

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

LUIZA VIEIRA MARIOT

**ADIÇÃO DE FUCOIDANA DA MACROALGA *Undaria pinnatifida* NA DIETA DO
CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO E SUA INFLUÊNCIA NA MICROBIOTA DO
TRATO INTESTINAL E RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO**

FLORIANÓPOLIS

2016

LUIZA VIEIRA MARIOT

**ADIÇÃO DE FUCOIDANA DA MACROALGA *Undaria pinnatifida* NA DIETA DO
CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO E SUA INFLUÊNCIA NA MICROBIOTA DO
TRATO INTESTINAL E RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao
Curso de Graduação de Engenharia de
Aquicultura da Universidade Federal de Santa
Catarina para obtenção do Título de Engenheira
de Aquicultura.

Orientadora: Prof. Dra. Leila Hayashi

FLORIANÓPOLIS

2016

Luiza Vieira Mariot

**ADIÇÃO DE FUCOIDANA DA MACROALGA *Undaria pinnatifida* NA DIETA
DOCAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO E SUA INFLUÊNCIA NA MICROBIOTA
DO TRATO INTESTINAL E RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO**

Trabalho de Conclusão de Curso à Banca Examinadora como parte dos requisitos
para conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura.

Florianópolis, 29 de novembro de 2016.

Prof^a,Dr^a. Anita Rademaker Valença,
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a,Dr^a. Leila Hayashi,
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr^a. Norha Constanza Bolívar Ramírez
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. José Bonomi Barufi
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Queria agradecer a minha família, que sempre me incentivou e apoiou, mesmo nos momentos de dificuldades e incertezas, durante todo o percurso da graduação.

A Prof. Leila Hayashi por toda a orientação e apoio na construção deste trabalho.

A todos os companheiros de estágio da seção de macroalgas por todo o companheirismo e grande ajuda durante a realização deste experimento.

A CAPES pela bolsa de estágio concedida, e ao CNPQ pela oportunidade de realizar o intercâmbio.

A Jussara, mãe da aquicultura, que sempre esteve disposta a ajudar durante todos os momentos da graduação.

A todos os amigos que fiz durante este percurso, pessoas incríveis que me presentearam com muitos momentos de alegria.

A todos os funcionários do LCM que sempre estiveram dispostos a ajudar da melhor forma possível.

A empresa Soriano da Argentina pelo fornecimento da biomassa de *Undaria pinnatifida*.

A toda equipe de professores do curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

RESUMO

Em 2012, a produção mundial de algas e outras plantas aquáticas alcançou 23.776.449 toneladas. Dentre as macroalgas de grande interesse comercial está a *Undaria pinnatifida*, rica em fucoïdãna, substância alvo de inúmeras pesquisas. A fucoïdãna é um polissacarídeo complexo sulfatado encontrado principalmente em algas pardas. Este polissacarídeo possui propriedades bioativas que estão sendo identificadas nos últimos anos tais como, antibactericida, anti-aglutinante, antiviral, anti-tumoral, entre outras. Dentro da aquicultura, a utilização destes bioativos está sendo considerada como uma forma de prevenção para as enfermidades que acometem as unidades de cultivo de peixes e camarões submetidos ao estresse diário de manejo e confinamento fora do ambiente natural. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a influência da adição da fucoïdãna na dieta do camarão-branco-do-pacífico na microbiota do trato intestinal e sobrevivência do camarão perante o estresse térmico. Para tanto, camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* foram cultivados em água clara a uma temperatura de 28 °C e alimentados com quatro diferentes concentrações de fucoïdãna: 0,1% , 0,5% , 1,0% , e 1,5% . Como controle, foram utilizados camarões alimentados sem adição de fucoïdãna. Todos os tratamentos e o controle foram realizados em triplicata e o cultivo durou 15 dias. Em relação as bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp., não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. Com relação a sobrevivência ao choque térmico, foi possível observar maiores taxas de sobrevivência em camarões alimentados com 0,1% e 0,5% de fucoïdãna. A menor taxa de sobrevivência foi observada no tratamento com 1% de fucoïdãna. Com base nos resultados, foi possível concluir que apesar de não alterar a microbiota intestinal dos camarões, a inclusão de fucoïdãna em baixas concentrações (0,1% e 0,5%) na ração foi importante para a sobrevivência após estresse térmico.

Palavras-chaves: Macroalgas, *Litopenaeus vannamei*, fucoïdãna, estresse térmico, microbiologia.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Contagem de bactérias totais do trato digestivo de camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoídano de *U. pinnatifida* (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle). Valores apresentados em média + desvio padrão ($p > 0,05$).....15
- Figura 2. Contagem de *Vibrio* spp. do trato digestivo de camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoídano de *U. pinnatifida*. (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle). Valores apresentados em média + desvio padrão ($p > 0,05$).....16
- Figura 3. Taxa de sobrevivência dos camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoídano de *U. pinnatifida* (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle) após o choque térmico.....17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação e composição centesimal da dieta experimental para pós-larva de <i>Litopenaeus vannamei</i> , com teor de proteína bruta (PB) de 36,29g (com base na matéria seca).....	12
--	----

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	8
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.1 Material biológico.....	11
2.2 Formulação das dietas.....	11
2.3 Condições experimentais.....	13
2.4 Análise da microbiota do trato intestinal.....	13
2.5 Choque Térmico.....	13
2.6 Análises estatísticas.....	14
3 RESULTADOS E DICUSSÃO	15
4 CONCLUSÃO	17
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial aquícola já ultrapassa 73.675.661 toneladas anuais, sendo o continente Asiático responsável pela maior parte da produção (65.601.892 toneladas) e consumo destes organismos aquáticos. Segundo a FAO (2016), a produção mundial de algas e outras plantas aquáticas alcançou 27.307.000 toneladas em 2014. O estudo dos ciclos de vida de espécies de macroalgas permitiu que atualmente as indústrias de cultivo atendam a 90% da demanda de mercado (MCHUGH 2002).

Dentre as macroalgas de grande interesse comercial está a *Undaria pinnatifida*, que de acordo com a FAO (2016), é a quarta espécie de macroalga mais cultivada em fazendas marinhas. Classificada como alga parda, a espécie além de ser muito utilizada na culinária japonesa (conhecida popularmente como “wakame”), é rica em fucoidana, substância alvo de inúmeras pesquisas.

A fucoidana pode ser definida como um polissacarídeo complexo sulfatado encontrado principalmente em algas pardas. Este polissacarídeo possui propriedades bioativas que estão sendo identificadas nos últimos anos tais como antibactericida, anti-aglutinante, antiviral, anti-tumoral entre outras (CUMASHI et al, 2007; TANAKA et al.2011; LI et al. 2008). Dentro da aquicultura, a utilização destes bioativos está sendo considerada como uma forma de prevenção para as enfermidades que acometem as unidades de cultivo de peixes e camarões submetidos ao estresse diário de manejo e confinamento fora do ambiente natural (KITIKIEW et al. 2013).

Desde a última década, uma das formas empregadas para tratar infecções bacterianas em culturas de crustáceos marinhos é o uso de insumos químicos, como antibióticos e pesticidas. Este método é eficaz porém, seu uso indiscriminado resultou em seleção de bactérias resistentes, além de problemas na saúde humana devido à ingestão dos animais com acúmulo de resíduos quimioterápicos (WONG 2013).

Como alternativa aos insumos químicos, o efeito de diferentes tipos de imunostimulantes estão sendo estudados com o intuito de diminuir os danos causados pelas enfermidades, destacando-se imunostimulantes derivados de fungos, bactérias e extratos de plantas, que apresentaram eficácia no aumento da resistência de peixes e crustáceos contra agentes patogênicos (WONG;GAO;CHANG;CHENG 2013). Em macroalgas particularmente, foi observado que extratos de polissacarídeos como carragenana, alginatos, fucoidana e laminarina

podem ativar mecanismos de defesa do sistema imunológico tanto em peixes como em camarões (DALMO; SELJEDID 1995;. TAKAHASHI et al., 1998; SKJERMO; BERGH, 2004; CHENG et al, 2005;. DEACHAMANG, 2006 et al. ; LIU et al, 2006;. CHENG et al., 2007; YEH; CHEN, 2008;. KITIKIEW et al., 2013 apud WONG 2013).

Desde o início da carcinicultura brasileira na década de 70, o cultivo de espécies exóticas sempre esteve presente (Rocha 1998). Uma das espécies exóticas mais cultivadas no Brasil é a *Litopenaeus vannamei*, originária da Costa do Pacífico e encontrada desde a região leste do Oceano Pacífico, até o norte do Peru, em uma faixa de temperatura da água que varia de 20 °C a 30 °C.

Dentre as enfermidades que afetam o cultivo de camarão-branco-do-pacífico, nome popular do *L. vannamei*, as mais frequentes são as causadas por bactérias e vírus. Uma das bactérias frequentemente presentes no cultivo é a *Vibrio alginolyticus*, um patógeno oportunista que pode causar mortalidade sob a mudança de temperatura, salinidade ou estresse amoniacal. Portanto, o reforço da imunidade do camarão é de preocupação primordial, principalmente quando se considera o ambiente de cultivo, onde as densidades destes animais normalmente são elevadas (YEH; LEE; CHEN 2005).

A fucoídano, substância alvo do presente trabalho, já apresentou potencial de imunomodulação, atividades antitumorais e antivirais testadas em ratos (SONG et al. 2015). Porém, o efeito da fucoídano de *Undaria pinnatifida* no sistema imune do camarão-branco-do-pacífico após o estresse térmico ainda é desconhecido, assim como suas alterações no trato intestinal.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

. Avaliar a influência da adição da fucoídano na dieta do camarão-branco-do-pacífico perante o estresse térmico e na microbiota do trato intestinal.

Objetivos Específicos:

. Quantificar as bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. totais no intestino dos camarões *Litopenaeus.vannamei* alimentados com dieta de fucoídano e compará-las com um grupo controle (dieta sem adição de fucoídano).

. Analisar a sobrevivência dos camarões alimentados com e sem fucoïdانا após choque térmico induzido.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina durante o segundo semestre de 2016.

2.1 Material Biológico:

Os camarões utilizados foram cedidos dos cultivos de *Litopenaeus vannamei* do LCM com peso aproximado de 6 g livres de patógenos específicos de notificação obrigatória.

2.2 Formulação das Dietas:

A preparação das dietas foi realizada no LABNUTRI. A formulação foi desenvolvida por HENRIQUES (2016) realizada com o auxílio do software Optimal Formula 2000 (Tabela 1).

A partir desta ração base, as dietas foram novamente moídas e repeletizadas em quatro tipos de rações com a inclusão de fucoïdانا em concentrações de 0,1%, 0,5%, 1%, 1,5%, além da dieta controle (sem adição de fucoïdانا). A fucoïdانا foi adicionada no lugar do material inerte (caulim), não afetando o balanço nutricional da dieta. A fucoïdانا foi extraída da macroalga *Undaria pinnatifida* doada pela empresa argentina Soriano S.A.

Tabela 1. Formulação e composição centesimal da dieta experimental de *Litopenaeus vannamei*, com teor de proteína bruta (PB) de 36,29g (com base na matéria seca).

Proteína bruta, g 100g⁻¹	36,29
Ingredientes	
Farinha de resíduo de salmão ¹	31,34
Farelo de soja ²	18,00
Farinha de trigo ³	12,00
Quirera de arroz ⁴	20,41
Óleo de fígado de bacalhau ⁵	3,20
Premix vitamínico ⁶	0,38
Vitamina C ⁷	0,07
Premixmacromineral ⁸	6,62
FPremixmicromineral ⁹	1,62
Lecitina ¹⁰	2,05
Carboximetilcelulose ¹¹	2,00
Caulim ¹²	2,31
Composição Centesimal	
Proteína Bruta	36,29
Matéria Seca	88,96
Extrato Etéreo	9,98
Fibra bruta	1,45
Matéria Mineral	14,66
Energia Bruta (Kcal/Kg)	4100,00

¹Tectron Nutrição animal (Paraná, Brasil).²Nicoluzzi Rações Ltda (Santa Catarina, Brasil).³Dona Benta (Santa Catarina, Brasil).⁴quirera de arroz(Rio Grande do Sul, Brasil).⁵Hollandand & barrett.⁶In vivo Nutrição e saúde animal, níveis de garantiapor Kg do produto: vit. A 900 mg;vit.D 25 mg; vit.E 46900 mg; vit.K 14000 mg; vit.B12 50 mg; biotina 750 mg; ácido fólico 3000 mg; niacina 70000mg; ácido pantotênico 40000 mg; vit. B6 33000; riboflavina 20000 mg; tiamina 30000 mg. ⁷Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda (São Paulo, Brasil).⁸In vivo Nutrição e saúde animal. Níveis de garantia por Kg do produto:cobre 23330 mg;manganês 6500 mg; selênio 125 mg; zinco 100000mg, iodo 1000 mg; cobalto 50 mg, magnésio 20 mg; potássio 6,1 mg.¹⁰Quimidrol Produtos químicos Ltda. ¹¹Diprolab Comércio de materiais para laboratório (Santa Catarina, Brasil)¹² Mineração Riaj Ltda (São Paulo, Brasil).

2.3 Condições Experimentais:

Cada tratamento consistiu na alimentação dos camarões com a adição de fucoidana em diferentes concentrações na ração: 0,1%, 0,5%, 1,0%, e 1,5%. Como controle, foram utilizados camarões alimentados sem adição de fucoidana. Todos os tratamentos e o controle foram realizados em triplicata.

Os cultivos foram realizados em tanques de 60 litros com 15 camarões em cada aquário, totalizando 15 tanques. A temperatura da água foi mantida a aproximadamente 28 °C. Os tanques foram dispostos em delineamento ao acaso, e a alimentação foi realizada 4 vezes ao dia durante duas semanas, a princípio com a quantidade equivalente a 5% da biomassa inicial dos camarões após a primeira semana, com quantidade ajustada de acordo com a biometria realizada.

Os parâmetros de temperatura e oxigênio foram medidos duas vezes ao dia. Salinidade, amônia e nitrito e pH foram avaliados semanalmente. A renovação da água foi feita uma vez ao dia em 50% da água, para a retirada de fezes, resíduos de muda e ração.

2.4 Análise da microbiota do trato intestinal:

Ao final de duas semanas de experimento, foram amostrados os tratos digestivos de 3 camarões por aquário (1 *pool* de 3 camarões). A análise da microbiota do trato intestinal foi realizada de acordo com Ramírez (2011). Os tratos intestinais foram pesados e homogeneizados em um almofariz. Posteriormente, foram diluídos serialmente (na proporção de 1/10) em solução salina estéril 3% (SSE) e semeados em dois meios de cultura distintos, Agar Marine para contagem das bactérias heterotróficas totais, e Agar tiosulfato citrato bile sacarose (TCBS) para contagem do *Vibrio* spp. Os intestinos foram semeados nas placas de Petri e incubados em estufa, mantidos a uma temperatura de 30 °C. Após 24 horas de incubação, foram realizadas contagens totais de unidades formadoras de colônias por grama de intestino (UFC g⁻¹).

2.5 Choque Térmico

Para a realização do choque térmico, foram montados três aquários providos de aeração e aquecedores conectados a termostatos (os aquecedores ligavam se a temperatura da água estivesse abaixo dos 12 °C). Trinta litros de água marinha foram colocados em cada aquário e resfriados com blocos de gelo a 12 °C. Foram utilizados

dois aquários de cada tratamento, onde os camarões não utilizados na análise do trato intestinal foram transferidos e mantidos na água resfriada por 1 hora. Após esse período, os camarões voltaram a condição de cultivo anterior. Os animais mortos foram retirados dos aquários e após 24 horas, foi feita a contagem total dos sobreviventes.

2.6 Análises estatísticas:

Para as análises da contagem da microbiota dos tratos intestinais, foi realizada análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), com auxílio do software *Statistica*, versão 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação às bactérias heterotróficas totais, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle ($F = 1,30$; $P = 0,33$; $F \text{ crítico} = 3,63$).

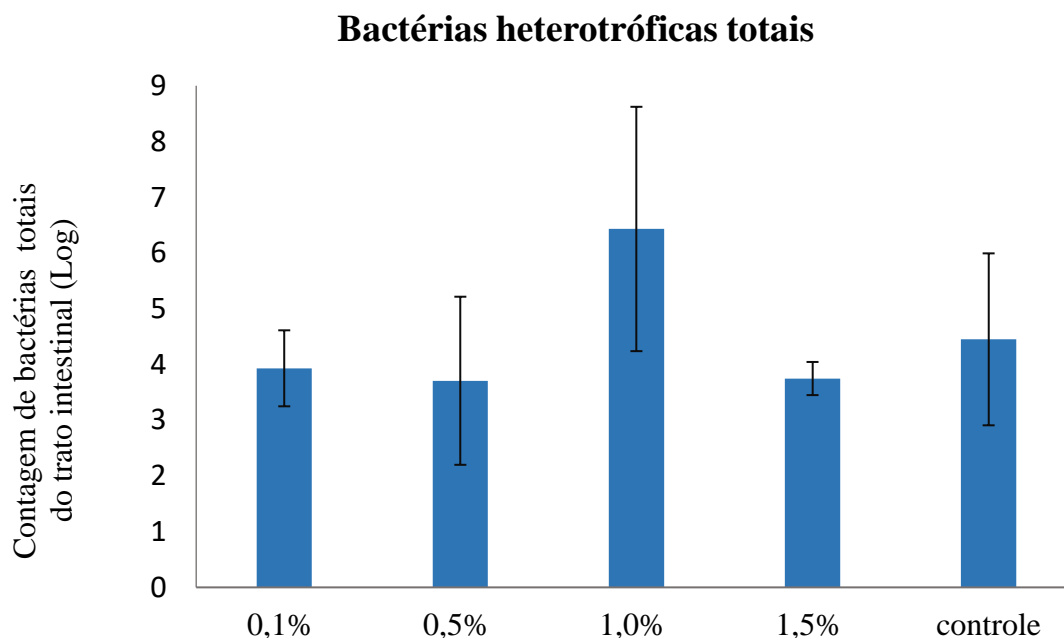


Figura 1. Contagem de bactérias totais do trato digestivo de camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoidana de *U. pinnatifida* (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle). Valores apresentados em média \pm desvio padrão (considerando $p < 0,05$).

O mesmo foi observado na contagem de *Vibrio* spp. totais ($F= 1,70$; $P=0,23$; F crítico= $3,63$), onde não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e controle (figura 2). O grande desvio padrão da concentração de 1% de fucoidana pode ser explicado pela perda de uma repetição das amostras durante o andamento dos experimentos.

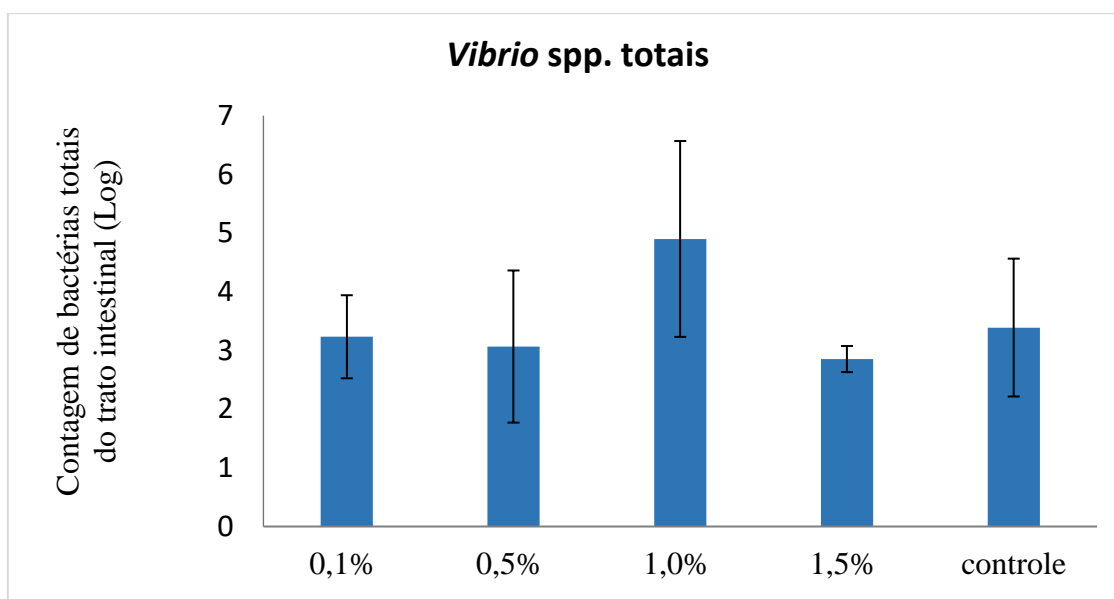


Figura 2. Contagem de *Vibrio* spp. (TCBS) do trato digestivo de camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoidana de *U. pinnatifida* (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle). Valores apresentados em média \pm intervalo de confiança ($p<0,05$).

A fucoidana já demonstrou atividade inibitória no crescimento de bactérias como *V. harveyi*, *S. aureus* e *E. Coli* (CHOTIGEAT et al 2004) e *Vibrio alginolyticus* (KITIKIEW et al. (2013). Porém a fucoidana extraída da *U.pinnatifida* não apresentou atividade antimicrobiana notável neste caso.

O estudo das análises dos parâmetros imunológicos neste caso seria indicado para uma melhor interpretação destes resultados.

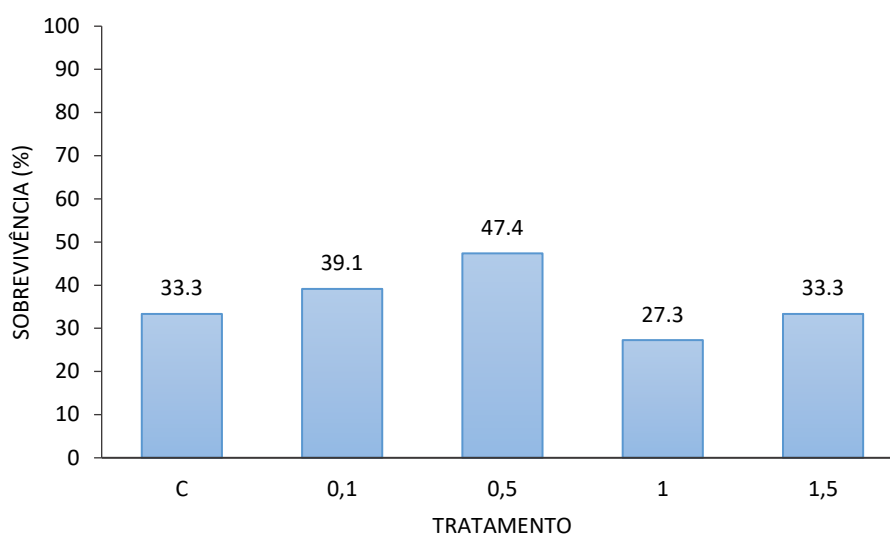


Figura 3. Taxa de sobrevivência dos camarões *L. vannamei* alimentados com dietas com diferentes teores de fucoidana de *U. pinnatifida* (0,1%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e dieta controle) após o choque térmico.

Para a interpretação dos dados de sobrevivência ao choque térmico, devido a número de repetições ($n=2$) não foi possível aplicar análises estatísticas. O resultado obtido foi através da média da sobrevivência de cada tratamento e grupo controle.

Com relação a sobrevivência ao choque térmico, foi possível observar que o extrato de fucoidana teve influência positiva quando comparado ao controle (Figura 3) para os tratamentos 0,1% e 0,5%. Quando a porcentagem de fucoidana incluída na ração foi superior a 0,5%, a sobrevivência diminuiu. A menor taxa de sobrevivência foi observada no tratamento com 1% de fucoidana.

Esses resultados diferem do trabalho de Rosa (2015) que utilizou a mesma macroalga *Undaria pinnatifida*, cedida pela empresa Soriano S.A., incluída na ração na forma seca. Segundo a referida autora, foi observada baixa sobrevivência do camarão após o choque térmico em todas as concentrações testadas: 0,5%, 2%, 4% (com mortalidade total em 4%).

A mortalidade observada com a inclusão da macroalga inteira possivelmente pode ser relacionada com outra substância presente na alga que poderia interferir negativamente na tolerância térmica. No presente trabalho, o fato de ter sido utilizada apenas a fucoidana extraída da macroalga pode ter colaborado para que a tolerância do camarão aumentasse após choque térmico.

Para fazer o uso do potencial bioativo da fucoidana com relação à resistência dos camarões a enfermidades que podem ser engatilhadas por estresses térmicos, é

recomendada a utilização da fucoïdãna isolada em pequenas concentrações (0,1%, 0,5%), incluída na dieta do camarão, ao invés da alga inteira, com base nos resultados do presente trabalho, embora essas concentrações não afetem a microbiota intestinal do animal.

Novos experimentos utilizando as concentrações de fucoïdãna no intervalo de 0,1% a 0,5% ajudariam a definir qual a melhor concentração de fucoïdãna para incrementar a resistência ao estresse.

4. CONCLUSÃO

A contagem de bactérias heterotróficas totais e *vibrio* spp. totais não foi interferida pela adição do extrato de fucoïdãna na ração do camarão branco do pacífico. Na sobrevivência após o choque térmico induzido camarões com concentrações de 0,1% e 0,5% de fucoïdãna em sua dieta apresentaram maior sobrevivência quando comparados ao grupo controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHANG, C.; GAO, L.; CHENG, W. **Effect of Dietary Administration of Hot-water Extracts of *Sargassum cristaefolium* on the Immunity of White Shrimp *Litopenaeus vannamei* and Its Resistance Against *Vibrio alginolyticus***. J. Fish. Soc. Taiwan, v. 40, n. 1, p. 27 – 41, 2013.

CHOTIGEAT, W; TONGSUPAB, S; KIDCHAKAN S; PHONGDARAA, A. **Effect of Fucoidan on Disease Resistance of Black Tiger Shrimp**. Aquaculture 233, p 23 – 30, 2004

CROCI,D; CUMASHI A, USHAKOVA,N, PREOBRAZHENS KAYA M; PICCOLI A;TOTANI L; USTYUZHANINA N;BILAN, M;USOV,A, GRACHEV,A;MOROZEVICH, G; BERMAN, A; SANDERSON C; KELLY,M; GREGORIO ,D; ROSSI, C; TINARI, N; LACOBELLI,S; RABINOVICH,G; NIFANTIEV,N;**Fucans, but not fucomannoglucuronans, determine the biological activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria saccharina* brown seaweed**. Consorzio Interuniversitario Nazionale per la Bio-Oncologia (CINBO), Italy.PLoS One. 2011

FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Fisheries and Aquaculture Department. SOFIA, Roma 2016.** Disponível em:<http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>Acesso em: nov. 2016

GHAEDNI,B.; MEHRABI,M; MIRBAKHSH, M; YEGANEH,V; HOSEINKHEZRI,P; GARIBI,G; GHAFAR, J. **Effect of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum glaucescens* via immersion route on immune responses of *Fenneropenaeus indicus*** Iranian Journal of Fisheries Sciences. Iran, v. 4 p.616-630, 2011

KANDASAMY, SKHAN; KHAN, W; EVANS, F; CRITCHELEY A; ZHANG, J; FITTON ,J; STRINGER,D; GARDINERE, V; PRITHIVIRAJ,B. **A fucose containing polymer-rich fraction from the brown alga *Ascophyllum nodosum* mediates lifespan increase and thermal-tolerance in *Caenorhabditis elegans*, by differential effects on gene and protein expression**,Food Funct.,p. 275–284, 2014

KITIKIEW , S;CHEN, J; PUTRA D; LIN YC; YEH S; LIOU;C.**Fuoidan effectively provokes the innate immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against experimental *Vibrio alginolyticus* infection.**Fish Shellfish Immuno, v. 34 p 280-290, 2013

NRC (National Research Council), **Committee on Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**, Washington: National Academic Press, p. 376, 2011.

RAMÍREZ, N. **Avaliação do uso de probiótico, prebiótico e simbiótico na microbiota intestinal do camarão, *Litopenaeus Vannamei*.** Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011

ROCHA, I. P. 1998. **Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento da carcinicultura marinha brasileira. Congresso Sul-Americano De Aquicultura.** 1 Simpósio Brasileiro De Aquicultura, 10 Simpósio Brasileiro De Camarões, 5, 1998, Recife. Anais...Recife. p. 213-236.

ROSA, JULIANA **Suplementação dietética com algas pardas para o camarão branco do pacífico: Resistência ao choque térmico, microbiologia do trato digestivo e parâmetros imunológicos.** Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

ROUSEFF, D;BARBALHO,H; CAMPOS, L; GAMA, C; MATIAS, J; ZAVASK, C; MARINHO, J . **Plano de desenvolvimento da Aquicultura- 2015/2020**, Sea food Brasil.

SONG, K.-M.; HA S.J., LEE J.-E.; KIM S.-H.; KIM Y.H., KIM, Y.; HONG, S.P., JUNG S.K., LEE N.H. **High yield ultrasonication extraction method for *Undaria pinnatifida* sporophyll and its anti-inflammatory properties associated with AP-1 pathway suppression.** Food Science and Technology, v. 64. 1315-1322. 2015.

VICTORIANO, R; ARAYA, M; FAÚNDEZ V. **Efecto de la Temperatura en la Supervivencia Embrionaria y Primeros Estadios Larvales de Psetta máxima.** International Journal of Morphology. vol.30 no.4 Temuco, Chile. 2012

WONG, S; GAO,L ;CHANG,C ;CHENG,W. **The Effect of Hot-Water Extract of Sargassum cristaefolium on Growth, Innate Responses and Resistance of Grouper, Epinephelus coiodes** J. Fish. Soc. Taiwan, 2013, p. 11-26

YEH, S.; LEE, C.; CHEN, J. **Administration of hot-water extract of brown seaweed Sargassum duplicatum via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp Litopenaeus vannamei.** Fish and Shellfish Immunology, v. 20, p. 332 – 345, 2006.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 4th. ed. New Delhi, India: Pearson Education, 2009.