japão, enquanto que a partir das décadas de 1970 e 1980 a atividade sofreu uma grande expansão em decorrência do incremento da produção de pós-larvas em cativeiro (RÖNNBÄCK, 2002), concomitantemente à estagnação da pesca e maior intensificação dos cultivos (FAO, 2014).

No Brasil, esta atividade se iniciou na década de 1970 com os cultivos dos camarões das espécies *Farfantepenaeus paulensis* e *Marsupenaeus japonicus*, sendo que sua ascensão foi possível a partir do final da década de 1990, devido principalmente à introdução da espécie exótica *Litopenaeus vannamei*, aliada a fatores tais como grande disponibilidade de água e clima favorável (ROCHA; MAIA, 1998; RESENDE, 2009). Globalmente falando, este é um ramo de importância expressiva na Ásia e na América Latina, tendo sido responsável pela produção aproximada de 4,45 milhões de toneladas de camarões em 2013 (ANDREATTA; BELTRAME, 2008; FAO, 2015).

Tendo em vista a sempre crescente demanda dessa atividade, a expansão e intensificação do seu cultivo são altamente necessárias (CRAB et al., 2012). Contudo, apesar da carcinicultura ser menos danosa ao ambiente quando comparada a outras atividades comerciais humanas clássicas tais como a agropecuária e a indústria (PÁEZ-OSUNA, 2001), o significativo crescimento da atividade trouxe uma série de questionamentos relacionados principalmente à sustentabilidade do setor. Em primeiro lugar, a carcinicultura tem grande dependência do ambiente de entorno. Essa dependência se dá tanto como elemento de absorção dos efluentes gerados quanto como fonte de matéria prima para a elaboração de rações comerciais. E, levando-se em conta a evidência de que para cada quilo camarão despescado são necessários 1,4 quilos de organismos pescados (Sheperd, 2005; Tacon; Metian, 2008), essa

dependência traz como consequências, além do impacto aos ecossistemas marinhos naturais, o encarecimento da atividade (FOLKE et al., 1998; EMERENCIANO, 2012).

Adicionalmente, os efluentes gerados pela atividade caracterizam-se pela sua alta carga de matéria orgânica, em decorrência dos restos da ração oferecida aos organismos cultivados e dos compostos nitrogenados oriundos nos excretas dos mesmos. Esses efluentes, além de possivelmente ocasionarem a eutrofização do ambiente de entorno e o escape de espécies exóticas para o ambiente, constituem um desperdício de potenciais fontes de alimento ao camarão estocado e provável veículo de dispersão de patógenos (KINNE et al., 2001; MOSS et al., 2001; AVNIMELECH, 2007).

Na última década o cultivo de camarões marinhos foi seriamente afetado pela dispersão horizontal (tanque a tanque ou fazenda a fazenda) ou vertical (animal-animal) de doenças tais como a Mancha branca, a Síndrome de Taura, a Infecção hipodermal e Necrose hematopoiética, dentre outras, causando grandes mortalidades, produtividades significativamente menores e, conseqüentemente, grandes perdas financeiras (MOSS et al., 2001, 2012; LIGHTNER, 2003; WASIELESKY et al., 2006; MISHRA et al., 2008; EMERENCIANO, 2012).

Portanto, para que a carcinicultura seja realmente vantajosa no sentido mais amplo da palavra, faz-se necessária, além da diminuição da dependência da pesca, a amplificação de práticas para a proteção do ambiente costeiro em conjunto com o estabelecimento de sistemas de cultivo que proporcionem uma relação custo/benefício que possibilite uma crescente sustentabilidade dos mesmos (NAYLOR et al., 2000; CRAB et al., 2012).

1.2 Carcinicultura no sistema de bioflocos (BFT)

Como estratégia para driblar estas problemáticas, surgem novos conceitos de sistemas produtivos sem renovação de água (AVNIMELECH, 2009; BALLESTER et al., 2010; EMERENCIANO, 2012). Nestas modalidades as comunidades microbianas e fitoplanctônicas desempenham um papel fundamental na transformação dos nutrientes da água de cultivo em biomassa celular. Assim, o que o sistema produz de catabólitos é reciclado no próprio tanque e a biomassa da microbiota produzida é diretamente utilizada pelos camarões como alimento de alta qualidade, o que reduz os gastos com ração. Adicionalmente, esse sistema é caracterizado por apresentar alta produtividade, podendo chegar a 10 kg de camarão por metro cúbico de

água (FERNANDES DA SILVA et al., 2008; AZIM; LITTLE, 2008; FRÓES et al., 2013; SCHVEITZER et al., 2013).

Neste aspecto encontra-se o sistema de bioflocos (BFT), ou cultivo heterotrófico (EMERENCIANO et al., 2007; SCHVEITZER et al., 2008; AVNIMELECH, 2009). Os primeiros conceitos dessa modalidade de cultivo foram desenvolvidos no início da década de 1970 com diferentes espécies de camarões peneídeos (*Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus merguensis*, *Litopenaeus vannamei* e *Litopenaeus stylirostris*), concomitantemente com o desenvolvimento de sistemas de cultivo de camarão com bactérias nitrificantes mantidas no escuro aplicados nos Estados Unidos e Tahiti. Entre os anos 1980 e 1990, Israel e EUA iniciaram cultivos com tilápia e *L. vannamei*, enquanto que no ano 2000 o sistema foi implementado com sucesso em Belize, seguido da Indonésia e Austrália. Hoje, essa modalidade de cultivo é aplicada na Ásia, América Central, América do Sul e Estados Unidos da América (Jatobá, 2014; Emerenciano et al., 2013b; Taw, 2010).

Os bioflocos consistem agregados microbianos formados por bactérias heterotróficas, microalgas, fungos, fezes, protozoários, restos de ração e exoesqueletos, dentre outros, que são constituídos mediante adição de fontes de carbono concomitante com aeração constante e vigorosa da água do viveiro. (WASIELESKY et al., 2006; CRAB et al., 2007; AZIM; LITTLE, 2008). Uma vez estabelecidos, estes agregados, através de processo heterotrófico, controlam o acúmulo de compostos nitrogenados através da sua imobilização durante o metabolismo do carboidrato utilizado para a formação de proteínas celulares para crescimento. (AVNIMELECH, 1999; LARA et al., 2013).

Desta forma, o sistema de bioflocos possibilita uma série de vantagens. Em primeiro lugar, a atividade microbiana resulta na assimilação dos compostos nitrogenados presentes na água, o que não só evita o acúmulo dessas excretas no ambiente de cultivo como também faz com que os mesmos sejam convertidos em proteína microbiana, a qual, por sua vez, pode fazer parte da alimentação dos organismos estocados. Além do mais, os agregados orgânicos presentes nesse sistema caracterizam-se por serem fonte de ácidos graxos, aminoácidos e minerais, além de possuir alguns aminoácidos essenciais tais como treonina, lisina, valina, configurando, desta forma, um excelente suplemento alimentar disponível 24 h por dia (DE SCHRYVER et al., 2008; LARA et al., 2013; JATOBÁ, 2014).

Essa assimilação, por sua vez, permite que o sistema opere em reduzidas ou nulas taxas de renovação da água de cultivo, permitindo uma economia substancial com bombeamento, tratamento e

aquecimento de água. Adicionalmente, esse sistema também possibilita uma maior estabilidade dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água, o que permite um ambiente de cultivo com mais conforto aos organismos estocados. Todas essas vantagens, quando associadas, tem como consequências a possibilidade de ciclos de cultivo com maior densidade de estocagem em uma menor área de cultivo, além de reduzir os riscos de introdução de patógenos ao meio e de escapes de animais exóticos ao ambiente de entorno, melhorando, desta forma, a biossegurança da atividade. (WASIELESKY et al., 2006; PANJAITAN, 2010; GAO et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2013).

Adicionalmente, a observação de sua aplicação não só nos tanques de engorda, mas também nos berçários e pré-maturação, indica a possibilidade de utilização e aprimoramento do mesmo em diferentes etapas do ciclo produtivo de camarões marinhos, desde que exista uma sólida compreensão dos conceitos básicos relativos a esta nova tecnologia, bem como sejam respeitados os protocolos adequados de manejo. (TAW, 2010; EMERENCIANO et al., 2013).

1.3 Maturação em cativeiro: características, entraves e estratégias

Dentre estas etapas do ciclo de cultivo de camarões marinhos com potencial para inserção do sistema de bioflocos encontra-se a maturação em cativeiro, que consiste na manutenção de matrizes em regime de confinamento para fins de produção de larvas. (BRAY; LAWRENCE, 1992). Tendo em vista a crescente demanda comercial do setor, faz-se absolutamente necessária que a reprodução em cativeiro tenha produção constante, em quantidade e qualidade, a fim de garantir o fornecimento constante e eficaz de pós larvas para as fazendas de cultivo e assegurar, desta forma a produção. (BEARD et al., 1977; BROWDY, 1998; EMERENCIANO et al., 2014). Adicionalmente, o uso de reprodutores produzidos em cativeiro possibilita não só a total desvinculação do ciclo produtivo da carcinicultura dos ecossistemas naturais, evitando, desta forma, maiores impactos ambientais e possibilitando uma maior sustentabilidade da atividade, como também a domesticação e o melhoramento genético das linhagens. (EMERENCIANO et al., 2014).

A despeito de sua grande importância, os atuais sistemas de maturação em cativeiro possuem características que vão contra os preceitos da aquicultura sustentável. Em primeiro lugar, a maioria dos empreendimentos de maturação em cativeiro adotam elevadas taxas diárias de renovação de água – entre 100% e 300%. Esse alto percentual

de troca de água, além de implicar em altos gastos com seu bombeamento, acondicionamento e aquecimento, também significa um alto volume de efluentes a serem descarregados no ambiente e um risco significativo de dispersão de possíveis patógenos. (MENASVETA et al., 1989; BARBIERI JR; OSTRENSKI NETO, 2001; EMERENCIANO et al., 2013).

Além do mais, tais empreendimentos costumam empregar baixas densidades de estocagem nos tanques de cultivo, o que implica na necessidade de uma grande área coberta e controlada de cultivo a ser disponibilizada aos mesmos. (BARBIERI JR; OSTRENSKI NETO, 2001; EMERENCIANO et al., 2013). Por fim, para atender às demandas fisiológicas relativas ao desenvolvimento gonadal, embrionário e larval em cativeiro, adota-se um regime alimentar constituído por rações com alto percentual de proteína bruta associadas a grandes quantidades de alimento fresco. Esse perfil alimentar acarreta em alto custo para aquisição e armazenamento dos mesmos, grande dependência da pesca como fonte de itens alimentares, bem como em alta carga de matéria orgânica nos efluentes gerados (ANDREATTA; BELTRAME, 2008; EMERENCIANO et al., 2013).

Como alternativa para contornar as problemáticas financeiras e ambientais do sistema e ao mesmo tempo garantir a produtividade e a biossegurança da atividade, é fundamental o total fechamento do ciclo de produção de matrizes, de forma a se diminuir o fluxo de água no sistema (GANDY et al., 2007; SCHVEITZER et al., 2008). A adaptação da maturação em cativeiro em sistemas com troca zero de água como bioflocos pode trazer vantagens tais como o estabelecimento de um sistema de cultivo com menor variabilidade dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água. Essa menor variabilidade resulta em mais conforto ambiental aos organismos estocados e menos gastos com captação e tratamento de água.

Além do mais, o sistema de maturação fechado resulta na retenção de ferormônios femininos produzidos durante a coorte e em menos riscos de introdução e disseminação de patógenos (MENASVETA et al., 2001; OTOSHI et al., 2003; GANDY et al., 2007; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ et al., 2009), garantindo assim a sua biossegurança e o aprimoramento de parâmetros hemato-imunológicos dos organismos estocados. (EKASARI et al., 2014).

1.4 Sistema imunológico de crustáceos

No que diz respeito ao reflexo da condição imunológica de organismos aquáticos cultivados nos sistemas produtivos, a atividade

ainda tem como maior fator limitante as patologias em geral e seus impactos. (RODRÍGUEZ; LE MOULLAC, 2000; EKASARI et al., 2014). Logo, o sucesso da indústria camaroneira depende do controle de patologias e da resistência dos organismos cultivados. (RODRÍGUEZ; LE MOULLAC, 2000), os quais, por sua vez, tem ligação direta com o sistema imune dos mesmos.

A primeira barreira imunológica dos crustáceos é uma barreira física, constituída pelo exoesqueleto. Esta barreira estende-se por todo o trato digestivo que, por sua vez, ainda fornece um ambiente ácido que inativa e elimina a maioria dos potenciais invasores. (BARRACCO et al., 2008; VAZQUEZ et al., 2009). O eventual rompimento desta barreira desencadeia uma série de reações com o intuito de neutralizar ou eliminar os invasores. Adicionalmente, o sistema circulatório dos crustáceos caracteriza-se por ser aberto, no qual nutrientes, hormônios e células se distribuem por todo o corpo através da hemolinfa. Seu sistema imune utiliza mecanismos inatos que atuam na proteção contra a invasão. Essa atuação se dá mediante coagulação, melanização, reconhecimento e aglutinação celular, fagocitose e encapsulamento e citotoxicidade (VAZQUEZ *et al.*, 2009; CERENIUS *et al.*, 2010; FREDRICK and RAVICHANDRAN, 2012), garantindo, assim, sua integridade física e sanitária.

A ausência característica de um sistema imune específico nos crustáceos faz com que este sistema inato tenha papel fundamental na sua defesa. Este sistema inclui respostas humorais e celulares, sendo esta última de responsabilidade dos hemócitos circulantes da hemolinfa. Os hemócitos correspondem à barreira celular responsável pela defesa contra agentes patogênicos, e sua mensuração permite estabelecer uma relação entre os valores alcançados e as condições sanitárias dos organismos avaliados (BACHÈRE et al., 2004; CERENIUS; SÖDERHÄLL, 2012; EKASARI et al., 2014).

Dentre as respostas humorais, temos a aglutinação, a profenoloxidase e a produção de íons superóxido. VAZQUEZ et al. (2009) explicam que a aglutinação é resultado da presença de moléculas proteicas genericamente chamadas de lectinas. As lectinas são consideradas similares aos anticorpos, e agem reconhecendo carboidratos de superfície celular, induzindo a aglutinação ou fagocitose de possíveis fatores externos. Portanto, alterações nesse parâmetro podem estar associadas a fatores tais como níveis de estresse, presença de agentes patológicos e corpos estranhos em seu sistema circulatório ou mesmo a qualidade reprodutiva de machos de camarões peneídeos (CUÉLLAR-ANJEL 2008; PAULEY 1973; PÉREZ-JAR et al. 2006).

No que diz respeito à concentração proteica no plasma, MAGGIONI et al. (2004) e LE MOULLAC; HAFFNER (2000) explicam que este índice em camarões podem variar a depender de uma série de fatores, tais como temperatura, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido e presença de patógenos. Este parâmetro também pode sofrer influência da idade, etapa do ciclo reprodutivo e níveis de estresse do manejo aplicado (BARRACCO et al. 2008; SCHLEDER et al. 2008; CUÉLLAR-ANJEL 2008); adicionalmente, gerações sucessivas oriundas de um mesmo grupo de organismos podem resultar em alterações no metabolismo proteico de seus descendentes, ocasionando possíveis reflexos negativos em seu sistema imune (PÉREZ-JAR et al. 2006).

Outra estratégia imunitária dos crustáceos envolve a produção de compostos reativos intermediários de oxigênio. Conforme explicam CUELLAR-ANJEL (2008) e SCHLEDER et al. (2008), a presença de partículas estranhas sobre a superfície dos hemócitos acarreta no incremento da atividade metabólica dos mesmos, resultando no aumento do consumo de oxigênio celular através da enzima NADPH oxidase. Alguns dos compostos reativos formados são o peróxido de hidrogênio e o ânion superóxido, que são altamente tóxicos e estão relacionados com atividade antimicrobiana e com a destruição de agentes infectantes. BARRACCO et al. (2008) acrescentam que esses radicais de oxigênio possuem elétrons livres em sua superfície mais externa, o que lhes dá uma alta capacidade reativa com qualquer estrutura ou composto circundante, tais como membranas celulares, proteínas e ácidos nucleicos.

Portanto, a presença destes compostos podem causar danos tanto nos organismos invasores quanto no próprio hospedeiro. Para contornar esses efeitos, o organismo conta com mecanismos de defesa antioxidantes, tais como as enzimas catalase e glutathione peroxidase, e a presença em altas concentrações dos compostos reativos de oxigênio no hospedeiro podem indicar baixa capacidade imunológica de eliminação dos mesmos (BARRACCO et al., 2008).

Já a fenoloxidase é uma enzima que atua na oxidação da tirosina e L-DOPA gerando intermediários tóxicos e melanina, cuja gama de funções inclui auxílio na cicatrização de injúrias e na regulação do sistema imune adaptativo. (FREDRICK; RAVICHANDRAN 2012). Sua ativação inicia uma sucessão de eventos proteolíticos que culminam na melanização de corpos estranhos ao indivíduo, sendo este processo um dos mais importantes para o sistema imune de crustáceos (CERENIUS et al., 2010; EKASARI et al., 2014). VAZQUÉZ et al.

(2009) explicam que a melanina é um pigmento com diversas funções imunológicas, tais como inibição enzimática de fungos e bactérias. Os autores acrescentam que esse processo está relacionado com a exocitose de hemócitos granulares, o qual é induzido por compostos tais como laminarina, lipopolissacarídeos ou parede celular de levedura (RODRÍGUEZ; LE MOULLAC 2000; SCHLEDER et al. 2008; VAZQUEZ et al. 2009).

Sabe-se que alterações significativas dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água podem influenciar severamente o metabolismo, crescimento, muda e sobrevivência de organismos em cativeiro (LE MOULLAC; HAFFNER, 2000), os quais, por sua vez, interferem no desempenho do sistema imune. Neste aspecto, em relação aos reflexos do sistema de bioflocos no cultivo de camarões, é sabido que dentre as suas principais vantagens, além da suplementação alimentar, está o estímulo da atividade enzimática do aparelho digestório, além de possuir possível efeito probiótico. (XU; PAN, 2013).

Adicionalmente, a presença do biofoco no trato gastrointestinal do camarão serve como estímulo às respostas inatas do sistema imune, além de aumentar a concentração dos hemócitos no sistema circulatório, mediante presença de substâncias tais como componentes celulares microbianos e compostos bioativos. (JOHNSON et al., 2008; JU et al., 2008; XU; PAN, 2013). Por fim, a presença dos agregados microbianos, quando bem manejados, pode tanto inibir a proliferação de microrganismos indesejáveis (BRITO et al., 2015), quanto aprimorar a propriedade antioxidante do plasma e hepatopâncreas dos organismos cultivados (EKASARI et al., 2014).

2 JUSTIFICATIVA

Os sistemas de maturação em cativeiro usualmente aplicados caracterizam-se por utilizarem grandes volumes de água com densidades de estocagem inferiores a 10 camarões/m²; altas taxas de renovação de água para garantir a limpeza e facilitar o manejo dos tanques e alta frequência de fornecimento alimentar. A aplicação do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro poderia trazer vantagens tais como uma maior estabilidade dos parâmetros de qualidade de água, possibilitando a troca mínima ou zero da mesma e, conseqüentemente, maior economia de energia no bombeamento, tratamento e, especialmente, no aquecimento da água.

Outra vantagem seria a possibilidade de uma maior densidade de estocagem nos tanques de maturação, o que permitiria uma maior produtividade do setor. Além do mais, a comunidade microbiana

heterotrófica presente nesse sistema de cultivo apresenta potencial para manutenção de uma maior estabilidade dos parâmetros da qualidade da água de cultivo e controle da presença e da dispersão de possíveis patógenos. Adicionalmente, também pode proporcionar melhoria da retenção do nitrogênio presente na ração e dos parâmetros imunológicos dos organismos. Por fim, a disponibilização de alimento natural rico em lipídios e proteínas durante as 24 h do dia proporcionaria redução nos gastos com a alimentação dos organismos confinados e traria efeitos benéficos nos processos reprodutivos em cativeiro.

Em Santa Catarina, o Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), localizado em Florianópolis/SC, iniciou em 1984 estudos sobre a reprodução em cativeiro e cultivo do camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) e do camarão branco nativo (*Litopenaeus schmitti*). Já em 1998 iniciou-se no Estado um programa de pesquisas para a produção em cativeiro do *Litopenaeus vannamei*, em decorrência de seus excelentes resultados nas unidades de produção.

Desde o final do ano de 2004 o LCM tem feito uso de bioflocos para produção de matrizes de camarão marinho da espécie *L. vannamei*, como forma de atendimento de requisitos de biossegurança relacionados à ISO 14.001. Contudo, apesar dos significativos avanços alcançados nesta linha, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas até que seja possível a real implementação e que seja alcançado sucesso desta modalidade de cultivo na carcinicultura marinha. Dentre estas, encontra-se o conhecimento pleno dos possíveis benefícios que podem ser proporcionados pelo sistema de bioflocos na maturação em cativeiro de camarões marinhos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Contribuir com os estudos para inserção do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.

3.2 Específicos

- ✓ Desenvolver estrutura para cercamento e captura de reprodutores em tanque de maturação com sistema de bioflocos;
- ✓ Avaliar a viabilidade técnica da maturação em cativeiro do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos;
- ✓ Avaliar o desempenho reprodutivo em cativeiro do camarão *L. vannamei* em sistema de bioflocos;
- ✓ Avaliar os reflexos hemato-imunológicos e de qualidade de água da inserção do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro do camarão marinho *L. vannamei*.

4 FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS

A tese está dividida em três capítulos. O primeiro é referente à introdução e revisão de literatura e os demais correspondem cada um a um artigo. O primeiro artigo está formatado de acordo com o Boletim do Instituto de Pesca (Qualis B2) e o segundo está formatados de acordo com as normas da revista Aquacultural Engineering (Qualis A1).

CAPÍTULO II

PRIMEIRO RELATO DA INSERÇÃO DO SISTEMA DE BIOFLOCOS NA MATURAÇÃO EM CATIVEIRO DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*

Fernanda Guimarães de Carvalho^{1*}, Janaína Gonçalves da Silva²,
Lucas Gomes Mendes², Edegar Roberto Andreatta²

^{1*}: Instituto Federal Catarinense (IFC), Rodovia BR 280 km 27,
Cx. Postal 21, Araquari, SC, 89245-000. Email: carvalhofernanda@ifc-araquari.edu.br;

²: Laboratório de Camarões Marinhos, Departamento de
Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC),
Florianópolis, SC, 88061-600.

5 RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver estrutura para cercamento e captura de reprodutores em tanque de maturação com sistema de bioflocos, bem como avaliar a viabilidade técnica da utilização do sistema de bioflocos na maturação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em cativeiro. Este é o primeiro trabalho de pesquisa para a inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação de camarões desta espécie em cativeiro. Foi proposto o uso de uma estrutura móvel para concentração e suspensão das matrizes a fim de contornar a falta de limpidez da água na ocasião da separação das fêmeas copuladas. Estratégias adaptadas de manejo alimentar e qualidade de água também foram aplicadas. Os ajustes foram avaliados quanto aos valores de pH, oxigênio dissolvido, temperatura, sólidos suspensos, alcalinidade, amônia total, nitrito e nitrato, assim como quanto a número de cópulas com desova, número de ovos/fêmea, número de náuplios/fêmea e taxa de eclosão de ovos observados durante o período de análise. Detectou-se que os resultados de desempenho reprodutivo e dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água são compatíveis com a espécie cultivada, indicando a possibilidade de utilização do sistema de bioflocos na maturação de camarão marinho da espécie *Litopenaeus vannamei* em cativeiro.

Palavras-chave: camarão branco do Pacífico, cultivo heterotrófico; reprodução; desempenho reprodutivo.

6 ABSTRACT

The aim of this study was to to develop a framework for breeders fencing and capture in reproductive system with bioflocos technology, as well as to evaluate the feasibility of maturation in captivity of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* in bioflocs system. This is the first research work with the insertion of bioflocs technology in *Litopenaeus vannamei* broodstock. It is proposed to use a portable structure to concentrate and elevate of the breeders in order to overcome the lack of transparency of the environment. New feed management and water quality management strategies in this alternative system are also proposed. Rearrangements were evaluated for pH, dissolved oxygen, temperature, suspended solids, alkalinity, total ammonia, nitrite and nitrate, and the number of spawns, number of eggs/spawn, number of nauplii/spawn and hatching rate observed during the analysis period. It turned out that the results of reproductive performance and physico-

chemical parameters of water quality are consistent with the specific pattern, indicating the possibility of using bioflocs with *Litopenaeus vannamei* broodstock.

Keywords: Pacific white shrimp, heterotrophic culture; broodstock; reproductive performance.

7 INTRODUÇÃO

A maturação em cativeiro consiste na manutenção de matrizes de camarão marinho em regime de confinamento para produção de larvas em laboratório (BRAY; LAWRENCE, 1992), permitindo o fornecimento constante e eficaz de pós larvas de camarão em quantidade e qualidade adequadas para fazendas de cultivo (BROWDY, 1998; ANDREATTA; BELTRAME, 2008). A eficácia desta etapa depende, dentre outras coisas, da garantia da sua plena biossegurança, através do fechamento do ciclo de produção de matrizes, possibilitando a diminuição do fluxo de água do sistema e, conseqüentemente, dos riscos de dispersão e disseminação de doenças (SCHVEITZER et al., 2008; EMERENCIANO, 2012).

Para um melhor desempenho de sistemas de maturação totalmente fechados, o fator fundamental é uma maior estabilidade do ambiente de cultivo (WABETE et al., 2006), a fim de garantir maior conforto aos organismos confinados. Neste aspecto, a aplicação de um sistema com reduzidas taxas de renovação de água, aliada ao sombreamento característico do ambiente de reprodução em cativeiro, poderia proporcionar um maior equilíbrio de parâmetros físico-químicos da água (CRAB et al., 2009; EMERENCIANO et al., 2012).

Neste contexto encontra-se o sistema de bioflocos (BFT), ou cultivo heterotrófico (EMERENCIANO et al., 2007; DE SCHRYVER et al., 2008; SCHVEITZER et al., 2008; AVNIMELECH, 2009), que consiste em agregados microbianos formados pela adição de fontes de carbono concomitante com aeração constante e vigorosa da água do viveiro (WASIELESKY et al., 2006; CRAB et al., 2007, 2012; AZIM; LITTLE, 2008). Estes agregados assimilam os compostos nitrogenados presentes na água, além de servirem como fonte adicional de alimento, possibilitando um menor percentual de proteína bruta na formulação das rações, assim como uma maior densidade de estocagem. (AVNIMELECH, 1999; WASIELESKY et al., 2006; GAO et al., 2012).

A aplicação do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro, portanto, pode trazer vantagens, tais como menores gastos com bombeamento e, conseqüentemente, aquecimento da água de cultivo e

disponibilidade constante de alimento natural de alta qualidade (SCHVEITZER et al., 2008). Assim, os objetivos deste trabalho foram desenvolver estrutura para cercamento e captura de reprodutores em tanque de maturação com sistema de bioflocos, bem como avaliar a viabilidade técnica da maturação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

8 MATERIAL E MÉTODOS

8.1 Local de execução e material biológico

Este trabalho foi realizado entre agosto e dezembro de 2013 no Laboratório de Camarões Marinhos – LCM/UFSC, localizado na cidade de Florianópolis (SC). Foram utilizados 45 machos e 45 fêmeas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* provenientes de cultivo em bioflocos em estufas localizadas no mesmo laboratório (SCHVEITZER et al., 2008). Os critérios utilizados para sua seleção foram: peso de machos e fêmeas (entre 30 e 40 g), integridade dos apêndices, ausência de áreas necrosadas no exoesqueleto, estágio do ciclo de muda (intermuda) e integridade do petasma e dos espermatóforos no caso dos machos. Após a seleção, os reprodutores foram transferidos para o tanque de maturação, na densidade de 8 camarões.m⁻². Finalizados os ajustes na estratégia de manejo e captura de reprodutores, estes foram submetidos a um período de sete dias de aclimação ambiental e alimentar, seguida da ablação unilateral de pedúnculo ocular das fêmeas estocadas. Após esse procedimento, as mesmas foram monitoradas diariamente para observação de sua maturação gonadal e da ocorrência de cópulas.

8.2 Ambiente de maturação.

Para este trabalho foi destinado um tanque circular de fibra de vidro, com 4 m de diâmetro, dreno central de 60 mm e nível de água mantido em 45 cm, totalizando 5,65 m³ de água. Este tanque foi inicialmente abastecido com água oceânica, de salinidade entre 33 e 34‰, sendo o fotoperíodo mantido artificialmente com o auxílio de lâmpadas fluorescentes de cor branca e incandescentes de cor amarela, dispostas acima do mesmo. A duração do fotoperíodo foi de 12,5 h luz : 11,5 h escuro, controlada através de timer analógico. A aeração da água de cultivo foi constante e mantida por meio de sete “air-lift’s” dispostos em padrão circular, além de um dispersor de ar central de mangueira microperfurada (AeroTubes™). Já sua temperatura foi mantida entre 28 °C e 29 °C com a utilização de aquecedor de titânio e termostato.

8.3 Manejo alimentar

Os reprodutores foram alimentados durante todo o período experimental com uma dieta padrão com uma taxa diária inicial de 3% (em matéria seca) da biomassa estocada (LCM, 2007). A composição dessa dieta levou em conta a composição bromatológica dos itens alimentares adotados (CARVALHO et al., 2010), sendo constituída de lula (*Loligo* sp – Pioneira da Costa S/A) a uma taxa diária de 42% da matéria seca alimentar; mexilhão (*Perna perna* - Laboratório de Moluscos Marinhos/UFSC) com taxa diária de 28% da matéria seca alimentar; e ração comercial (Inve Aquaculture - BREED-S FRESH, 40% proteína bruta; 9,1% gordura), na taxa diária de 30% da matéria seca alimentar. Os alimentos foram distribuídos alternadamente a cada três horas, em um total de sete refeições diárias. A quantidade de cada item alimentar era monitorada e ajustada através de duas bandejas de alimentação dispostas no tanque.

8.4 Estratégia para manejo e captura de reprodutores

Para superar a falta de limpidez da água de cultivo com bioflocos, foi utilizada uma armação móvel que permitiu a concentração e suspensão dos reprodutores até uma altura que possibilitasse a visualização dos mesmos para fins de inspeção das cópulas. Esta armação consistiu de uma gaiola móvel em formato triangular, com 1,8 x 1,8 x 1 m de dimensões, constituída por tubos de PVC de 32 mm nas laterais e 70 mm na porção central, de forma que a mesma se encaixasse e evitasse escapes no dreno central de água (Fig. 1A). A concentração dos reprodutores dentro da estrutura armada era possível através de uma tela móvel retangular armada removível (Fig. 1B), com 1,8x1 m de dimensões, constituída por tubos de PVC de 32 mm de diâmetro. Já a suspensão da gaiola foi facilitada por roldanas e cordas (Fig. 1C), para a visualização dos reprodutores.

A gaiola e a tela móvel foram revestidas com tela plástica com 2 cm de abertura. A estrutura inteira ocupou uma área de 3,12 m², ou 25% do fundo do tanque. Uma vez montada, a estabilidade, a funcionalidade e a adaptação do manejo produtivo à estrutura foram averiguadas no tanque de cultivo povoado. Essa averiguação foi realizada durante um período de quatro meses e meio, em água clara, para visualização e ajustes da mesma.



Figura 1 Estrutura armada utilizada para captura de reprodutores de *Litopenaeus vannamei* em tanque de cultivo inoculado com bioflocos: A) Gaiola móvel; B) Tela móvel destacável; C) Roldanas para suspensão da estrutura completa.

8.5 Inoculação de bioflocos

Nos tanques destinados ao tratamento AC a água de cultivo foi mantida durante todo o período experimental com uma taxa de troca diária de 200%, através de duas modalidades de renovação: uma contínua, a um percentual de 150% do volume do tanque, na qual a água é continuamente trocada, em pequenos volumes, ao longo de 20 h do dia; e uma de impacto, a um percentual de 50% do volume do tanque, na qual a água é trocada em um espaço de tempo mais curto com o intuito de retirar fezes, exúvias e restos de alimento. Tal protocolo, por sua vez, é manejo padrão do LCM/UFSC (LCM, 2004).

Passado este período, o tanque foi inoculado com 3m³ de água com bioflocos oriunda das estufas de berçário do LCM. As características físico-químicas do inóculo encontram-se descritas na tabela 1. Após a inoculação, os agregados microbianos foram mantidos através da própria alimentação dos animais e com a adição de melaço de cana em pó, de forma a se estabelecer uma proporção carbono-nitrogênio (C:N) total ao redor de 20:1 para retirada do nitrogênio na forma de amônia do meio (AVNIMELECH, 1999; AVNIMELECH, 2009). Essa proporção foi medida e mantida levando em conta as

composições bromatológicas do próprio melão (EMERENCIANO et al., 2007) e de cada item da dieta adotada. (VAN WYK, 2006; CARVALHO et al., 2010). O material suspenso foi monitorado com auxílio de tanque de decantação de 40 L (SCHVEITZER et al., 2013), e a salinidade, corrigida através do bombeamento de água doce.

Tabela 1 Características físico-químicas do inóculo de bioflocos utilizado em tanque de reprodução de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*

H ₂ PO ₃ (mg.l ⁻¹)	AT-N (mg.l ⁻¹)	N-NO ₂ (mg.l ⁻¹)	SST (mg.l ⁻¹)
0,1	0,0	154	515

8.6 Manejo de qualidade de água

Após a inoculação da água com bioflocos, iniciou-se o monitoramento dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água. temperatura, salinidade, transparência e oxigênio dissolvido (OD) foram monitorados duas vezes ao dia, nos intervalos entre as renovações, utilizando-se medidor multiparâmetro (marca YSI®). Já as variáveis pH, sólidos sedimentáveis (SS), alcalinidade, amônia total (AT-N), nitrito (N-NO₂) e nitrato (N-NO₃) foram monitorados duas vezes por semana. O pH foi monitorado com auxílio de medidor multiparâmetros (marca YSI®), enquanto que os sólidos sedimentáveis foram medidos através da decantação dos flocos em cones Imhoff. (AVNIMELECH, 2009). Por fim, alcalinidade, AT-N, N-NO₂ e N-NO₃ foram avaliados conforme metodologia da APHA (APHA, 1998).

8.7 Desempenho reprodutivo

Uma vez finalizados o período de ajustes da estratégia de manejo de reprodutores e inoculado o biofloco no tanque de cultivo, o mesmo foi averiguado diariamente para detecção e captura de fêmeas copuladas. Uma vez detectadas, essas fêmeas eram retiradas e dispostas individualmente em caixas de desova de 200 L. Essas caixas eram abastecidas com água oceânica clara, com temperatura entre 29 °C e 30 °C e salinidade corrigida para 30‰ como forma de favorecer a fertilização dos óvulos (TRUJILLO, 1996). Após um período de quatro horas, cada fêmea era devolvida ao tanque de origem.

Após a devolução das fêmeas, seus ovos eram sifonados e transferidos para tanques cilíndrico-cônicos de incubação de 90L previamente identificados. Após esse procedimento, eram coletadas 3 amostras de 10mL da água homogeneizada para quantificação do total de ovos por extrapolação. No dia seguinte, os náuplios eclodidos destes ovos foram quantificados da mesma forma que os ovos, e seu estado geral, observado microscopicamente.

9 RESULTADOS

9.1 Qualidade de Água

Em relação aos parâmetros físico-químicos da água observados após a inoculação com bioflocos, o valor médio de temperatura ficou em $28,27 \pm 0,47$ °C ($26,6 - 29,3$ °C), enquanto o valor do oxigênio dissolvido foi mantido em $5,13 \pm 0,47$ mg L⁻¹ ($4,0 - 5,7$ mg L⁻¹). A transparência, por sua vez, apresentou valor médio de $21,66 \pm 10,00$ cm ($11 - 40$ cm).

Já no que diz respeito aos resultados dos parâmetros de monitoramento da água avaliados semanalmente, o pH da água manteve-se em torno de $7,73 \pm 0,12$ ($7,6 - 7,8$), enquanto que a salinidade ficou em $35,67 \pm 1,15$ ‰ ($34 - 37$ ‰). O volume médio dos flocos ficou em $13 \pm 9,90$ mL L⁻¹ ($4-30$ mL L⁻¹), enquanto que a alcalinidade ficou em $211,67 \pm 86,07$ mg L⁻¹ ($115 - 280$ mg L⁻¹). A amônia total do ambiente de cultivo manteve-se em $2,71 \pm 2,35$ mg L⁻¹ ($0,0 - 5,99$ mg L⁻¹), enquanto que o nitrito e o nitrato mantiveram-se em $0,95 \pm 0,11$ ($0,82 - 1,09$) e $86,73 \pm 49,29$ ($43,74 - 149,39$) mg L⁻¹ respectivamente. Vale ressaltar que durante todo o período após a inoculação de bioflocos, o tanque de decantação foi utilizado somente uma vez, logo após a inoculação, para corrigir um pico no valor do volume de flocos (30 mL L⁻¹). Adicionalmente, não foi necessária nenhuma troca de água no sistema.

A Figura 2 demonstra o comportamento dos níveis de AT-N, N-NO₂ e N-NO₃ ao longo do período de análise. Os teores dos compostos nitrogenados oscilaram ao longo do tempo. Inicialmente, os valores de amônia total. (Fig 2A) apresentaram comportamento crescente, seguido de quedas abruptas até estar zerado. Já o nitrito (Fig. 2B) apresentou comportamento crescente durante os três primeiros períodos de coleta, passando então a apresentar uma tendência de queda nos seus valores. O nitrato (Fig. 2C), por sua vez, apresentou uma queda abrupta no segundo período de coleta, seguida de um comportamento crescente nos seus valores.

9.2 Desempenho reprodutivo

Neste trabalho, durante o período de cópulas e desovas a taxa média de fêmeas maduras no tanque foi de $13,75 \pm 1,77$ % ($12,5 - 15$ %), enquanto que o valor médio do número de cópulas com desova no período foi de $1,5 \pm 0,71$ ($1 - 2$). O número médio de ovos por desova, por sua vez, foi de $185,48 \pm 32,56 \times 10^3$ ($150 - 214 \times 10^3$), enquanto que o número de náuplios por desova foi de $99,67 \pm 8,74 \times 10^3$ ($90 -$

107×10^3), correspondendo a uma taxa média de eclosão de $54,33 + 5,13\%$ (50 – 60%).

10 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, a não necessidade de renovação da água de cultivo para a manutenção de níveis adequados dos parâmetros físico-químicos da água demonstra a efetividade do sistema na sua estabilidade. (EMERENCIANO et al., 2013a; BRAGA et al., 2013). Adicionalmente, durante todo o período experimental, os valores alcançados encontraram-se adequados para camarões peneídeos (CAVALLI et al., 1998; PÉREZ-ROSTRO et al., 2004; BRAGA et al., 2013).

Os elementos fundamentais para o estabelecimento dos microagregados de bioflocos são uma biomassa mínima de 300 g de camarões m^{-2} , o ingresso regular de alimento em conjunto com uma fonte de carbono externa e taxas reduzidas de renovação da água. É importante que o valor destes sólidos não ultrapasse o limite de 15 mL L^{-1} , principalmente para indivíduos com peso corporal acima de 15 g. (EMERENCIANO et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2013a), a fim de se evitar o entupimento de suas câmaras branquiais (TAW, 2010). Com exceção do início do período experimental, onde se observou um pico de 30 mL L^{-1} , os valores médios alcançados neste trabalho encontraram-se dentro do intervalo considerado adequado para a modalidade de cultivo (AVNIMELECH, 2009; EMERENCIANO et al., 2013b; BRAGA et al., 2013), o que indica a possibilidade da sua inserção na maturação em cativeiro da espécie.

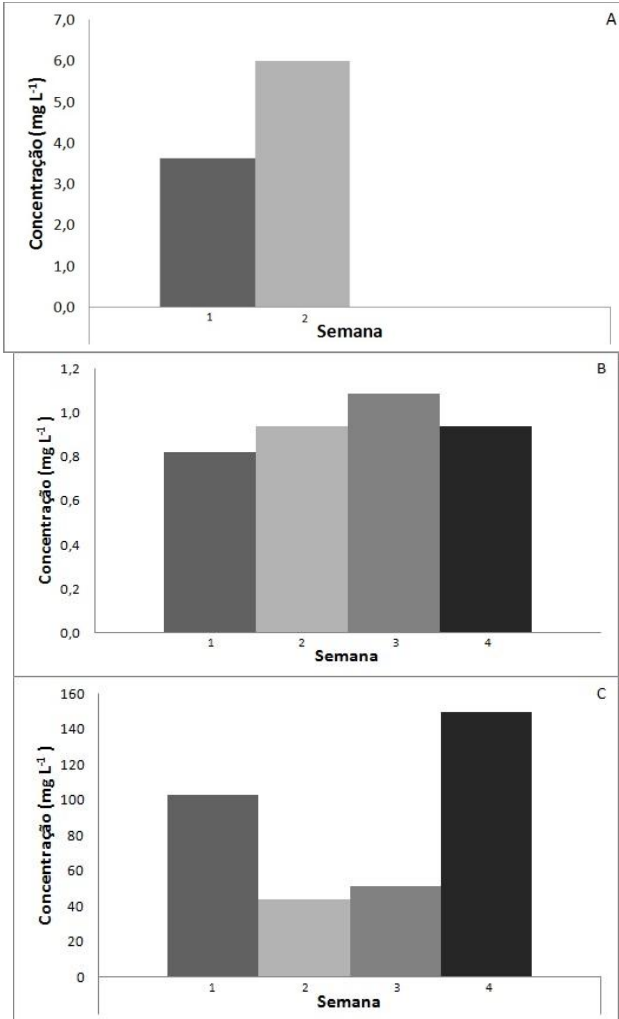


Figura 2 Comportamento dos níveis de amônia total (AT-N - A), nitrito (N-NO₂ - B) e nitrato (N-NO₃ - C) em tanque de reprodutores de *Litopenaeus vannamei* inoculado com bioflocos ao longo do período de análises (quatro semanas).

Nos sistemas aquícolas é fundamental a remoção do excedente de amônia e de nitrito do ambiente de cultivo, pois ambos são compostos extremamente tóxicos para os organismos cultivados. (ARANA, 2010). No sistema de bioflocos, essa retirada se dá através da transformação

desses compostos em biomassa celular, possibilitando uma melhor qualidade do ambiente de cultivo e sua transformação em fontes naturais de alimento, evitando gastos com renovações de água. (AVNIMELECH, 2009; ZHAO et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2013a).

Sobre os níveis de AT-N, N-NO₂ e N-NO₃ observados nesse trabalho, enquanto CAVALLI et al. (1998) sugerem que valores de AT-N em torno de 2,86 mg L⁻¹ não interferem na sobrevivência ou desempenho reprodutivo de *Farfantepenaeus paulensis*, LIN; CHEN (2001) indicam que o nível de segurança para juvenis de camarão *L. vannamei* a uma salinidade de 35‰ é de 3,95 mg L⁻¹. Neste trabalho, os valores da amônia total nas duas primeiras semanas ficaram acima do recomendado para a espécie, tendo sido, contudo, zerado e assim se mantido nas semanas seguintes, sem a necessidade de renovação de água. Tal observação reforça a aplicabilidade dessa nova modalidade de maturação de camarões marinhos.

Em relação aos níveis de nitrito e nitrato para camarões peneídeos, LIN; CHEN (2003) indicam como níveis de segurança para juvenis de *L. vannamei* em salinidade 35‰ é de 25,7 mg L⁻¹. Já TSAI; CHEN (2002) acrescentam que o nível de segurança para juvenis de *P. monodon* é de 232 mg L⁻¹, enquanto BRAGA et al. (2013), em sistemas de pré-maturação de machos de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos, observaram níveis de N-NO₃ entre 28,04 e 30,46 mg L⁻¹. Os resultados deste trabalho, portanto, encontram-se dentro dos limites de variação dos níveis considerados adequados para camarões peneídeos.

É importante salientar que, embora o período de detecção de maturação e de desovas tenha sido reduzido, foi observado serem esses processos possíveis neste novo sistema, o que, aliado à inexpressiva taxa de renovação de água com que o mesmo opera, traz um novo universo de possibilidades para a maturação em cativeiro. Ainda assim, neste trabalho, o número médio alcançado de ovos por fêmea encontra-se dentro do esperado para camarões peneídeos. WOUTERS et al. (2002), ao avaliar dietas experimentais para reprodutores de *L. vannamei*, obtiveram resultados entre 181,6 e 230,8x10³ ovos/fêmea.

Em relação ao número médio de náuplios por desova, PALACIOS; RACOTTA (2003) determinaram valores médios entre 64 e 93x10³ náuplios/fêmea para *L. vannamei*, enquanto BITTENCOURT (2000), ao avaliar o uso de minhocas terrestres na alimentação de reprodutores, observou valores entre 36 e 50x10³ náuplios/fêmea. Já no que diz respeito à taxa de eclosão de ovos em náuplios, CHUNG et al. (2011) alcançaram taxas médias entre 58,8 e 80,5% ao utilizar alginato de sódio para aprimorar o desempenho reprodutivo e larvário de *P.*

monodon, enquanto WOUTERS et al. (2002) obtiveram taxas entre 38,4 e 52,9%. Estes resultados, portanto, corroboram com os obtidos no presente trabalho.

11 CONCLUSÃO

Este é o primeiro trabalho de pesquisa com inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação de *Litopenaeus vannamei* em cativeiro. Foi detectada a ocorrência de maturação neste ambiente, revelando a possibilidade de inserção do sistema de bioflocos na maturação de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* em cativeiro. Adicionalmente, seus resultados indicam que existe viabilidade no manejo a ser adotado nesta modalidade alternativa de reprodução em cativeiro, assim como a possibilidade de manutenção dos parâmetros físico-químicos de água adequados à espécie em questão.

12 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEU - Fundação de Amparo à Pesquisa e Extensão Universitária; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através da Chamada Universal n° 14/2012 (CNPq/521454/473572/2012-5), pelo apoio financeiro a este trabalho de pesquisa.

13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREATTA, E. R.; BELTRAME, E. Cultivo de camarões marinhos. (C. R. POLI, A. T. B. POLI, E. R. ANDREATTA, & E. BELTRAME, Eds.) **Aquicultura: Experiências brasileiras**, v. Único, p. 199–220, 2008. Florianópolis, SC: EdUFSC.

APHA. Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater. **American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation**, p. 1469, 1998. Washington, USA: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation.

ARANA, L. V. Qualidade da água em aquicultura: princípios e práticas. (EdUFSC, Ed.), p. 238, 2010. Florianópolis, SC.

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

AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology - A practical guide book. , p. 182, 2009. Baton Rouge, Louisiana, USA: The World Aquaculture Society.

AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, n. 1-4, p. 29–35, 2008.

BITTENCOURT, M. **Avaliação da influência de três estratégias alimentares no desempenho reprodutivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em cativeiro**, 2000. Florianópolis, SC: Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina - Pós graduação em Aquicultura e Recursos Pesqueiros.

BRAGA, A. L.; LOPES, D. L. A.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. Spermatophore and sperm quality of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* fed with fresh food supplemented with pollen and paprika. **Aquaculture**, v. 380-383, p. 29–32, 2013.

BRAGA, A.; LOPES, D. LA; MAGALHÃES, V.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. Use of biofloc technology during the pre-maturation period of *Litopenaeus vannamei* males: effect of feeds with different protein levels on the spermatophore and sperm quality. **Aquaculture Research**, v. In press, p. 1–9, 2013.

BRAY, W. A.; LAWRENCE, A. L. D. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: A. W. Fast; L. J. Lester (Eds.); **Marine Shrimp culture: Principles and Practices**. 1st ed., p.93–169, 1992. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

BROWDY, C. L. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies: improving the outlook for superior captive stocks. **Aquaculture**, v. 164, p. 3–21, 1998.

CARVALHO, F. G. .; ANDREATTA, E. R. .; FRACALOSSO, D. M. Avaliação da gônada de peixe marinho e da biomassa de *Artemia* sp. como itens alimentares sobre o desempenho reprodutivo de *Litopenaeus vannamei*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 2, p. 111 – 121, 2010.

CAVALLI, R. O.; PEIXOTO, S. M.; WASIELESKY, W. Performance of *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante) broodstock under long-term exposure to ammonia. **Aquaculture Research**, v. 29, n. 11, p. 815–822, 1998.

CHUNG, M.-Y.; LIU, C.-H.; CHEN, Y.-N.; CHENG, W. Enhancing the reproductive performance of tiger shrimp, *Penaeus monodon*, by incorporating sodium alginate in the broodstock and larval diets.

Aquaculture, v. 312, n. 1-4, p. 180–184, 2011.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, p. 1–14, 2007.

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, v. 356-357, p. 351–356, 2012.

CRAB, R.; KOCHVA, M.; VERSTRAETE, W.; AVNIMELECH, Y. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. **Aquacultural Engineering**, v. 40, n. 3, p. 105–112, 2009.

DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125–137, 2008.

EMERENCIANO, M. .; CUZON, G.; ARÉVALO, M.; MIQUELAJAUREGUI, M. M.; GAXIOLA, G. Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance, biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared under biofloc conditions - Springer. **Aquaculture International**, p. 987–1007, 2013.

EMERENCIANO, M.; CUZON, G.; ARÉVALO, M.; GAXIOLA, G. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. **Aquaculture Research**, v. In press, p. 1–14, 2013.

EMERENCIANO, M.; CUZON, G.; MASCARÓ, M.; et al. Reproductive performance, biochemical composition and fatty acid profile of wild-caught and 2nd generation domesticated *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) broodstock. **Aquaculture**, v. 344-349, p. 194–204, 2012.

EMERENCIANO, M. G. C. Biofloc Tchnology (BFT) application on reproduction of penaeid shrimp (Decapoda: Peneidae) and its effects on biochemical composition and fatty acid profile. **Pos Grado en Ciencias del Mar y Limnología**, v. PhD, p. 205, 2012. Sisal, Yucatan, Mexico: Universidade nacional Autonomas de Mexico.

EMERENCIANO, M. G. C.; WASIELESKY JUNIOR, W.; BORDA SOARES, R.; et al. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa

(*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, p. 1–7, 2007.

GAO, L.; SHAN, H.-W.; ZHANG, T.-W.; BAO, W.-Y.; MA, S. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. **Aquaculture**, v. 342-343, p. 89–96, 2012.

LCM. **Instrução técnica de trabalho: Troca de água / tanques de aclimação e manutenção de matrizes**. Florianópolis, SC, 2004.

LCM. **Instrução técnica de trabalho: Cálculo Inicial do Arraçamento de Camarões**. Florianópolis, SC, 2007.

LIN, Y.-C.; CHEN, J.-C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 259, n. 1, p. 109–119, 2001.

LIN, Y.-C.; CHEN, J.-C. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, v. 224, n. 1-4, p. 193–201, 2003.

PALACIOS, E.; RACOTTA, I. S. Effect of number of spawns on the resulting spawn quality of 1-year-old pond-reared *Penaeus vannamei* (Boone) broodstock. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 5, p. 427–435, 2003.

PÉREZ-ROSTRO, C. I.; RACOTTA, I. S.; IBARRA, A. M. Decreased genetic variation in metabolic variables of *Litopenaeus vannamei* shrimp after exposure to acute hypoxia. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 302, n. 2, p. 189–200, 2004.

SCHVEITZER, R.; ANDREATTA, E. R.; SOUZA, J.; ARANTES, R.; SEIFFERT, W. Q. Cultivo com bioflocos: Engorda e formação de matrizes de *Litopenaeus vannamei*. **Panorama da Aquicultura**, v. 107, p. 38–43, 2008. Rio de Janeiro, RJ.

SCHVEITZER, R.; ARANTES, R.; COSTÓDIO, P. F. S.; et al. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, v. 56, p. 59–70, 2013.

TAW, N. Biofloc Technology Expanding At White Shrimp Farms. **Global Advocate** 10, p. 20–22, 2010.

TRUJILLO, L. R. Técnicas e procedimentos empregados na maturação

de camarões peneídeos. In: T. C. V GESTEIRA; A. J. P. NUNES (Eds.); 1o Workshop do estado do Ceará sobre cultivo de Camarão Marinho. Grupo de Estudos de Camarão Marinho – GECMAR. **Anais...** . p.67–85, 1996. Fortaleza, CE.

TSAL, S.-J.; CHEN, J.-C. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, v. 213, n. 1-4, p. 163–170, 2002.

WABETE, N.; CHIM, L.; PHAM, D.; LEMAIRE, P.; MASSABUAU, J.-C. A soft technology to improve survival and reproductive performance of *Litopenaeus stylirostris* by counterbalancing physiological disturbances associated with handling stress. **Aquaculture**, v. 260, n. 1-4, p. 181–193, 2006.

WASIELESKY JR., W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C. L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, p. 396–403, 2006.

WASIELESKY, W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C. L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1-4, p. 396–403, 2006.

WOUTERS, R.; ZAMBRANO, B.; ESPIN, M.; et al. Experimental broodstock diets as partial fresh food substitutes in white shrimp *Litopenaeus vannamei* B. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 249–256, 2002.

WYK, P. VAN. Production of *Litopenaeus vannamei* in Recirculating Aquaculture Systems: Management and Design Considerations. In: Virginia Tech University (Ed.); International Conference Recirculating Aquaculture, 6. **Anais...** . p.38–47, 2006. Virginia.

ZHAO, P.; HUANG, J.; WANG, X.-H.; et al. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture**, v. 354-355, p. 97–106, 2012.

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO DA INSERÇÃO DO SISTEMA DE BIOFLOCOS NA MATURAÇÃO EM CATIVEIRO DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*

Fernanda Guimarães de Carvalho^{1*}; Janaína Gonçalves da Silva²;
Gabriella Garcia de Oliveira Bezerra²; Ícaro Felipe Prestes Nóbrega²;
Márcia Reibnitz²; Cristhiane Guertler²; Felipe Nascimento Vieira²;
Edemar Roberto Andreatta²

^{1*}: Instituto Federal Catarinense (IFC), Rodovia BR 280 km 27,
Cx. Postal 21, Araquari, SC, 89245-000. Email: carvalhofernanda@ifc-araquari.edu.br;

²: Laboratório de Camarões Marinhos, Departamento de
Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC),
Florianópolis, SC, 88061-600.

14 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo e parâmetros de qualidade de água e hemato-imunológicos do uso do sistema de bioflocos na maturação em cativeiro do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. Foram aplicados dois tratamentos, com três repetições cada: um teste (Bioflocos - BFT) e um controle (Água Clara - AC). Os tratamentos foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos de água (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, sólidos suspensos, alcalinidade, amônia total, nitrito e nitrato), parâmetros reprodutivos (percentual de fêmeas maduras e copuladas, número de ovos e náuplios/fêmea, taxa de eclosão de ovos e viabilidade espermática) e hemato-imunológicos (contagem total de hemócitos - CTH, título aglutinante, concentração proteica, produção de ânion superóxido e atividade da fenoloxidase - PO) observados durante os 44 dias de período experimental. Com exceção da viabilidade espermática e sobrevivência, nas quais o tratamento AC alcançou melhores resultados quando comparados com BFT, não houve diferença significativa no desempenho reprodutivo dos tratamentos aplicados ($p > 0,05$). Exceto para o pH, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os parâmetros físico-químicos de água; tendo o tratamento BFT alcançado resultados mais homogêneos ao longo do período experimental. Foram detectadas diferenças significativas nos valores obtidos para CTH, tendo o tratamento BFT alcançado valores superiores ao AC ($p < 0,05$). Os resultados da PO em ambos os tratamentos sugere que a condição de estresse em que os mesmos se encontram é atribuída aos eventos fisiológicos referentes à reprodução ou a condição do sistema. A não detecção de efeito significativo dos tratamentos aplicados sobre o desempenho reprodutivo e o perfil imunológico dos organismos avaliados, em conjunto com o melhor desempenho do tratamento BFT nos parâmetros físico-químicos de água, sugerem ser possível a inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação em cativeiro sem maiores comprometimentos ao desempenho reprodutivo e imunológico de *Litopenaeus vannamei* em cativeiro.

Palavras-chave: cultivo heterotrófico; reprodução em cativeiro; camarão branco do Pacífico; hemato-imunologia.

15 INTRODUÇÃO

Os crustáceos constituem um dos mais importantes grupos zoológicos cultiváveis da natureza. Dentre estes, os camarões marinhos se destacam devido ao fato do seu ciclo produtivo ser rápido e em larga escala. Adicionalmente, apresentam alto potencial reprodutivo, rápido crescimento e boa adaptabilidade aos viveiros de cultivo. Essas características, associadas aos seus valores atrativos no mercado, permitem que a indústria do cultivo seja lucrativa. Além do mais, a produção do camarão em viveiros ajuda a amenizar os esforços de pesca no ambiente natural (Barracco et al., 2008).

Contudo, a carcinicultura tem sofrido uma série de questionamentos em decorrência dos impactos ambientais relacionados à alta carga orgânica de seus efluentes, à introdução de espécies exóticas no meio e às modificações no ambiente de entorno. A tudo isto se soma os atuais reveses sofridos pelos produtores em decorrência de doenças tais como a mancha branca, a síndrome de taura, a infecção hipodermal e necrose hematopoiética, dentre outras, causando grandes mortalidades e decréscimo na produtividade (Emerenciano, 2012; Mishra et al., 2008; Moss et al., 2012; Wasielesky et al., 2006).

Dentre as diferentes etapas do ciclo produtivo da carcinicultura encontra-se a maturação em cativeiro, que se destina à produção de larvas em laboratório (W A Bray and Lawrence, 1992). Contudo, esta fase do ciclo caracteriza-se pelas baixas densidades de estocagem utilizadas (menos de 10 camarões.m⁻²), pelas altas taxas diárias de renovação da água (acima de 100%) e pelo alto percentual de alimento natural utilizado (Barbieri Jr and Ostrenski Neto 2001), características essas que estão na contramão dos conceitos de cultivo sustentável.

A eficácia da maturação depende, dentre outras coisas, da garantia da sua biossegurança através do fechamento do ciclo de produção de matrizes, possibilitando a diminuição do fluxo de água do sistema e dos riscos de dispersão e disseminação de doenças (Browdy 1998; Schweitzer et al. 2008; Emerenciano 2012). Para um melhor desempenho de sistemas de maturação totalmente fechados, um fator fundamental é uma maior estabilidade do ambiente de cultivo (Wabete et al., 2006), a fim de garantir maior conforto aos organismos confinados.

Para tanto, é fundamental a aplicação de um sistema com reduzidas taxas de renovação de água, de forma a se proporcionar um maior equilíbrio de parâmetros físico-químicos da água. Tal característica, em conjunto com a reciclagem gradual dos compostos

nitrogenados presentes, podem ser fundamentais para o aprimoramento do desempenho reprodutivo em cativeiro (Crab et al. 2009; Emerenciano et al. 2012a).

Dentre as alternativas de fechamento dos cultivos aquícolas, destaca-se o sistema de bioflocos (Emerenciano et al. 2007; De Schryver et al. 2008; Avnimelech 2009), que consiste na formação de agregados microbianos pela adição de fontes exógenas de carbono em conjunto com aeração constante e vigorosa da água do viveiro (Wasielesky et al. 2006; Crab et al. 2007; Azim and Little 2008). Tais agregados, além de assimilar os compostos nitrogenados presentes na água, podem servir como potencial fonte adicional de alimento (Avnimelech, 1999; Gao et al., 2012; Wasielesky et al., 2006), além de possibilitarem menores gastos com bombeamento e aquecimento da água de cultivo (Schveitzer et al., 2008).

Contudo, a despeito deste grande potencial, os efeitos zootécnicos do uso do sistema de bioflocos na maturação de camarões marinhos ainda são desconhecidos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo e dos parâmetros de qualidade de água e hemato-imunológicos da maturação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

16 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado entre maio e julho de 2014 no Laboratório de Camarões Marinhos – LCM/UFSC, localizado na cidade de Florianópolis, SC - Brasil.

16.1 Material biológico

Foram utilizados 600 reprodutores (300 machos e 300 fêmeas) de camarão marinho, *Litopenaeus vannamei*, provenientes de cultivo em bioflocos em estufas localizadas no LCM/UFSC (Schveitzer et al., 2008). Os critérios utilizados para a seleção dos organismos foram: peso médio de machos e fêmeas (aproximadamente 40 g), a integridade dos apêndices, a ausência de áreas necrosadas no exoesqueleto, o estágio do ciclo de muda (intermuda), bem como a integridade do petasma e dos espermatóforos no caso dos machos.

Após a seleção, os reprodutores foram transferidos para os tanques de cultivos, a uma densidade de 8 camarões. m⁻², através de puçás e baldes de transporte. Após a transferência os reprodutores foram submetidos a um período de 12 dias de aclimação ambiental e alimentar, seguida da ablação unilateral das fêmeas estocadas. Após esse procedimento, as mesmas foram monitoradas diariamente durante todo o

período experimental para observação da sua maturação gonadal e da ocorrência de cópulas. Ao final do período experimental, a população final de reprodutores foi averiguada por comparação entre a população total inicial e final por tanque.

16.2 Delineamento e ambiente experimental

Foram utilizados dois tratamentos: um teste (Bioflocos - BFT) e um controle (Água Clara - AC). Para cada tratamento foram destinados 3 tanques circulares de fibra de vidro, de com 4 m de diâmetro e 0,45 m de profundidade de água, totalizando 5,65m³ de volume útil, e sendo cada um povoado com 50 fêmeas e 50 machos. Estes tanques foram inicialmente abastecidos com água oceânica, de salinidade entre 33 e 34 mgL⁻¹, e o fotoperíodo artificialmente mantido com o auxílio de lâmpadas fluorescentes de cor branca e incandescentes de cor amarela dispostas acima dos mesmos. A duração do fotoperíodo foi de 12,5 h luz:11,5 h escuro, sendo controlada através de timer analógico. (Bittencourt, 2000). Já a temperatura foi mantida entre 28° e 29°C através de aquecedor de titânio e termostato.

16.3 Manejo alimentar

Os reprodutores foram alimentados durante todo o período experimental com uma dieta padrão com uma taxa diária de 3% (em matéria seca) da biomassa estocada (LCM, 2007a). A composição dessa dieta levou em conta a composição bromatológica dos itens alimentares adotados (Carvalho et al., 2010), sendo constituída de lula (*Loligo sp* - Pioneira da Costa S/A) a uma taxa diária de 42% da matéria seca alimentar; mexilhão (*Perna perna* - Laboratório de Moluscos Marinhos/UFSC) com taxa diária de 28% da matéria seca alimentar; e ração comercial (Inve Aquaculture - BREED-S FRESH, 40% proteína bruta; 9,1% gordura), na taxa diária de 30% da matéria seca alimentar. Os alimentos foram distribuídos alternadamente a cada três horas, em um total de sete refeições diárias. A quantidade de cada item alimentar era monitorada e ajustada em todas as repetições mediante visualização direta nos tanques de tratamento AC ou com auxílio de duas bandejas de alimentação dispostas nos tanques de tratamento BFT.

16.4 Água de cultivo

Nos tanques destinados ao tratamento AC a água de cultivo foi mantida durante todo o período experimental com uma taxa de troca diária de 200%, através de duas modalidades de renovação: uma contínua, a um percentual de 150% do volume do tanque, na qual a água é continuamente trocada, em pequenos volumes, ao longo de 20 h do dia;

e uma de impacto, a um percentual de 50% do volume do tanque, na qual a água é trocada em um espaço de tempo mais curto com o intuito de retirar fezes, exúvias e restos de alimento. Tal protocolo, por sua vez, é manejo padrão do LCM/UFSC (LCM, 2004).

Já nos tanques destinados ao tratamento BFT, após o período de aclimação foram inoculados 3m³ de água com bioflocos oriunda das estufas de berçário do LCM, após a qual foram mantidos com renovação mínima de água. As características físico-químicas do inóculo encontram-se descritas na tabela 1. Em ambos os tratamentos, a aeração da água foi mantida constante. No tratamento AC esta foi mantida através de dois “air-lift’s” dispostos em padrão circular, conforme manejo padrão do LCM/UFSC (LCM, 2007b), enquanto que no tratamento BFT esta foi mantida através de seis “air-lift’s” com o mesmo padrão circular de distribuição, além de um dispersor de ar central de mangueira microperfurada (AeroTubesTM).

Tabela 2 Características físico-químicas do inóculo de bioflocos utilizado em tanques de reprodução de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos ao tratamento experimental: Bioflocos (BFT)

H ₂ PO ₃ (mg.l ⁻¹)	AT-N (mg.l ⁻¹)	N-NO ₂ (mg.l ⁻¹)	SST (mg.l ⁻¹)
128	0,2	0,1	302

Após a inoculação, os agregados microbianos do tratamento BFT foram mantidos através da própria alimentação dos animais e de melaço de cana em pó, de forma a se estabelecer uma proporção carbono-nitrogênio (C:N) ao redor de 20:1 para retirada do nitrogênio na forma de amônia do meio (Avnimelech 1999; 2009). Essa proporção foi medida e mantida levando em conta as composições bromatológicas do próprio melaço (Emerenciano et al., 2007) e de cada item da dieta adotada (Carvalho et al. 2010; Van Wyk 2006). O material suspenso excedente foi retirado através de tanque de decantação de 40L (Schveitzer et al., 2013a), a alcalinidade foi mantida com adição de cal hidratada entre as alimentações e a salinidade corrigida através de bombeamento de água doce.

16.5 Manejo de qualidade de água

Temperatura, transparência e oxigênio dissolvido (OD) foram monitorados quatro vezes ao dia, nos intervalos entre as renovações. Temperatura e OD foram medidos através de Medidor de oxigênio marca YSI® modelo 550A, enquanto que a transparência era medida através de Disco de Secchi. Já o pH, os sólidos sedimentáveis totais (SST), a alcalinidade, amônia total (AT-N), nitrito (N-NO₂) e nitrato (N-NO₃) foram monitorados duas vezes por semana, enquanto que o

consumo de água por tratamento foi monitorado uma vez por semana. O pH foi monitorado através de pHmetro digital Alfakit AT350 pelo método eletrométrico, enquanto que o consumo semanal de água durante as renovações estática e contínua foi medido diretamente com recipientes plásticos graduados. Alcalinidade, SST e N-NO₃ foram medidos conforme metodologia de APHA (APHA, 1998), enquanto que AT-N, N-NO₂ e foram medidos conforme metodologia de Strickland e Parsons. (1972).

16.6 Estratégia para manejo e captura de reprodutores

Nos tanques do tratamento AC, as fêmeas maduras eram detectadas e registradas por visualização direta e capturadas com auxílio de puçás no caso de detecção de cópula. Já nos tanques do tratamento BFT, para superar a falta de limpidez da água com bioflocos, foram utilizadas armações móveis que permitiram a concentração e suspensão dos reprodutores até uma altura que possibilitasse a visualização dos mesmos. Estas consistiram de gaiolas móveis em formato triangular, com 1,8 x 1,8 x 1m de dimensões, constituídas por tubos de PVC de 32 mm nas laterais e 70 mm na porção central, de forma que a mesma se encaixasse e evitasse escapes no dreno central dos tanques. A concentração dos reprodutores dentro da estrutura armada era possível através de uma tela móvel retangular armada removível, com 1,8 x 1 m de dimensões, constituída por tubos de PVC de 32 mm de diâmetro. Já a suspensão das gaiolas para a visualização dos reprodutores foi garantida por roldanas e cordas fixadas no teto da sala. As gaiolas e as estruturas móveis foram revestidas com tela plástica com 2 cm de abertura. A estrutura inteira de cada tanque ocupou uma área de 3,12 m², ou 25% do fundo do tanque (Figura 3).

16.7 Desempenho reprodutivo

16.7.1 Produção de ovos e náuplios

Diariamente as fêmeas maduras de cada tratamento eram registradas em planilhas de acompanhamento, enquanto que as fêmeas copuladas eram retiradas e dispostas individualmente em caixas de desova de 200L. Estas caixas, por sua vez, eram previamente identificadas e abastecidas com água oceânica clara, com temperatura entre 29° e 30°C e salinidade corrigida para 30mgL⁻¹ como forma de favorecer a fertilização dos ovos (Trujillo 1996). Após um período de 4 h, cada fêmea era devolvida ao seu tanque de origem.

Após a devolução das fêmeas, seus ovos eram sifonados e transferidos para tanques cilíndrico-cônicos de incubação de 90L previamente identificados. Após esse procedimento, eram coletadas 3

amostras de 10mL da água homogeneizada, cujo total de ovos era contado e sua média extrapolada para o volume do tanque. No dia seguinte, os náuplios resultantes da eclosão destes ovos eram quantificados da mesma forma que os ovos e seu estado geral observado microscopicamente.

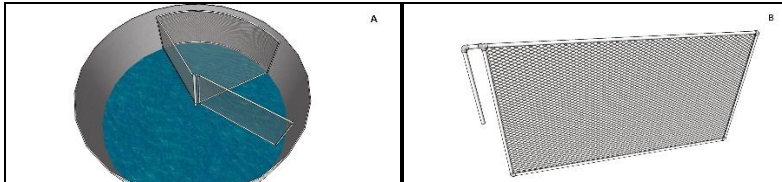


Figura 3 Esquema de armação móvel utilizada em tanques de maturação de *L. vannamei* para captura de reprodutores do tratamento Bioflocos (BFT). 1A: gaiola no tanque; 1B: tela móvel

16.7.2 Viabilidade espermática

Após um período experimental de 44 dias, foi avaliada a viabilidade espermática dos reprodutores por tratamento. Para tanto, foram coletadas 9 amostras de camarões machos de cada tanque, que foram distribuídos em 3 *pools* de 3 indivíduos. De cada indivíduo foram extraídos manualmente seus espermatóforos maduros e com ausência de pontos de melanização, através de pressão na ampola terminal conforme metodologia de Lezcano et al. (2004). Em seguida, cada um dos *pools* de espermatóforos foi agitado mecanicamente em 1mL de solução marinha estéril a 35mg. L⁻¹, de forma a se obter uma suspensão do esperma fresco (Bhavanishankar and Subramoniam, 1997). A integridade espermática foi avaliada mediante presença de estrutura com formato de espinho através de microscopia ótica (aumento de 400x), contando-se um número mínimo de 100 células por amostra com o auxílio de câmara de Neubauer, sendo expressa como o percentual de células espermáticas com presença de espinho sobre o total de células observadas (com espinho, sem espinho e evertidas) (Lezcano et al., 2004; Uberti, 2012).

16.8 Parâmetros Hemato-imunológicos

Os parâmetros hemato-imunológicos avaliados foram a contagem total de hemócitos (CTH), a quantificação da produção intracelular de ânions superóxido (ROIS), o título de aglutininas/lectinas do soro, a concentração de proteínas totais do soro (CP) e a atividade da fenoloxidase (PO). Para tanto, foram utilizados 72 indivíduos, 36 do tratamento AC (18 machos e 18 fêmeas) e 36 do tratamento BFT (18

machos e 18 fêmeas), sendo estes organizados em 3 *pools* de 3 indivíduos por gênero (macho ou fêmea) por tratamento.

16.8.1 Coleta de hemolinfa para contagem total de hemócitos e quantificação da produção intracelular de ânions superóxido

A coleta de hemolinfa foi realizada individualmente com seringa de 1mL com agulha (13x0,4mm) inserida na porção ventral do primeiro segmento abdominal. Para este grupo de coleta, foram utilizados 3 *pools* de 3 machos e 3 *pools* de 3 fêmeas por tratamento.

Para a contagem total de hemócitos, a hemolinfa foi coletada em solução fixadora a uma diluição conhecida (4% de formaldeído em Solução de Alsever Modificada – 336 mM NaCl, 115 mM glicose, 27 mM citrato de sódio, 9 mM EDTA, pH 7,2) e a CTH, então, estimada em câmara de Neubauer (Beçak and Paulete, 1976).

Já para a quantificação do ânion superóxido, na coleta de hemolinfa foi utilizada uma solução anticoagulante (400 mM NaCl, 100 mM glicose, 30 mM citrato de sódio, 10 mM EDTA, 26 mM ácido cítrico, pH 5,5). Para esta análise utilizou-se o método adaptado de redução do NBT (*nitro-blue-tetrazolium*) (Guertler et al., 2010), sendo a laminarina (β -1,3 glicanas, 2mg. mL⁻¹) usada como ativador celular. As análises foram feitas em quintuplicata.

16.8.2 Preparação do soro

Para a preparação do soro, a hemolinfa foi coletada individualmente com seringa de 1mL com agulha (13x0,4mm) inserida na porção ventral do primeiro segmento abdominal. Foram utilizados 3 *pools* de 3 machos e 3 *pools* de 3 fêmeas por tratamento. Para a preparação do soro, após a coleta, as amostras de hemolinfa foram mantidas em temperatura ambiente por 2h para coagular. Em seguida, o coágulo formado de cada *pool* por tratamento foi repetidamente macerado com bastão de vidro e centrifugado a 6000xg por 10 minutos. O sobrenadante referente ao soro, com seus respectivos fatores plasmáticos e celulares, foi removido e congelado a -20°C para os respectivos ensaios.

16.8.3 Determinação do título de aglutininas/lectinas do soro

Este ensaio foi realizado em duplicata. 50µL do soro foram diluídos serialmente com solução TBS (50mM Tris, 5 mM MgCl₂, 10 mM CaCl₂, 150 mM NaCl, pH 7,4) em 96 poços de microplaca de fundo em “U”, e então incubados por 2h a temperatura ambiente com o mesmo volume de suspensão de eritrócitos caninos a 2% em TBS. O título

aglutinante foi expresso, então, como o recíproco da maior diluição ainda com presença de aglutinação.

16.8.4 Concentração das proteínas totais do soro (CP)

Para a determinação proteica foi utilizada a metodologia de Bradford (1976), sendo a albumina de soro bovino (BSA) utilizada como proteína padrão. As análises foram feitas em triplicata.

16.8.5 Atividade da fenoloxidase (PO)

Para esta análise, amostras de 50 μL em triplicata do soro diluído 15x em TBS (50 mM Tris, 5 mM MgCl_2 , 10 mM CaCl_2 , 150 mM NaCl, pH 7,4) foram pré-incubadas em igual volume de tripsina (SIGMA – 1mg mL^{-1}) durante 5 minutos a temperatura ambiente em microplaca de 96 poços de fundo chato. Nos controles o indutor ou o soro foram substituídos por volume equivalente de TBS. Depois disso, os poços receberam 50 μL de L-DOPA (3mg mL^{-1}), sendo a formação do pigmento DOPA-cromo quantificada em leitor de microplaca (A490 após 5, 10, 15 e 20 minutos), pelo método colorimétrico, mediante oxidação do substrato enzimático L-DOPA pela PO do soro. A atividade enzimática induzida foi expressa pela variação da absorbância por minuto por miligrama da proteína, sendo uma unidade de atividade enzimática expressa pelo aumento de 0,001 na absorbância por miligrama da proteína a 20°C (Söderhall & Häll 1984).

16.9 Análise estatística

Antes de serem analisados, os dados do título de aglutinação foram transformados em $\log_2(x+1)$, enquanto que todos os dados percentuais foram transformados em arcoseno (x). Todos os resultados de desempenho reprodutivo, parâmetros físico-químicos e consumo de água foram submetidos a teste t a um nível de significância de 5% para detecção de diferença significativa entre os mesmos, enquanto que os resultados dos parâmetros hemato-imunológicos (por gênero e por tratamento) foram submetidos à ANOVA, seguido do teste t a um nível de significância de 5% para separação de médias (Zar, 1996).

17 RESULTADOS E DISCUSSÃO

17.1 Parâmetros físico-químicos de qualidade de água

A manutenção de parâmetros físico-químicos de qualidade de água adequados à espécie cultivada é peça fundamental no êxito do cultivo de organismos aquáticos (Arana, 2010; Millamena et al., 1991). Aliado a este fator, sabe-se que os eventos reprodutivos são especialmente afetados por níveis letais ou subletais de compostos tóxicos, sendo, portanto, importante não só o alcance, mas também a

manutenção dos níveis adequados destes parâmetros nos sistemas de maturação em cativeiro como um todo (Sprague, 1971).

Neste trabalho, com exceção do pH, houve diferença significativa nos valores de todos os índices de monitoramento de água (Tabela 2). Adicionalmente, conforme pode ser observado na Figura 3, o tratamento BFT não só teve um consumo semanal de água significativamente menor (Figura 3C), mas também apresentou uma maior estabilidade nos parâmetros avaliados quando comparado com os perfis alcançados pelo tratamento AC ao longo do período experimental, característica essa bastante favorável aos eventos reprodutivos em cativeiro. (Barbieri Jr and Ostrenski Neto 2001). González-González *et al* (2009) e Kautsky *et al.* (2000) explicam que quanto menos flutuações e mais próximos dos níveis específicos ideais os parâmetros abióticos do ambiente de cultivo estiverem, menor a susceptibilidade dos organismos a estresse.

Neste trabalho os valores de alcalinidade observados no tratamento BFT foram bastante superiores e variáveis quando comparados ao tratamento AC (Tabela 2 e Figura 4E). Contudo, apesar dessa disparidade, não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação aos valores de pH apresentados. Adicionalmente, os resultados médios de pH obtidos por ambos os tratamentos (Tabela 1) estão dentro dos níveis aceitáveis para a espécie (Emerenciano *et al.*, 2014; Gandy *et al.*, 2007; Otoshi *et al.*, 2003).

Tendo em vista o alto custo envolvido com a produção de larvas de camarão marinho em cativeiro, é fundamental que o sistema de cultivo tenha o máximo de eficiência possível no que diz respeito ao uso de insumos, de forma a potencializar seus benefícios financeiros e sanitários. (Emerenciano *et al.*, 2014; Preston *et al.*, 1999). Neste trabalho, o tratamento BFT teve um consumo semanal de água bastante inferior ao do tratamento AC (Tabela 2), devendo-se salientar, ainda, que durante todo o período experimental não houve necessidade de renovações de água no tratamento BFT, sendo o consumo mensurado decorrente de reposição pela evaporação. Da mesma forma, Otoshi *et al* (2003) observaram um consumo médio de água 40 vezes menor de sistemas de reprodução em cativeiro de camarões marinhos em recirculação quando comparados com sistemas usuais em fluxo contínuo.

Resultados como esses, portanto, podem ter importantes repercussões tanto no aspecto da biossegurança da modalidade de cultivo, uma vez que previne a possível introdução de patógenos nos ambientes de cultivo; quanto no ponto de vista ambiental, ao permitir a diminuição da carga de matéria orgânica a ser lançada nos ecossistemas naturais, ou financeiro, tendo em vista a possibilidade da economia que

pode ser proporcionada com os custos de captação, tratamento e condicionamento da água a ser utilizada nos sistemas produtivos.

Para organismos picilotérmicos como os camarões marinhos, a velocidade dos eventos metabólicos é diretamente proporcional à temperatura do meio (Van Wyk and Scarpa 1999). No tratamento BFT, da mesma forma que com Otsoshi et al. (2003), González-González et al (2009) e Menasveta et al. (1989), em seus trabalhos de reprodução de camarões marinhos em sistema de recirculação, a temperatura da água se manteve sempre em níveis mais estáveis, enquanto que no tratamento AC observaram-se valores diários mais variáveis ao longo de todo o período experimental (Figura 3A), possivelmente devido às taxas de renovação utilizadas (Gandy et al., 2007). Contudo, ambos os tratamentos alcançaram valores e intervalos médios adequados ao sistema de maturação para a espécie (Bray and Lawrence 1992).

Tabela 3 Resultados de parâmetros físico-químicos de qualidade de água (média \pm e.p) em tanques de reprodução de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).

Parâmetro	Tratamento	
	BFT	AC
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) [†]	28,46 \pm 0,01	27,87 \pm 0,04
OD (mg.L^{-1}) [†]	5,10 \pm 0,03	4,00 \pm 0,03
Fosfato (mg.L^{-1}) [†]	2,87 \pm 0,16	0,39 \pm 0,18
Nitrito (mg.L^{-1}) [†]	0,72 \pm 0,03	0,06 \pm 0,01
Nitrato (mg.L^{-1}) [†]	17,35 \pm 1,31	2,27 \pm 0,12
Amônia (mg.L^{-1}) [†]	0,58 \pm 0,07	0,93 \pm 0,09
Alcalinidade (mg.L^{-1}) [†]	226,50 \pm 14,20	141,00 \pm 5,59
pH	8,07 \pm 0,10	7,87 \pm 0,03
Consumo semanal de água (m^3) [†]	0,13 \pm 0,10	50,00 \pm 5,90
SST (mg.L^{-1}) [†]	390,60 \pm 18,44	0,00 \pm 0,00
Transparência (cm) [†]	20,10 \pm 0,20	45,00 \pm 0,00

[†]: presença de diferença significativa.

O mesmo comportamento descrito para temperatura foi observado nos dados de oxigênio dissolvido (OD) deste trabalho. O tratamento BFT não só alcançou concentrações superiores, mas também maior estabilidade ao longo dos horários de medição quando comparado ao tratamento AC (Tabela 1 e Figura 3B). Sobre o OD, Madenjian *et al* (1987) explicam que este é um dos fatores que mais afetam as espécies aquícolas de interesse comercial, e que níveis abaixo de 2 mg.L^{-1} podem acarretar em estresse ou mesmo morte em massa dos organismos cultivados.

Já Barbieri Jr and Ostrenski Neto (2001) explicam que, em ambientes de maturação em cativeiro, o OD deve ser mantido acima de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$, tendo em vista que esses níveis se assemelham ao que o organismo encontraria no ambiente marinho. Conforme pode ser visto na tabela 2, o tratamento BFT esteve dentro do nível aceitável para a maturação, enquanto que o tratamento AC esteve abaixo do recomendado. Gandy et al (2007) alcançaram concentrações médias de $5,76 \pm 0,51 \text{ mg.L}^{-1}$ para este parâmetro em seus trabalhos de reprodução de *F. aztecus* selvagens em sistema de recirculação, enquanto que Ootoshi et al (2003) obtiveram concentrações de 6,5 e 6,4 mg.L^{-1} em ensaios de reprodução em cativeiro de *L. vannamei* em sistemas de recirculação.

Conforme se vê na tabela 2, os valores de sólidos totais, transparência, fosfato, nitrito e nitrato do tratamento BFT foram superiores aos alcançados pelo tratamento AC. Krummenauer et al (2012), Menasveta et al (1989) e Colt (2006) explicam que esta diferença é prevista e decorrente da baixa ou ausente renovação da água de sistemas fechados, o que provoca o acúmulo de compostos orgânicos nitrogenados e fosfatados no ambiente de cultivo. Os resultados de transparência e sólidos totais estão dentro dos níveis adequados para a espécie (Avnimelech, 2009; Schweitzer et al., 2013b). Sobre o nitrito, Arana (2010) e Cheng and Chen (2001; 2002) argumentam que este composto, que é intermediário no processo de nitrificação, tem como principal efeito a sua alta afinidade com a hemocianina, que é o pigmento carreador de oxigênio da hemolinfa. Sua presença, portanto, acarreta na diminuição da afinidade do pigmento ao oxigênio, podendo causar a morte dos organismos por asfixia.

Lin and Chen (2003) determinaram que o nível seguro de nitrito para juvenis de *L. vannamei* seria de $25,7 \text{ mg.L}^{-1}$, tendo em vista que quanto maior a salinidade do meio, menor a toxidez do composto (Arana, 2010). Já Van Rijn et al (2006) acrescentam que o nitrato tem baixa toxicidade aos organismos aquáticos, enquanto que Wickins (1976) observou que concentrações de 94 mg.L^{-1} de fosfato não causou mortalidade em *M. rosenbergii*. Desta forma, apesar da diferença estatística, ambos os tratamentos encontram-se dentro das faixas adequadas para a espécie (Van Wyk and Scarpa 1999; Wickins 1976; Lin and Chen 2003).

Como pode ser visto na tabela 2, o tratamento BFT alcançou um valor médio de amônia total inferior ao observado no tratamento AC. Da mesma forma, conforme também pode ser visto na Figura 4B, essa tendência se manteve ao longo de todo o período experimental, tendo o

tratamento AC alcançando picos de concentrações de amônia total no 33º dia de experimento. Adicionalmente, também se percebe que as concentrações de amônia total tiveram um comportamento menos oscilante no tratamento BFT ao longo de todo o período experimental.

Altas concentrações de amônia total no meio compromete sua excreção pelos organismos, fazendo com que o mesmo se acumule no sangue dos indivíduos. E uma vez acumulado, acarreta em lesões branquiais, diminuição da capacidade de transporte de oxigênio, diminuição do pH sanguíneo, danos histológicos nas células sanguíneas, interferência nos processos respiratórios e aumento da susceptibilidade a doenças, entre outros (Arana, 2010; Badiola et al., 2012; van Rijn et al., 2013; 2006). Para sistemas de maturação em cativeiro de camarões peneídeos, recomenda-se níveis máximos entre 2,6 e 4,2 mg.L⁻¹; logo, ambos os tratamentos encontram-se dentro dos níveis adequados para a modalidade (Cavalli et al. 1998; Emerenciano et al. 2014; Braga et al. 2013).

17.2 Desempenho reprodutivo

Neste trabalho, com exceção dos dados de viabilidade espermática e sobrevivência dos reprodutores, não foi possível detectar diferença significativa entre os tratamentos, apesar de se observar que os resultados do tratamento AC foram superiores aos do tratamento BFT (tabela 3). No que diz respeito à viabilidade espermática, apesar da superioridade dos resultados dos machos do tratamento AC em relação aos dos BFT, ambos alcançaram percentual médio superior a 90%. Estes resultados, quando comparados com o que é descrito na literatura, podem ser considerados adequados para a espécie (Alfaro-Montoya, 2010; Braga et al., 2013). Ceballos-Vazquez et al (2003), em seus trabalhos de avaliação dos efeitos da idade e peso em machos da espécie *L. vannamei*, obtiveram resultados que variaram entre 12,8 e 68,2% para machos com idade entre 6 e 12 meses, enquanto que Perez-Velazquez et al (2001) alcançaram resultados entre 0 e 63,3% em seus trabalhos de avaliação do efeito de diferentes temperaturas sobre a qualidade espermática de *L. vannamei*. Resultados esses, portanto, inferiores aos obtidos nesse trabalho.

Foi detectada diferença significativa entre os tratamentos em relação à sobrevivência, com os reprodutores do tratamento AC alcançando melhores resultados que os do tratamento BFT (Tabela 3). Contudo, é importante ressaltar que em ambos os tratamentos os resultados de sobrevivência podem ser considerados baixos para a espécie em questão (Carvalho et al., 2010; Taylor, 2004). Tal evidência,

por sua vez, provavelmente deve estar associada a aspectos intrínsecos ao ambiente e manejo da maturação em cativeiro (Elwood et al., 2009), bem como aos processos fisiológicos envolvidos no amadurecimento gonadal (Schleder et al., 2008).

González-González et al. (2009) explicam que o desempenho reprodutivo de camarões peneídeos em cativeiro pode ser influenciado por fatores ambientais, tais como temperatura, OD e concentração de compostos nitrogenados, e por fatores internos, como, por exemplo, sua origem e sua condição nutricional e/ou genética. Tendo em vista o fato dos reprodutores utilizados em ambos os tratamentos deste trabalho possuírem a mesma origem, aliado à ausência de diferença significativa na maioria dos índices zootécnicos avaliados, provavelmente o baixo desempenho reprodutivo do plantel é decorrente de fatores internos do plantel utilizado (Menasveta et al., 1989).

Tabela 4 Desempenho reprodutivo (média \pm e.p) de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).

Parâmetro	Tratamento	
	BFT	AC
Sobrevivência (%) [†]	42,00 \pm 1,20	67,00 \pm 1,20
% fêmeas maduras/dia	4,36 \pm 0,72	5,59 \pm 0,74
% fêmeas maduras que estavam copuladas/dia	9,90 \pm 3,50	18,00 \pm 3,80
N. de ovos ($\times 10^3$)/fêmea	34,00 \pm 11,00	48,00 \pm 7,80
N. de náuplios ($\times 10^3$)/fêmea	16,00 \pm 5,60	21,00 \pm 6,30
% eclosão/fêmea	43,00 \pm 5,20	34,00 \pm 4,70
Viabilidade espermática (%)/macho [†]	91,00 \pm 0,78	95,00 \pm 0,67

[†]: presença de diferença significativa

Também chama a atenção o baixo percentual alcançado de fêmeas maduras que estavam copuladas, em ambos os tratamentos, apesar dos bons resultados obtidos com a viabilidade espermática. González-González et al. (2009), em seus trabalhos com maturação em cativeiro de *L. vannamei* em sistemas fechados de recirculação, alcançaram resultados entre 9,1 e 10,6% de taxa diária de cópula sobre o plantel de fêmeas, enquanto que Gandy et al. (2007) obtiveram taxas de cópulas entre 2,6 e 8,8% em experimentos com fêmeas uni e bilateralmente ablasadas. Sobre esses resultados, Alfaro-Montoya et al. (2010) explicam que, apesar do sistema de reprodução em cativeiro em geral favorecer sua performance reprodutiva, existe a possibilidade dos machos serem especialmente mais sensíveis ao ambiente de zero recirculação.

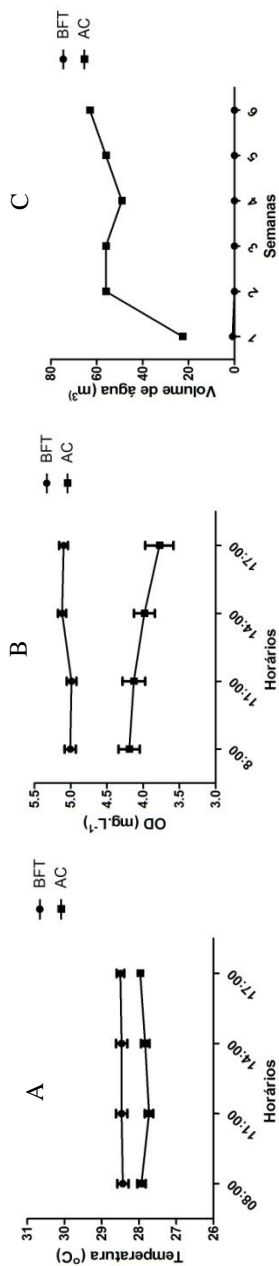


Figura 4 Comportamento de parâmetros físico químicos: Temperatura (A); Oxigênio Dissolvido (B) e Consumo semanal de água (C) em tanques de reprodução de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).

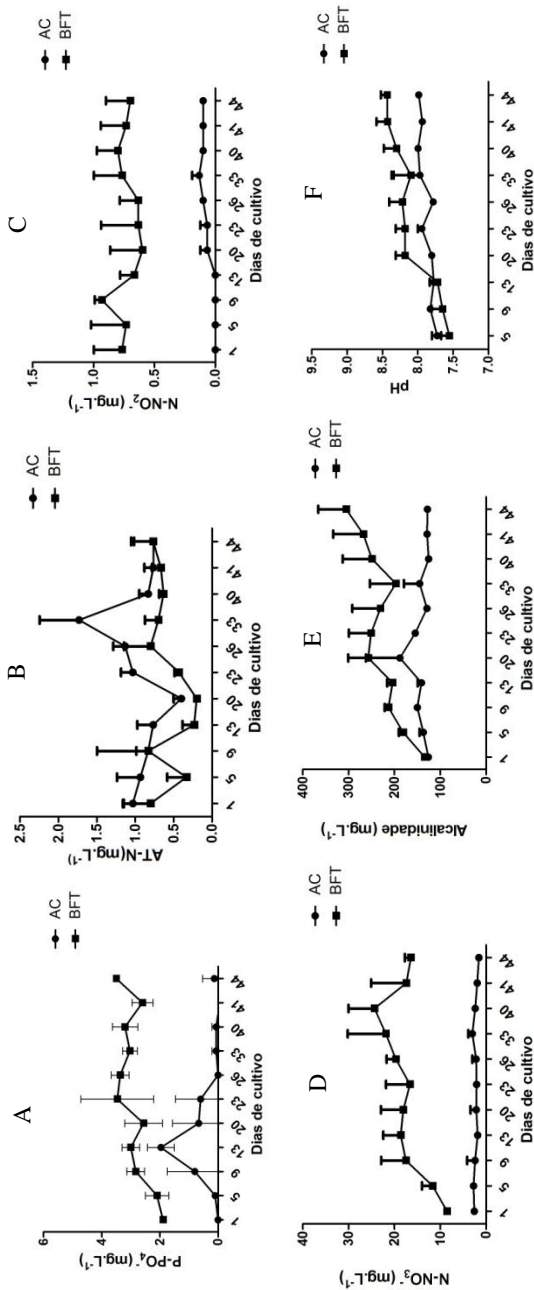


Figura 5 Comportamento de parâmetros físico químicos de qualidade de água: Fosfato (A); Amônia (B), Nitrito (C), Nitrito (D), Alcalinidade (E) e pH (F) em tanques de reprodução de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).

A este fator acrescenta-se a teoria de que temperaturas ambientais superiores a 27°C afetem negativamente o desempenho reprodutivo de machos de camarões peneídeos em cativeiro (Pascual et al., 1998; Perez-Velazquez et al., 2001), o que sugere uma eventual necessidade de separação de machos e fêmeas, em conjunto com a adoção de tanques específicos para cópula, para atendimento dessas demandas específicas de gênero.

17.3 Parâmetros Hemato-imunológicos

Apesar de sofrerem grande influência da origem populacional, sexo e estágio de desenvolvimento dos organismos, os parâmetros hemato-imunológicos são uma importante ferramenta de avaliação das condições de saúde de camarões cultivados (Barracco et al., 2008). Sua análise permite, entre outras coisas, averiguar as condições sanitárias de um grupo de organismos, uma vez que estão relacionados com a capacidade de resposta imune dos indivíduos frente a possíveis agentes patológicos (Cuéllar-Anjel, 2008).

17.3.1 Contagem total de hemócitos (CTH)

Foi detectada diferença significativa entre gêneros e entre tratamentos para esse parâmetro (tabela 4 e figura 5), tendo os machos submetidos ao tratamento BFT sido superiores a os demais. Em relação a esta evidência, Ekasari *et al.* (2014) e Xu *et al.* (2013) observaram em seus trabalhos um claro efeito da presença de bioflocos no sistema imune de camarões peneídeos. Os mesmos defendem a teoria de que a grande variedade de microrganismos característica do ambiente de bioflocos pode estimular a presença de hemócitos na hemolinfa dos camarões peneídeos.

Adicionalmente, também se pode observar que os valores de CTH obtidos ficaram muito próximos do descrito para peneídeos na literatura. Por exemplo, Sainz-Hernández *et al.* (2008) obtiveram valores entre 15 e 26 $\times 10^6$ céls.mL⁻¹ para *L. vannamei* submetidos a ablação uni ou bilateral. Le Moullac and Haffner (2000) demonstraram uma correlação positiva entre a temperatura do meio e os valores da CTH, tendo o mesmo comportamento sido observado em machos de *L. setiferus* (Sánchez et al., 2001). Desta forma, a maior contagem de hemócitos observada no tratamento BFT pode ser atribuída à sua maior estabilidade nos resultados de temperatura alcançado no ambiente de cultivo durante este trabalho.

Tabela 5 Resultados médios de Contagem Total de Hemócitos (CTH), Quantificação de ânion superóxido (ROIS), Título Aglutinante, Proteínas Totais do Soro (CP) e Atividade da Fenoloxidase (PO) (média \pm e.p) de reprodutores de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos aos tratamentos experimentais: Bioflocos (BFT) e Água Clara (AC).

Parâmetro	Machos		Fêmeas	
	BFT	AC	BFT	AC
CTH (10^6 céls.mL ⁻¹) †	41,11 \pm 0,19	30,2 \pm 1,61	29,81 \pm 3,39	25,08 \pm 1,63
ROIS (OD ₆₃₀)	0,89 \pm 0,01	0,67 \pm 0,02	1,08 \pm 0,02	1,14 \pm 0,006
Título aglutinante (log ₂)	14,58 \pm 0,0	15,25 \pm 0,58	15,58 \pm 0,0	15,25 \pm 0,58
CP (mg . mL ⁻¹)	289,37 \pm 0,83	289,24 \pm 0,47	291,29 \pm 2,65	289,53 \pm 0,5
PO (U . min ⁻¹ . mg ⁻¹)	35,12 \pm 2,47	45,50 \pm 1,80	38,29 \pm 1,74	40,57 \pm 5,14

†: presença de diferença significativa

17.3.2 Quantificação da produção intracelular de ânions superóxido

Uma das consequências da atuação do sistema imune de crustáceos é a produção de espécies reativas de oxigênio pelos hemócitos durante a sua atividade fagocítica, as quais são altamente microbicidas e constituem um dos mais eficientes parâmetros de avaliação de sua competência frente a situações de estresse (Rodríguez and Le Moullac 2000; Barracco et al. 2008; Le Moullac and Haffner 2000). Contudo, os elétrons livres localizados na sua órbita externa os tornam altamente reativos com estruturas e compostos como membranas celulares, proteínas e ácidos nucleicos (Bogdan et al., 2000), o que torna extremamente importante que o organismo possua mecanismos de defesa contra a ação desses compostos.

Neste trabalho, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os machos AC alcançaram os menores valores e as fêmeas AC alcançaram os maiores (Tabela 4). Apesar da ausência de diferenças significativas entre os tratamentos, chama a atenção os altos valores observados em ambos os tratamentos, em ambos os gêneros. A presença de altos valores de espécies reativas em todos os tratamentos sugere que a condição de estresse em que os mesmos se encontram é atribuída aos eventos fisiológicos referentes à reprodução (Keller et al., 2004), sobretudo em cativeiro, e não ao tratamento aplicado.

Acrescenta-se, ainda, que tal estresse crônico provavelmente não está sendo compensado pelo perfil nutricional da dieta ofertada. (Rodríguez and Le Moullac 2000; Barracco et al. 2008). Mas, por fim, deve-se ressaltar que a enorme variabilidade dos valores considerados de referência, em conjunto com a gama de fatores que podem interferir no perfil dos parâmetros hemato-imunológicos e com a falta de padronização das técnicas de avaliação desses índices (Barracco et al., 2008) limitam a precisão de possíveis inferências resultantes dessas análises.

17.3.3 Título aglutinante

Não foram detectadas diferenças significativas para este parâmetro. Adicionalmente, os altos valores alcançados (Tabela 4) ficaram próximos da média para peneídeos em fase reprodutiva descrita na literatura (Maggioni et al., 2004; Pérez-Jar et al., 2006; Rodríguez et al., 2001). Estes resultados, portanto, indicam nos dois tratamentos uma adequada capacidade de reconhecimento de corpos estranhos de seu sistema imunológico (Barracco et al., 2008; Cerenius et al., 2010; Cuéllar-Anjel, 2008; Goimier et al., 2006).

17.3.4 Concentração das proteínas totais do soro (CP)

Não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). Perazzolo et al. (Perazzolo et al., 2002) observaram reduções nas concentrações proteicas em camarões adultos de *F.paulensis* submetidos a alterações de salinidade, ablação e extirpação de espermatóforos (entre 60 e 70 mg.ml⁻¹), enquanto que Racotta and Palacios (1998) relatam quedas nos níveis proteicos na hemolinfa de *L. vannamei* submetidos a situações de estresse.

Os valores alcançados por este trabalho, por sua vez, podem ser considerados altos quando comparados com padrões já relatados para camarões peneídeos. Palacios et al. (2000) observaram uma leve correlação positiva entre o número de desovas e a concentração proteica na hemolinfa em fêmeas reprodutoras de *L. vannamei* selvagens e de cativeiro, tendo estas, contudo, alcançado valores inferiores a 150 mg.mL⁻¹, enquanto que Maggioni et al. (2004) observaram valores entre 260 e 308 mg.mL⁻¹ em seus trabalhos sobre o efeito de superdosagem de ácido ascórbico em dietas de reprodutores de *L. vannamei*, tal como observado neste trabalho. Por fim, Sánchez et al. (2001) sugerem que a concentração proteica da hemolinfa pode estar relacionada tanto com o conteúdo de hemocianina da mesma, a qual corresponde a cerca de 90% do total de proteínas presentes na hemolinfa, quanto com a reserva proteica do organismo, decorrente do percentual de proteína bruta presente na dieta dos organismos analisados.

17.3.5 Atividade da fenoloxidase (PO)

Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). Contudo, conforme já explicado anteriormente, sabe-se que os valores de referência de parâmetros hemato-imunológicos são extremamente variáveis dentro de uma mesma população, sexo ou estágio de desenvolvimento dos organismos analisados. A respeito dos possíveis elementos externos que causam alterações nos valores da PO no ambiente da maturação em cativeiro, a literatura relata fatores como variação da concentração de compostos nitrogenados no meio (Le Moullac and Haffner 2000), hipóxia (Le Moullac et al., 1998), ablação unilateral (Maggioni et al. 2004; Perazzolo et al. 2002) e manejo (Sánchez et al., 2001). Os valores alcançados pelos organismos analisados (Tabela 4) podem indicar que o plantel poderia estar sob condição de estresse. Schleder et al. (2008) observaram aumento na atividade da PO em *N.nodosus* sexualmente maduros, enquanto Sánchez et al. (2001) observaram o mesmo comportamento em reprodutores machos de *L. stylirostris* submetidos a manejo de aclimação a 27°C e

31°C. Os mesmos autores acrescentam que um dos possíveis efeitos ocasionados pela presença de agentes de estresse no meio seria a redução no potencial imunológico dos organismos através da redução dos hemócitos circulantes e dos mecanismos regulatórios da enzima PO, aumentando a atividade da mesma. Contudo, levando em conta a ausência de diferença significativa entre os tratamentos nos parâmetros em questão, provavelmente a origem do fator de estresse dos organismos pode ser atribuído aos aspectos intrínsecos ao ambiente de maturação em cativeiro ou ao processo de amadurecimento gonadal em si, uma vez que as mudanças fisiológicas associadas ao gasto energético do processo geram estresse significativo nos organismos cultivados, independentemente do modelo de maturação em cativeiro adotado.

18 CONCLUSÕES

Este trabalho não detectou efeito significativo dos tratamentos aplicados sobre o desempenho reprodutivo e o perfil imunológico dos organismos avaliados. Adicionalmente, observou-se melhor desempenho do tratamento BFT nos parâmetros físico-químicos de água. São necessários mais estudos relacionados ao *design* da estrutura de captura e do efeito do ambiente de troca zero de água sobre os reprodutores machos, mas os resultados aqui apresentados sugerem ser possível a inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação sem maiores comprometimentos ao desempenho reprodutivo e imunológico de *Litopenaeus vannamei* em cativeiro.

19 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEU - Fundação de Amparo à Pesquisa e Extensão Universitária; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através da Chamada Universal n° 14/2012 (CNPq/521454/473572/2012-5), pelo apoio financeiro a este trabalho de pesquisa.

20 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alfaro-Montoya, J., 2010. The reproductive conditions of male shrimps, genus *Penaeus*, sub-genus *Litopenaeus* (open thelyca penaeoid shrimps): A review. *Aquaculture* 300, 1–9.

ANDREATTA, E.R., BELTRAME, E., 2008. Cultivo de camarões marinhos. *Aquicultura Experiências Bras. Único*, 199–220.

APHA, 1998. *Standard Methods for the Examination of the Water and*

- Wastewater. Am. Water Work. Assoc. Public Work. Assoc. Environ. Fed. 1469.
- Arana, L.V., 2010. Qualidade da água em aquicultura: princípios e práticas 238.
- Avnimelech, Y., 2009. Biofloc Technology - A practical guide book. 182p.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227–235.
- Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29–35.
- Badiola, M., Mendiola, D., Bostock, J., 2012. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquac. Eng.* 51, 26–35.
- Barbieri Jr, R.C., Ostrenski Neto, A., 2001. Camarões Marinhos Vol 1 - Reprodução, Maturação e Larvicultura 255p.
- Barracco, M.A., Perazzolo, L.M., Rosa, R.D., 2008. Inmunología del Camarón, 1a ed, Guia Técnica - Patología e Inmunologia de Camarones Penaeideos. Programa CYTED Red II D Vannamei, Panamá - República del Panamá.
- Beçak, W., Paulete, J., 1976. Técnicas de citologia e histologia 305p.
- Bhavanishankar, S., Subramoniam, T., 1997. Cryopreservation of spermatozoa of the edible mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) J. Exp. Zool. 277, 326–336.
- Bittencourt, M., 2000. Avaliação da influência de três estratégias alimentares no desempenho reprodutivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em cativeiro. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Bogdan, C., Röllinghoff, M., Diefenbach, A., 2000. Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 12, 64–76. doi:10.1016/S0952-7915(99)00052-7

- Braga, A., Lopes, D. LA, Magalhães, V., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2013. Use of biofloc technology during the pre-maturation period of *Litopenaeus vannamei* males: effect of feeds with different protein levels on the spermatophore and sperm quality. *Aquac. Res.* In press, 1–9.
- Bray, W.A., Lawrence, A.D., 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. *Mar. Shrimp Cult. Princ. Pract.* 93–170.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L.D., 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity, in: Fast, A.W., Lester, L.J. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 93–169.
- Browdy, C.L., 1998. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies: improving the outlook for superior captive stocks. *Aquaculture* 164, 3–21.
- Carvalho, F.G., Andreatta, E.R., Fracalossi, D.M., 2010. Avaliação da gônada de peixe marinho e da biomassa de *Artemia* sp. como itens alimentares sobre o desempenho reprodutivo de *Litopenaeus vannamei*. *Bol. Inst. Pesca* 36, 111 – 121.
- Cavalli, R.O., Peixoto, S.M., Wasielesky, W., 1998. Performance of *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante) broodstock under long-term exposure to ammonia. *Aquac. Res.* 29, 815–822.
- Ceballos-Vázquez, B.P., Rosas, C., Racotta, I.S., 2003. Sperm quality in relation to age and weight of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 228, 141–151.
- Cerenius, L., Jiravanichpaisal, P., Hai-peng, L., Söderhäll, I., 2010. Crustacean Immunity, in: Söderhäll, K. (Ed.), *Invertebrate Immunity*. Landes Bioscience / Springer Science+Business Media-Series: Advances in experimental medicine and biology, pp. 239–279.
- Cheng, S., 2001. The time-course change of nitrogenous excretion in the Kuruma shrimp *Penaeus japonicus* following nitrite exposure. *Aquat. Toxicol.* 51, 443–454.

- Cheng, S.-Y., Chen, J.-C., 2002. Joint action of elevated ambient nitrite and nitrate on hemolymph nitrogenous compounds and nitrogen excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon*. Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol. 131, 303–314.
- Colt, J., 2006. Water quality requirements for reuse systems. Aquac. Eng. 34, 143–156.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture 270, 1–14.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., Avnimelech, Y., 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. Aquac. Eng. 40, 105–112.
- Cuéllar-Anjel, J., 2008. Métodos de Diagnóstico de Enfermedades en Camarones Marinos de Cultivo. Guia Técnica - Patol. e Inmunol. Camarones Penaeideos 1 – 54.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. Aquaculture 277, 125–137.
- Ekasari, J., Hanif Azhar, M., Surawidjaja, E.H., Nuryati, S., De Schryver, P., Bossier, P., 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. Fish Shellfish Immunol. 41, 332–339.
- Elwood, R.W., Barr, S., Patterson, L., 2009. Pain and stress in crustaceans? Appl. Anim. Behav. Sci. 118, 128–136.
- Emerenciano, M., Cuzon, G., Goguenheim, J., Gaxiola, G., AQUACOP, 2012. Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Aquac. Res. 44, 75–85.
- Emerenciano, M.G.C., 2012. Biofloc Tchnology (BFT) application on reproduction of penaeid shrimp (Decapoda: Penaeidae) and its effects on biochemical composition and fatty acid profile. Pos Grado en Ciencias del Mar y Limnol. PhD, 205.

- Emerenciano, M.G.C., Wasielesky Junior, W., Borda Soares, R., Ballester, E.C., Marques Izeppi, E., Oliveira Cavalli, R., 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. *Acta Sci. Biol. Sci.* 29, 1–7.
- Emerenciano, M.M., Cuzon, G., Arévalo, M., Gaxiola, G., 2014. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. *Aquac. Res.* 45, 1713–1726.
- Gandy, R.L., Samocha, T.M., Masser, M.P., Fox, J.M., Ali, A.-M.S., Gatlin III, D.M., Speed, M., 2007. The effect of unilateral eyestalk ablation and diet on the reproductive performance of wild-caught *Farfantepenaeus aztecus* (Ives, 1891) using a closed recirculating maturation system. *Aquac. Res.* 38, 580–587.
- Gao, L., Shan, H.-W., Zhang, T.-W., Bao, W.-Y., Ma, S., 2012. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. *Aquaculture* 342-343, 89–96.
- Goimier, Y., Pascual, C., Sánchez, A., Gaxiola, G., Sánchez, A., Rosas, C., 2006. Relation between reproductive, physiological, and immunological condition of *Litopenaeus setiferus* pre-adult males fed different dietary protein levels (Crustacea; Penaeidae). *Anim. Reprod. Sci.* 92, 193–208.
- González-González, A., Mendoza-Alfaro, R., Aguirre-Guzman, G., Sánchez-Martínez, J.G., 2009. Growth performance, survival and maturation of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an inland CRS with no water reposition. *Aquac. Res.* 40, 1428–1438.
- Guertler, C., Schleder, D.D., Barracco, M.A., Perazzolo, L.M., 2010. Comparative study of the intracellular superoxide anion production in different penaeid species through the NBT-reduction assay. *Aquac. Res.* 41, 1082–1088.
- Kautsky, N., Rönnbäck, P., Tedengren, M., Troell, M., 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191, 145–161.

- Keller, M., Sommer, A.M., Pörtner, H.O., Abele, D., 2004. Seasonality of energetic functioning and production of reactive oxygen species by lugworm (*Arenicola marina*) mitochondria exposed to acute temperature changes. *J. Exp. Biol.* 207, 2529–38.
- Krummenauer, D., Júnior, C.A.S., Poersch, L.H., Foes, G.K., Lara, G.R. de, Junior, W.W., 2012. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. *Atlântica (Rio Gd.* 34, 103–111.
- LCM, 2007a. Instrução técnica de trabalho: Cálculo Inicial do Arraçamento de Camarões. Florianópolis, SC.
- LCM, 2007b. Procedimento operacional - maturação. Florianópolis, SC.
- LCM, 2004. Instrução técnica de trabalho: Troca de água / tanques de aclimação e manutenção de matrizes. Florianópolis, SC.
- Le Moullac, G., Haffner, P., 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture* 191, 121–131.
- Le Moullac, G., Soyez, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J.C., Levy, P., 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish Shellfish Immunol.* 8, 621–629.
- Lezcano, M., Granja, C., Salazar, M., 2004. The use of flow cytometry in the evaluation of cell viability of cryopreserved sperm of the marine shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Cryobiology* 48, 349–56.
- Lin, Y.-C., Chen, J.-C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 224, 193–201.
- Madenjian, C.P., Rogers, G.L., Fast, A.W., 1987. Predicting night time dissolved oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: Part II. A new method. *Aquac. Eng.* 6, 209–225.
- Maggioni, D.S., Andreatta, E.R., Hermes, E.M., Barracco, M.A., 2004. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk

ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture* 241, 501–515.

Menasveta, P., Aranyakanonda, P., Rungsupa, S., Moree, N., 1989. Maturation and larviculture of penaeid prawns in closed recirculating seawater systems. *Aquac. Eng.* 8, 357–368.

Millamena, O.M., Casalmir, C.M., Subosa, P.F., 1991. Performance of recirculating systems for prawn hatchery and broodstock maturation tanks. *Aquac. Eng.* 10, 161–171.

Mishra, J.K., Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Gandy, R.L., Ali, A.-M., 2008. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. *Aquac. Eng.* 38, 2–15.

Moss, S.M., Moss, D.R., Arce, S.M., Lightner, D. V., Lotz, J.M., 2012. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. *J. Invertebr. Pathol.* 110, 247–50.

Ostrensky, A., Wasielesky, W., 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture* 132, 339–347.

Otoshi, C.A., Arce, S.M., Moss, S.M., 2003. Growth and reproductive performance of broodstock shrimp reared in a biosecure recirculating aquaculture system versus a flow-through pond. *Aquac. Eng.* 29, 93–107.

Palacios, E., Ibarra, A., Racotta, I., 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185, 353–371.

Pascual, C., Valera, E., Re-Regis, C., Gaxiola, G., Sanchez, A., Ramos, L., Soto, L.A., Rosas, C., 1998. Effect of Water Temperature on Reproductive Tract Condition of *Penaeus setiferus* Adult Males. *J. World Aquac. Soc.* 29, 477–484.

Perazzolo, L.M., Gargioni, R., Ogliari, P., Barracco, M.A., 2002.

- Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture* 214, 19–33.
- Pérez-Jar, L., Rodríguez-Ramos, T., Ramos, L., Guerra-Borrego, Y., Racotta, I.S., 2006. Changes in metabolic and immunological variables of wild and pond-reared southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* adult males during continuous reproductive activity. *Aquaculture* 252, 591–597.
- Perez-Velazquez, M., Bray, W.A., Lawrence, A.L., Gatlin, D.M., Gonzalez-Felix, M.L., 2001. Effect of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 198, 209–218.
- Preston, N.P., Brennan, D.C., Crocos, P.J., 1999. Comparative costs of postlarval production from wild or domesticated Kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* (Bate), broodstock. *Aquac. Res.* 30, 191–197.
- Racotta, I.S., Palacios, E., 1998. Hemolymph Metabolic Variables in Response to Experimental Manipulation Stress and Serotonin Injection in *Penaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 29, 351–356.
- Rodríguez, J., Le Moullac, G., 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191, 109–119.
- Rodríguez, T., Borrell, Y., Ramos, L., Bécquer, U., Espinosa, G., 2001. APLICACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE DE LA HEMOLINFA DE *Litopenaeus schmitti*. *Rev. Invest. Mar* 22, 235–240.
- Sainz-Hernández, J.C., Racotta, I.S., Dumas, S., Hernández-López, J., 2008. Effect of unilateral and bilateral eyestalk ablation in *Litopenaeus vannamei* male and female on several metabolic and immunologic variables. *Aquaculture* 283, 188–193.
- Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., Le Moullac, G., Rosas, C., 2001. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. *Aquaculture* 198, 13–28.

- Schleder, D.D., Kayser, M., Sühnel, S., Ferreira, J.F., Rupp, G.S., Barracco, M.A., 2008. Evaluation of hemato-immunological parameters during the reproductive cycle of the scallop *Nodipecten nodosus* in association with a carotenoid-enriched diet. *Aquaculture* 280, 256–263.
- Schveitzer, R., Andreatta, E.R., Souza, J., Arantes, R., Seiffert, W.Q., 2008. Cultivo com bioflocos: Engorda e formação de matrizes de *Litopenaeus vannamei*. *Panor. da Aquicultura* 107, 38–43.
- Schveitzer, R., Arantes, R., Baloi, M.F., Costódio, P.F.S., Arana, L.V., Seiffert, W.Q., Andreatta, E.R., 2013a. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquac. Eng.* 54, 93–103.
- Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., do Espírito Santo, C.M., Arana, L.V., Seiffert, W.Q., Andreatta, E.R., 2013b. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquac. Eng.* 56, 59–70.
- Sprague, J.B., 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish—III. *Water Res.* 5, 245–266.
- Strickland D.H., J., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries and Marine Services.
- Taylor, J., 2004. Minimizing the effects of stress during eyestalk ablation of *Litopenaeus vannamei* females with topical anesthetic and a coagulating agent. *Aquaculture* 233, 173–179.
- Trujillo, L.R., 1996. Técnicas e procedimentos empregados na maturação de camarões peneídeos., in: GESTEIRA, T.C. V, NUNES, A.J.P. (Eds.), 1o Workshop Do Estado Do Ceará Sobre Cultivo de Camarão Marinho. Grupo de Estudos de Camarão Marinho – GECMAR. Fortaleza, CE, pp. 67–85.
- Uberti, M.F., 2012. Avaliação da Integridade de células espermáticas de *Litopenaeus vannamei* submetidos a criopreservação. Universidade Federal de Santa Catarina.

- van Rijn, J., 2013. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquac. Eng.* 53, 49–56.
- van Rijn, J., Tal, Y., Schreier, H.J., 2006. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. *Aquac. Eng.* 34, 364–376.
- Van Wyk, P., 2006. Production of *Litopenaeus vannamei* in Recirculating Aquaculture Systems: Management and Design Considerations., in: Virginia Tech University (Ed.), International Conference Recirculating Aquaculture, 6. Virginia, pp. 38–47.
- Van Wyk, P. and Scarpa, J. 1999. Water Quality Requirements and Management, Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater System - A Practical manual. Harbor Branch Oceanographic Institution, Florida State University and USDA's Agricultural Research Service, FL, USA.
- Wabete, N., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Massabuau, J.-C., 2006. A soft technology to improve survival and reproductive performance of *Litopenaeus stylirostris* by counterbalancing physiological disturbances associated with handling stress. *Aquaculture* 260, 181–193.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396–403.
- Wickins, J.F., 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture* 9, 19–37.
- Xu, W.-J., Pan, L.-Q., 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture* 412-413, 117–124.
- Zar, J.H., 1996. Biostatistical analysis, 3rd ed. Prentice Hall, New Jersey.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados conclui-se que:

- ✓ Foi detectada a ocorrência de eventos relacionados à reprodução – amadurecimento gonadal e cópula – na maturação em sistema de bioflocos;
- ✓ Existe viabilidade no manejo a ser adotado nesta modalidade alternativa de reprodução em cativeiro;
- ✓ O tratamento bioflocos (BFT) teve desempenho significativamente melhor em relação aos parâmetros físico-químicos de monitoramento e de consumo semanal de água;
- ✓ Não foi detectado efeito significativo dos tratamentos aplicados sobre o desempenho reprodutivo e o perfil imunológico dos organismos avaliados;
- ✓ É possível a inserção da tecnologia de bioflocos no sistema de maturação em cativeiro sem maiores comprometimentos ao desempenho reprodutivo e imunológico de *Litopenaeus vannamei* em cativeiro.

ÚLTIMAS CONSIDERAÇÕES E RECOMENDAÇÕES

A maturação em cativeiro consiste na manutenção de plantel de reprodutores em confinamento, a fim de garantir a constância no fornecimento de larvas de camarões marinhos. Contudo, sabe-se que os sistemas usualmente aplicados caracterizam-se por utilizarem baixas taxas de estocagem, em conjunto com altos percentuais de renovação de água e alta frequência alimentar. Tal configuração pode acarretar em prejuízos tais como desperdício de alimento, altos gastos com bombeamento, tratamento e condicionamento de água e riscos de dispersão de agentes patogênicos nos ambientes de entorno.

Conforme foi demonstrado nesta pesquisa, a inserção do sistema de bioflocos na maturação traz vantagens tais como maior economia e melhores desempenho de parâmetros físico-químicos de qualidade de água, além de não interferir negativamente no desempenho reprodutivo ou imunológico dos indivíduos confinados. Contudo, para melhor aplicabilidade desta nova modalidade de cultivo recomenda-se a realização de pesquisas tais como investigações acerca do perfil nutricional e aplicabilidade alimentar do biofoco, em conjunto com avaliações de exigências nutricionais de reprodutores de camarões marinhos; de temperaturas e densidades ótimas por gênero para maturação em cativeiro e programas de seleção genética de indivíduos em relação à desempenho reprodutivo e resistência à doenças em sistema de bioflocos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ADOLFO JATOBÁ. **Nível e fonte de proteína na alimentação do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado na presença de bioflocos**, 2014. Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <<http://tede.ufsc.br/teses/PAQI0371-T.pdf>>. .

ANDREATTA, E. R.; BELTRAME, E. Cultivo de camarões marinhos. (C. R. POLI, A. T. B. POLI, E. R. ANDREATTA, & E. BELTRAME, Eds.) **Aquicultura: Experiências brasileiras**, v. Único, p. 199–220, 2008. Florianópolis, SC: EdUFSC.

AVNIMELECH, Y. Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 176, n. 3-4, p. 227–235, 1999.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1–4, p. 140–147, 2007.

AVNIMELECH, Y. **Biofloc Technology - A practical guide book**. , p. 182, 2009. Baton Rouge, Louisiana, USA: The World Aquaculture Society.

AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, n. 1-4, p. 29–35, 2008.

BACHÈRE, E.; GUEGUEN, Y.; GONZALEZ, M.; et al. Insights into the anti-microbial defense of marine invertebrates: the penaeid shrimps and the oyster *Crassostrea gigas*. **Immunological Reviews**, v. 198, n. 1, p. 149–168, 2004. Munksgaard International Publishers.

BALLESTER, E. L. C.; ABREU, P. C.; CAVALLI, R. O.; et al. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 163–172, 2010.

BARBIERI JR, R. C.; OSTRENSKI NETO, A. **Camarões Marinhos Vol 1 - Reprodução, Maturação e Larvicultura**. 255p, 2001. Viçosa, MG: Aprenda Fácil.

BARRACCO, M. A. .; PERAZZOLO, L. M. .; ROSA, R. D. **Immunología del Camarón**. 1a ed. Panamá - República del Panamá:

Programa CYTED Red II D Vannamei, 2008.

BEARD, T. W.; WICKINS, J. F.; ARNSTEIN, D. R. The breeding and growth of *Penaeus merguensis* de Man in laboratory recirculation systems. **Aquaculture**, v. 10, n. 3, p. 275–289, 1977.

BRAY, W. A.; LAWRENCE, A. D. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. (A. FAST & L. J. LESTER, Eds.) **Marine Shrimp culture: Principles and Practices**, p. 93–170, 1992. Elsevier Science Publishers.

BRITO, C.; VALLE, B. DO; INTERAMINENSE, J.; et al. Microbiological quality of *Litopenaeus vannamei* culture using conventional and biofloc systems. **Aquaculture Research**, p. n/a–n/a, 2015.

BROWDY, C. L. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies: improving the outlook for superior captive stocks. **Aquaculture**, v. 164, p. 3–21, 1998.

CERENIUS, L.; JIRAVANICHPAISAL, P.; HAI-PENG, L.; SÖDERHÄLL, I. Crustacean Immunity. In: K. Söderhäll (Ed.); **Invertebrate Immunity**. p.239–279, 2010. Landes Bioscience / Springer Science+Business Media- Series: Advances in experimental medicine and biology.

CERENIUS, L.; SÖDERHÄLL, K. Crustacean immune responses and their implications for disease control. In: B. Austin (Ed.); **Infectious Disease in Aquaculture**. p.69–87, 2012. Cambridge: Elsevier.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, p. 1–14, 2007.

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, v. 356-357, p. 351–356, 2012.

CUÉLLAR-ANJEL, J. Métodos de Diagnóstico de Enfermedades en Camarones Marinos de Cultivo. (J. Morales, V.; Cuéllar-Anjel, Ed.) **Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeideos**, p. 1 – 54, 2008. Panamá - República del Panamá: Programa CYTED Red II D Vannamei.

DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125–137, 2008.

EKASARI, J.; HANIF AZHAR, M.; SURAWIDJAJA, E. H.; et al. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. **Fish & shellfish immunology**, v. 41, n. 2, p. 332–339, 2014.

EMERENCIANO, M. G. C. Biofloc Tchnology (BFT) application on reproduction of penaeid shrimp (Decapoda: Penaeidae) and its effects on biochemical composition and fatty acid profile. **Pos Grado en Ciencias del Mar y Limnologia**, v. PhD, p. 205, 2012. Sisal, Yucatan, Mexico: Universidade nacional Autonoma de Mexico.

EMERENCIANO, M. G. C.; WASIELESKY JUNIOR, W.; BORDA SOARES, R.; et al. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, p. 1–7, 2007.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. (D. M. D. Matovic, Ed.) **Biomass Now - Cultivation and Utilization**, 2013. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/biomass-now-cultivation-and-utilization/biofloc-technology-bft-a-review-for-aquaculture-application-and-animal-food-industry>>. .

EMERENCIANO, M. M.; CUZON, G.; ARÉVALO, M.; GAXIOLA, G. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 10, p. 1713–1726, 2014.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture - Opportunities and challenges**. 2014th ed. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014.

FAO. Fisheries Global Information System (FAO-FIGIS) - Web site. About FIGIS. FI Institutional Websites. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated . Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/en>>. Acesso em: 5/1/2016.

FERNANDES DA SILVA, C.; BALLESTER, E.; MONSERRAT, J.; et al. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 6, p. 507–514, 2008.

FOLKE, C.; KAUTSKY, N.; BERG, H.; JANSSON, Å.; TROELL, M.

THE ECOLOGICAL FOOTPRINT CONCEPT FOR SUSTAINABLE SEAFOOD PRODUCTION: A REVIEW. **Ecological Applications**, v. 8, n. sp1, p. S63–S71, 1998. Ecological Society of America.

FREDRICK, W. S.; RAVICHANDRAN, S. Hemolymph proteins in marine crustaceans. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 6, p. 496–502, 2012.

FRÓES, C.; FÓES, G.; KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JUNIOR, W. Densidade de estocagem na engorda de camarão-branco cultivado em sistema de biofloc. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 878–884, 2013.

GANDY, R. L.; SAMOCHA, T. M.; MASSER, M. P.; et al. The effect of unilateral eyestalk ablation and diet on the reproductive performance of wild-caught *Farfantepenaeus aztecus* (Ives, 1891) using a closed recirculating maturation system. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 580–587, 2007.

GAO, L.; SHAN, H.-W.; ZHANG, T.-W.; BAO, W.-Y.; MA, S. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. **Aquaculture**, v. 342-343, p. 89–96, 2012.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, A.; MENDOZA-ALFARO, R.; AGUIRRE-GUZMAN, G.; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. G. Growth performance, survival and maturation of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an inland CRS with no water reposition. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 12, p. 1428–1438, 2009. Blackwell Publishing Ltd.

JOHNSON, C. N.; BARNES, S.; OGLE, J.; et al. Microbial Community Analysis of Water, Foregut, and Hindgut during Growth of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Closed-System Aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, n. 2, p. 251–258, 2008. Blackwell Publishing Inc.

JU, Z. Y.; FORSTER, I.; CONQUEST, L.; DOMINY, W. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 6, p. 533–543, 2008. Blackwell Publishing Ltd.

KINNE, P. N.; SAMOCHA, T. M.; JONES, E. R.; BROWDY, C. L. Characterization of intensive shrimp pond effluent and preliminary studies on biofiltration. **North American Journal of Aquaculture**, v. 63, p. 25–33, 2001.

LARA, G.; KRUMMENAUER, D. .; POERSCH, L. H. .; WASIELESKY, W. Sistema de Bioflocos: processos de assimilação e remoção do nitrogênio. **Panorama da Aquicultura**, v. 133, 2013. Disponível em:

<<http://panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=1880>>. .

LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. **Aquaculture**, v. 191, n. 1–3, p. 121–131, 2000.

LIGHTNER, D. V. The penaeid shrimp viral pandemics due to IHNV, WSSV, TSV and YHV: history in the Americas and current status. In: Eileen McVey (Ed.); 32nd Joint Meeting of the United States-Japan Cooperative Program in Natural Resource. **Anais...** . s/n ed., v. s/n, p.20, 2003. Davis and Santa Barbara, California, USA: National Oceanic and Atmospheric Administration - NOAA. Disponível em: <http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/japan/aquaculture/proceedings/report32/lightner_corrected.pdf>. .

MAGGIONI, D. S.; ANDREATTA, E. R.; HERMES, E. M.; BARRACCO, M. A. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. **Aquaculture**, v. 241, n. 1-4, p. 501–515, 2004.

MENASVETA, P.; ARANYAKANONDA, P.; RUNGSUPA, S.; MOREE, N. Maturation and larviculture of penaeid prawns in closed recirculating seawater systems. **Aquacultural Engineering**, v. 8, n. 5, p. 357–368, 1989.

MENASVETA, P.; PANRITDAM, T.; SIHANONTH, P.; et al. Design and function of a closed, recirculating seawater system with denitrification for the culture of black tiger shrimp broodstock. **Aquacultural Engineering**, v. 25, n. 1, p. 35–49, 2001.

MISHRA, J. K.; SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; et al. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. **Aquacultural Engineering**, v. 38, n. 1, p. 2–15, 2008.

MOSS, S. M.; ARCE, S. M.; ARGUE, B. J.; et al. Greening of the blue revolution: efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In: C. L. Browdy; D. E. Jory (Eds.); The New Wave, Proceedings of the

Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. **Anais...** . p.19, 2001. Baton Rouge, LA USA: The World Aquaculture Society.

MOSS, S. M.; MOSS, D. R.; ARCE, S. M.; LIGHTNER, D. V; LOTZ, J. M. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. **Journal of invertebrate pathology**, v. 110, n. 2, p. 247–50, 2012.

NAYLOR, R. L.; GOLDBURG, R. J.; PRIMAVERA, J. H.; et al. Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v. 405, p. 1017–1024, 2000.

OTOSHI, C. A.; ARCE, S. M.; MOSS, S. M. Growth and reproductive performance of broodstock shrimp reared in a biosecure recirculating aquaculture system versus a flow-through pond. **Aquacultural Engineering**, v. 29, n. 3-4, p. 93–107, 2003.

PÁEZ-OSUNA, F. The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective. **Environmental Pollution**, v. 112, n. 2, p. 229–231, 2001.

PANJAITAN, P. Shrimp culture of *Penaeus monodon* with zero water exchange model (ZWEM) using molasses. **Journal of Coastal Development**, v. 14, n. 1, p. 35–44, 2010.

PAULEY, G. B. An attempt to immunize the blue crab, *Callinectes sapidus*, with vertebrate red blood cells. **Experientia**, v. 29, n. 2, p. 210–211, 1973. Birkhäuser-Verlag.

PÉREZ-JAR, L.; RODRÍGUEZ-RAMOS, T.; RAMOS, L.; GUERRA-BORREGO, Y.; RACOTTA, I. S. Changes in metabolic and immunological variables of wild and pond-reared southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* adult males during continuous reproductive activity. **Aquaculture**, v. 252, n. 2-4, p. 591–597, 2006.

RESENDE, E. K. Pesquisa em rede em aquicultura: bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil (Aquabrazil). **R. Bras. Zootec.**, v. 38, p. 52–57, 2009.

ROCHA, I. P.; MAIA, E. P. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas crescimento da carcinicultura marinha brasileira. **I CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA; X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA; V SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CULTIVO DE CAMARÃO; II FEIRA DE**

TECNOLOGIA E PRODUTOS PARA AQUICULTURA., v. 1, p. 213–235, 1998. Recife, PE.

RODRÍGUEZ, J.; LE MOULLAC, G. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. **Aquaculture**, v. 191, n. 1-3, p. 109–119, 2000.

RÖNNBÄCK, P. **Environmentally sustainable shrimp aquaculture**. 2002.

SCHLEDER, D. D.; KAYSER, M.; SÜHNEL, S.; et al. Evaluation of hemato-immunological parameters during the reproductive cycle of the scallop *Nodipecten nodosus* in association with a carotenoid-enriched diet. **Aquaculture**, v. 280, n. 1-4, p. 256–263, 2008.

SCHVEITZER, R.; ANDREATTA, E. R.; SOUZA, J.; ARANTES, R.; SEIFFERT, W. Q. Cultivo com bioflocos: Engorda e formação de matrizes de *Litopenaeus vannamei*. **Panorama da Aquicultura**, v. 107, p. 38–43, 2008. Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/Revistas/107/cultivo_bioflocos107.asp>. .

SCHVEITZER, R.; ARANTES, R.; COSTÓDIO, P. F. S.; et al. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, v. 56, p. 59–70, 2013.

SHEPERD, J. Fishmeal and fish oil: sustainability and world market prospects. **International Aquafeed**, v. 8, p. 19–21, 2005.

TACON, A. G. J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, p. 146–158, 2008.

TAW, N. Biofloc Technology Expanding At White Shrimp Farms. **Global Advocate** 10, p. 20–22, 2010.

VAZQUEZ, L.; ALPUCHE, J.; MALDONADO, G.; et al. Review: Immunity mechanisms in crustaceans. **Innate immunity**, v. 15, n. 3, p. 179–188, 2009.

WASIELESKY, W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C. L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1-4, p. 396–403, 2006.

WILLIAMS, K. C.; SMITH, D. M.; BARCLAY, M. C.; TABRETT, S. J.; RIDING, G. Evidence of a growth factor in some crustacean-based feed ingredients in diets for the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 250, n. 1-2, p. 377–390, 2005.

XU, W.-J.; PAN, L.-Q. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. **Aquaculture**, v. 412-413, p. 117–124, 2013.