



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

Thais Brito Freire

**Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)**

Florianópolis

2021

Thais Brito Freire

**Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)**

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

Orientador: Prof. Claudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.

Florianópolis

2021

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

Freire, Thais Brito

Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico  
*Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) / Thais Brito Freire ;  
orientador, Claudio Manoel Rodrigues de Melo, 2021.  
45 p.

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

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Dieta. 3. Molusco bivalve. 4. Índice  
de condição. 5. Flocos microbianos. I. Melo, Claudio Manoel  
Rodrigues de. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Thais Brito Freire

**Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)**

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

Prof. Claudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª. Débora Machado Fracalossi, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Ícaro Gomes Antonio, Dr.  
Universidade Estadual do Maranhão

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

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura

---

Prof. Claudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Orientador

Florianópolis, 2021.

Este trabalho é dedicado à minha irmã Tharssila Freire e aos meus amados pais, Ana Sonia Brito e Marconi Freire.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, aos Orixás e aos Guias de Luz por me guiarem e confortarem sempre que preciso.

À Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, o qual possibilitou-me a realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao professor Dr. Claudio Manoel Rodrigues de Melo, pela orientação, paciência, puxões de orelha, por ter me proporcionado uma oportunidade única que jamais esquecerei.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura pelo conhecimento transmitido e compartilhado ao longo desse mestrado.

Ao Carlito, que sempre nos recebe com um sorriso, nos auxilia com os problemas e sempre tem uma boa história para contar.

Aos membros da banca professor Ícaro Gomes Antonio, professora Débora Machado Fracalossi, professora Izabel Cristina da Silva Almeida Funo e professor Felipe do Nascimento Vieira por aceitarem o convite, pelas sugestões e colaborações para este trabalho.

Ao Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), em especial ao Professor Dr. Felipe Vieira pela parceria durante desenvolvimento deste estudo com o fornecimento do bioflocos.

Ao Núcleo de Estudos em Patologias Aquícola (Nepaq), ao professor Maurício Laterça por ser solícito e permitir que as análises histológicas fossem realizadas no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), às técnicas Silvia Fontes e Marília Tedesco por não medirem esforços em me ajudar durante todo tempo que estive lá, além da mestrandia Paula Brando, por me auxiliar nas primeiras etapas da histologia.

Ao Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI), em especial à professora Débora Fracalossi, por permitir que as análises fossem realizadas no LABNUTRI. À técnica Maria Fernanda, por realizar as análises de Composição Centesimal, juntamente com as bolsistas de iniciação científica (Ana Júlia e Júlia Botelho).

À toda equipe do Laboratório de Moluscos Marinho (LMM), pela colaboração no desenvolvimento da dissertação. Aos técnicos: Seu Chico (sempre paciente e pronto para ajudar a todos), Juan Jethro, Carlos Manoel, Jaqueline e Alexandra. Ao grande Duda (Eduardo Nunes) por todo suporte emergencial, ou não, que me deu. As doutorandas Graziela Vieira, Bianca (UFSC) e Léa Carolina Costa (FURG), aos mestrandos Vanessa Nascimento e Hugo Moreira (UFSC), aos estagiários Paulo Takano, Everton Oliveira, Adriano Faria, Luísa Clemente,

Rafaela Medrado (Engenharia de Aquicultura – UFSC), Gustavo Alberto (Zootecnia – UNESP) e Augusto, vulgo Jesus (Agronomia – UFRG). Alguns me ajudaram com sugestões, outros com o amparo, conselhos, me fazendo companhia/trabalhando ao longo dos experimentos, com conversas sérias e importantes em momentos decisivos, com boas histórias e risadas nos cafês... Enfim, cada um de vocês fizeram parte da minha caminhada até aqui e me ajudaram da sua maneira. Meus agradecimentos não caberiam em algumas páginas, mas saibam que serei eternamente grata por tudo. MUITO OBRIGADA MESMO! Cada um tem seu lar em meu coração.

Ao professor Tatu (Carlos Henrique) por sempre acreditar em mim, por me incentivar, por todo aprendizado compartilhado, pela paciência em me auxiliar na leitura das lâminas histológicas e em tantos outros processos ao longo desses anos, pelas broncas, risadas, amizade e por todas as inúmeras colaborações nessa dissertação.

Ao técnico João Paulo, por toda paciência, companheirismo, correções e sugestões na escrita deste trabalho e também pela sua fraterna amizade.

Aos amigos que a pós-graduação me trouxe, Jeisa Castro, Jamilly Rocha, Ewerton Calixto, Caroline Rodrigues, Luciany Sampaio, Tatiane Baran, Werverson Ailton, Kelvyn Santos, Ana Carolina, pelos inúmeros momentos incríveis compartilhados, também pelas horas de descontração e ombro amigo.

Aos amigos Carlos Augusto, Camila Moraes, Lucas Eduardo, Sanderson Santos e Jefferson Lopes, por jamais me abandonarem, e mesmo com minha distância me incentivarem a ir à luta.

Às minhas amigas Juliana Rodrigues, Yasmin Galvão, Ana Beatriz Galvão e Thamyris Veiga, Jailza Freitas por compreenderem que minha ausência física e virtual não diminuiu em nada meu carinho, admiração e amor por elas.

À minha irmã Tharssila Freire e meus pais Ana Sonia e Marconi Freire, por todo amor, carinho e incentivo que me dão. Amo vocês!

Por último, não menos importante, ao Miguel Angel por toda paciência, carinho, amor e atenção que me deu ao longo desses anos.

*Enfim, a todos que contribuíram para a realização desta dissertação, seja de forma direta ou indireta, fica registrado aqui, o meu muito obrigada!*

## RESUMO

A ostra *Crassostrea gigas* é a principal espécie produzida na ostreicultura do estado de Santa Catarina. A alimentação de ostras é quase que exclusivamente restrita a dietas mistas de microalgas, mas a produção de microalgas capazes de atender às necessidades desses animais é dispendiosa e depende de mão de obra qualificada. Essa preferência alimentar das ostras, apesar de dificultar a substituição de alimentos naturais em laboratórios ou indústrias, vem estimulando cada vez mais pesquisas nessa área, com o intuito de diminuir os custos operacionais nesse setor. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar a substituição parcial de microalgas por bioflocos na alimentação *C. gigas*. As dietas testadas foram: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> de bioflocos (40 BFT), b) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas vivas (*Chaetoceros müelleri* e *Isochrysis galbana*) (40 MV), c) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) + 40 mg.L<sup>-1</sup> de bioflocos (40 MV + 40 BFT), d) 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (80 MV) e e) sem alimentação (SA). O experimento teve duração de 45 dias. O pH, temperatura e salinidade da água foram aferidos diariamente. A biometria, cálculo do índice de condição (IC) e do desenvolvimento gonádico dos organismos foram realizados quinzenalmente e a composição centesimal dos animais foi feita ao final do experimento. O pH médio foi de 7,96 ± 0,10; a temperatura média foi 22,25 °C ± 1,10 e a salinidade média 34,75 g.kg<sup>-1</sup> ± 1,33. Os resultados demonstram que as ostras não diferiram quanto seu crescimento em concha e peso total. No entanto, animais alimentados com 40MV apresentaram o maior incremento de IC quando comparado a ostras tratadas com 40BFT ou sem alimentação. Além disso, a maior frequência de animais maduros foi encontrada em animais submetidos a dietas contendo apenas microalgas, indicando que apesar de não comprometer a sobrevivência de *C. gigas*, os bioflocos parece não ser bem digeridos por esses bivalves. Não existem estudos que utilizem BFT em dietas de ostras visando a saúde e sobrevivência desses animais, o que torna esse estudo importante na contribuição de pesquisas que visem substituições dietéticas para bivalves.

**Palavras-chave:** Aquicultura; Dieta; Molusco bivalve; Índice de condição; Flocos microbianos.

## ABSTRACT

*Crassostrea gigas* is the most farmed oyster species in the state of Santa Catarina. Feeding oysters is almost exclusively restricted to mixed microalgae diets and the production of microalgae capable of meeting the requirements for animal production is expensive and depends on skilled labor. The food preference in oysters, despite its difficulty in finding a replacement for laboratories or industries production, has been directing more and more researches to this issue to reduce costs. Likewise, this study aimed to evaluate a partial replacement of microalgae for bioflocs in *C. gigas*' feeding. The tested diets were: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> of bioflocs (40 BFT); b) 40 mg.L<sup>-1</sup> of live microalgae (*Chaetoceros müelleri* and *Isochrysis galbana*) (40 MV); c) 40 mg.L<sup>-1</sup> of microalgae (*C. müelleri* and *I. galbana*) + 40 mg.L<sup>-1</sup> of bioflocs (40 MV + 40 BFT); d) 80 mg.L<sup>-1</sup> of microalgae (*C. müelleri* and *I. galbana*) (80 MV) and e) without food (SA). The experiment duration was 45 days. The pH, temperature and salinity of the water were measured daily. Biometrics of oysters, calculation of their condition index (CI) and measures of their gonad development were performed fortnightly, while the proximate composition of the animals was performed at the end of the experiment. The mean pH was  $7.96 \pm 0.10$ , the temperature was  $22.25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1.10$ , and the salinity of  $34.75 \text{ g.kg}^{-1} \pm 1.33$ . The results demonstrate the oysters did not differ in their shell growth and total weight. However, animals fed with 40MV presented the largest increment of CI when compared to oysters treated with 40BFT or starved. Furthermore, the highest frequency of mature animals was found in animals developing diets containing only microalgae, indicating that despite not compromising the survival rate of *C. gigas*, the biofloc does not seem to be well incorporated by these bivalves. There is not a preceding study testing BFT in oyster diets evaluating their health aspects and survival rate, which makes this study an important contribution to future researches aimed at dietary replacements for shellfish.

**Keywords:** Aquaculture; Diet; Bivalve mollusks; Condition index; Microbial flakes.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Visão geral sistema utilizado para desenvolvimento do experimento. ....20
- Figura 2. Composição centesimal do tecido de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) submetidas às diferentes dietas de bioflocos e microalgas vivas após 45 dias, apresentados em 100% de matéria seca. <sup>(1)</sup> .....25
- Figura 3. Índice de condição de ostras do Pacífico (*C. gigas*) submetidas a diferentes dietas de bioflocos e microalgas vivas, 15 (a), 30 (b) e 45 (c) dias após o início do experimento. <sup>(1)</sup> .....26
- Figura 4. Frequência dos estádios de desenvolvimento do tecido gonádico de *Crassostrea gigas* submetidas a diferentes dietas com bioflocos e microalgas vivas de acordo com as dietas testadas, após 45 dias de cultivo.....27
- Figura 5. Fotomicrografia do tecido conjuntivo de reserva – TCR (círculo) de *Crassostrea gigas*, animal imaturo. Núcleo de uma célula de TCR (seta). Aumento 400x. Coloração em HE. ....28
- Figura 6. Fotomicrografia de estádios de maturação do tecido gonádico de *Crassostrea gigas* verificados em machos – Animal maduro (a); em gametogênese inicial (b); em gametogênese final (c) e em gametogênese mediana (d) e fêmeas – Animal em gametogênese final (e) e em gametogênese inicial (f). Aumento 400x. Coloração em HE. ....29

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Estádios de maturação gonadal verificados em ostras da espécie *Crassostrea gigas* alimentados com concentrações de bioflocos e microalgas vivas. ....23
- Tabela 2. Peso vivo (g) e altura (mm), comprimento (mm) e largura (mm) da concha de ostras do pacífico (*C. gigas*) submetidas as diferentes dietas após 15, 30 e 45 dias de cultivo. ....24

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>12</b>
1.1.	FATORES QUE AFETAM O CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DAS OSTRAS .....	13
1.2	ALIMENTAÇÃO DAS OSTRAS .....	14
1.3	BIOFLOCOS COMO ALIMENTO ALTERNATIVO PARA AS OSTRAS .....	16
1.4	OBJETIVOS .....	17
<b>1.4.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>17</b>
<b>1.4.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO- Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico <i>Crassostrea gigas</i> (Thunberg, 1793).....</b>	<b>18</b>
2.1	INTRODUÇÃO .....	18
2.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	19
<b>2.2.1</b>	<b>Objeto de estudo.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Delineamento experimental.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Dietas utilizadas .....</b>	<b>21</b>
2.2.3.1	<i>Microalgas</i> .....	21
2.2.3.2	<i>Bioflocos</i> .....	21
<b>2.2.4</b>	<b>Parâmetros físico-químicos .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.5</b>	<b> Crescimento e sobrevivência .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.6</b>	<b> Composição centesimal corporal e das dietas .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.7</b>	<b> Índice de Condição.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.8</b>	<b> Análise histológica.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.9</b>	<b> Análise estatística .....</b>	<b>23</b>
2.3	RESULTADOS.....	23
2.4	DISCUSSÃO .....	29
2.5	CONCLUSÃO .....	35
	REFERÊNCIAS .....	35
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Crassostrea* sp. apresentou o maior incremento na produção mundial de moluscos com cerca de 29,5% da produção total. Desta porcentagem, a contribuição da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) foi de 3,7% (FAO, 2020). No Brasil, o estado de Santa Catarina (SC) é responsável por 96,9% da produção nacional de moluscos bivalves (IBGE, 2019). Em 2019, a produção catarinense de moluscos bivalves foi de aproximadamente 15 mil toneladas, sendo as ostras o segundo grupo que mais contribuiu para essa produção e 96,6% desta produção é da ostra do Pacífico *Crassostrea gigas* (EPAGRI, 2021), a qual apresenta um bom desempenho zootécnico, tornando assim, a principal espécie produzida na ostreicultura do estado (EPAGRI, 2021; POLI, 2004).

A produção de sementes de ostras do Pacífico em Santa Catarina começou por iniciativa do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em conjunto com a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) (COSTA *et al.*, 1998; POLI, 2004). Desde a década de 90 até os dias atuais, o LMM é responsável majoritário pela produção de sementes desta espécie em SC para o fornecimento aos ostreicultores.

Parte fundamental nesse processo de produção é a maturação de reprodutores em laboratório, estendendo o período de disponibilidade de reprodutores aptos à desova ao longo do ano. A maturação em laboratório permite a obtenção de gametas de qualidade, permitindo maior viabilidade larval ao longo do ano (GONZÁLEZ *et al.*, 2012; HELM; BOURNE, 2004; UTTING; MILLICAN, 1997). Isso permite ao LMM a produção de sementes em quantidade e qualidade de forma programada durante todo o ciclo de produção.

As características genéticas dos reprodutores, a qualidade e quantidade de alimento ofertada e demais fatores fisiológicos modulam, significativamente, tanto as taxas de crescimento das ostras (ARANA, 2004), índice de condição (IC) individual, bem como o desenvolvimento gonadal, acelerando a gametogênese ou a retardando (GALLAGER; MANN, 1986). O método quantitativo para análise do desenvolvimento reprodutivo de moluscos bivalves mais utilizado é a análise do IC, podendo ser avaliado de forma indireta o estágio reprodutivo dos animais (RABELO *et al.*, 2005). Estudos descrevendo variações no IC na ostra do Pacífico foram realizados para juvenis e adultos (BODOY, PROU; BERTHOME 1986; MASON; NELL 1995; BAGHURST; MITCHELL 2002). O IC é uma medida útil de mudanças temporárias nas reservas nutritivas e dissimilaridade na qualidade comercial de diferentes lotes

de ostras (CROSBY; GALE, 1990). Portanto, uma estimativa do crescimento e da sobrevivência de bivalves pode ser feita usando o IC para medir o estado fisiológico das ostras.

### 1.1. FATORES QUE AFETAM O CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DAS OSTRAS

Alguns fatores estão associados à melhoria do IC de indivíduos com o interesse na viabilização da maturação de reprodutores em laboratório. Por exemplo, a salinidade e a temperatura da água desempenham papel fundamental no desenvolvimento gonádico, sendo indutores diretos de ampla variação sazonal no processo de gametogênese (ALVAREZ, 1991; CHÁVEZ-VILLALBA *et al.*, 2002) e, conseqüentemente, no IC.

Em condições de baixa temperatura demonstrou-se que *C. gigas* passa por um período de estocagem de energia, obtida através da alimentação, direcionando-a para as células de reserva, em forma de glicogênio e, conseqüentemente, incrementando o IC (ALVAREZ 1991; BAYNE 1976; DRIDI; ROMDHANE; ELCAFSI, 2007; FABIOUX *et al.*, 2005; LOOSANOFF 1945; RUIZ *et al.*, 1992; SHPIGEL *et al.*, 1992). Além disso, o monitoramento do IC permite acompanhar a atividade gametogênica em bivalves (OKUMUŞ; STIRLING, 1998), sendo que este índice é frequentemente utilizado em estudos como a ostra *C. gigas* (BAGHURST; MITCHELL, 2002).

A atividade gamética está diretamente associada à quantidade de energia armazenada (BENINGER; LUCAS 1984), condicionando a capacidade da ostra em produzir gametas em quantidade. Ou seja, altos valores de IC estão relacionados a uma maior quantidade de tecido gonádico no animal e reserva de glicogênio (PERDUE *et al.*, 1983). A dinâmica energética em bivalves pressupõe o seu armazenamento na forma de proteínas, lipídios e glicogênio e, após um período de abundância de alimento, é utilizada na produção de gametas, a qual possui uma demanda metabólica alta (MATHIEU; LUBET, 1993).

O glicogênio é considerado a reserva mais importante para os bivalves (WHYTE *et al.*, 1990), encontrando-se distribuído em vários tecidos do corpo. Em ostras, para um aumento no IC, é fundamental ter grande quantidade desse carboidrato estocado (LOOSANOFF; DAVIS, 1952). O carboidrato é armazenado a partir do alimento ingerido, sendo direcionado para fornecer energia durante a gametogênese (KENNEDY; NEWELL; EBLE, 1996), participando principalmente na síntese de lipídeos durante a vitelogênese (UTTING; MILLICAN, 1997). Esse processo é fundamental na maturação final de gametas, o que por sua vez garantirá uma boa taxa de fecundação e formação de larvas (BREESE; MALOUF, 1975).

## 1.2 ALIMENTAÇÃO DAS OSTRAS

A alimentação de ostras é realizada pelo processo de filtração, onde a água é encaminhada através dos cílios que constituem as brânquias, os quais retêm partículas suspensas na água (DAME, 2016; GOSLING, 2015). Essas partículas são conduzidas pelas brânquias em direção à boca, local onde as partículas podem ser rejeitadas ou selecionadas. As rejeitadas pelos palpos labiais são chamadas pseudofezes, as selecionadas são ingeridas, passam por todo sistema digestivo e ao final são liberadas como fezes (WILDISH; KRISTMANSON, 1997).

Em ambiente natural, o material particulado retido nas brânquias de moluscos bivalves é oriundo das zonas de produção, sendo composto por bactérias, fitoplâncton, pequenas larvas de invertebrados, detritos em suspensão na água e protozoários, que incrementam a dieta variada desses organismos (PERRIN-GUYOMARD, 2016; SHUMWAY; PARSONS, 2016).

Em laboratórios, a alimentação de ostras é quase que exclusivamente restrita a dietas mistas de microalgas, constituída por espécies que compõem as classes de Bacillariophyceae (diatomáceas) e Haptophyceae, sendo as microalgas *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros mülleri* as espécies mais utilizadas (COUTTEAU; SORGELOOS 1992; PERNET *et al.*, 2003).

A qualidade nutricional das microalgas é principalmente devido ao seu teor de ácidos graxos poli-insaturados (PERNET *et al.*, 2003); dentre estes compostos, os de maior interesse são os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), incluindo os ômega-3: linolênico (ALA – 18:3), eicosapentaenoico (EPA – C20:5) e docosahexaenoico (DHA – C22:6) e os ômega-6: linoleico: (LOA – C18:2) e araquidônico (AA – C20:4), podendo variar conforme as espécies (RIVERO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2007; VARGAS *et al.*, 1998).

Por ser amplamente aceito que os PUFAs da série n-3 derivam principalmente da dieta de microalgas (LANGDON; WALDOCK, 1981) e que os bivalves possuem uma capacidade limitada para sintetizá-los (EHTESHAMI *et al.*, 2011; FERNÁNDEZ-REIRIZ *et al.*, 2015), o valor nutricional da dieta em geral pode ser determinado pela quantidade de PUFAs das séries n-3 e n-6 e LC-PUFAs n-3 e n-6.

Além disso, as microalgas marinhas apresentam os seus lipídios encapsulados pela parede celular, que é um componente estrutural e também exerce funções como produtos de reserva (LOURENÇO, 2006; PATIL *et al.*, 2007). O acúmulo de carboidrato usualmente ocorre sob condições de estresse ambiental ou déficit de nutrientes, o que é geralmente associado com baixa produtividade em biomassa desses microrganismos (DRAGONE *et al.*, 2011).

Para os bivalves, as microalgas suprem a maioria de suas necessidades nutricionais em termos de energia (HEMAISWARYA *et al.*, 2011) e o valor nutricional dessas microalgas é amplamente conhecido, sendo utilizadas tanto para alimentação de juvenis como de reprodutores (ANJOS *et al.*, 2016; BROWN; GONZÁLEZ-ARAYA *et al.*, 2011; PRONKER *et al.*, 2008; SPOLAORE *et al.*, 2006; UTTING; MILLICAN, 1997). No entanto, a ausência de dietas formuladas no cultivo de bivalves dificulta a melhoria ou a substituição de alimentos naturais, como foi feito em outros organismos aquáticos (HEMAISWARYA, *et al.*, 2011).

Além disso, sabe-se que o processo de produção de microalgas em concentrações capazes de atender à demanda nutricional de reprodutores é dispendioso. Estima-se que ostras dependentes de uma produção de microalgas vivas para alimentação geram despesas que representam cerca de 30% a 40% dos custos operacionais em um laboratório de produção de ostras, além da necessidade de profissionais qualificados (COUTTEAU; SORGELOOS, 1992; CARBONI *et al.*, 2016; MAZÓN - SUÁSTEGUI *et al.*, 2009). Essa limitação econômica vem estimulando pesquisas com foco na substituição dietética de microalgas vivas em laboratórios de moluscos bivalves por alimentos alternativos (ARNEY *et al.*, 2015; BOEING, 1997; EHTESHAMI *et al.*, 2016; MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2008; MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2019).

Estudos nutricionais para espécies bivalves testaram diferentes proporções de macroalgas conjuntamente com dietas mistas de microalgas para melhorar o estado reprodutivo dos animais (ARNEY *et al.*, 2015; BOEING, 1997; OMONT *et al.*, 2021; RATO *et al.*, 2018). Rato *et al.* (2018) demonstraram, por exemplo, que é possível substituir parcialmente microalgas por concentrados da macroalga *Ulva rigida* (C. Agardh 1823), no condicionamento de *C. gigas*. Omont *et al.* (2021) sugerem que a farinha de *U. lactuca* com partículas menores que 20 µm pode substituir até 50% a microalga *C. calcitrans*, sem modificar a produtividade em IC e crescimento de *C. gigas*.

Por outro lado, Ehteshami *et al.* (2016) reduziram com sucesso o uso de microalgas adicionando emulsões lipídicas na alimentação de larvas da ostra *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758). Além disso, também existem avanços da tecnologia na área de microencapsulamento. Willer e Aldridge (2017) demonstraram que uma dieta microencapsulada (BioBullets) pode ser capturada por mexilhões *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) com eficiência semelhante aos alimentos naturais. López-Carvalho *et al.* (2017) relataram que dietas naturais suplementadas com farinhas de cereais (farinha de trigo e amido de milho), fontes ricas em carboidratos, são alternativas confiáveis para o desenvolvimento da

gametogênese do mexilhão *Modiolus capax* (Conrad, 1837) em altas temperaturas, como para o aumento das reservas de carboidratos nos tecidos somáticos a baixas temperaturas.

Mazón-Suástegui *et al.* (2008) comprovaram ser possível substituir as microalgas em 50% por farinha de trigo e amido de milho na alimentação de *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), sem afetar o equilíbrio nutricional da dieta ou a composição bioquímica de sementes. Quanto ao crescimento e condição fisiológica dos indivíduos, as dietas mistas demonstraram ter aplicação e potencial para reduzir custos operacionais em laboratórios, sem afetar o desempenho de juvenis, além de melhorar a sobrevivência em cultivo a longo prazo, sem comprometer a produção final de ostras (MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2009, 2019).

### 1.3 BIOFLOCOS COMO ALIMENTO ALTERNATIVO PARA AS OSTRAS

Com o surgimento de estudos sobre alimentos não convencionais (farinha de trigo, amido de milho, microencapsulados, macroalgas), é importante testar alternativas que possam ser viáveis para a produção de moluscos bivalves em laboratórios comerciais e de pesquisa. Dentro da aquicultura, o sistema "Biofloc Technology" ou BFT se destaca por ser um método inovador no condicionamento e/ou na alimentação de organismos aquáticos, onde os nutrientes podem ser reciclados continuamente, permitindo a reutilização da água ao longo dos ciclos de produção (AVNIMELECH, 2012; AZIM; LITTLE, 2008; KRUMMENAUER *et al.*, 2014).

A natureza sustentável desse sistema está baseada no crescimento de microrganismos que irão desempenhar a manutenção da qualidade da água (AVNIMELECH, 2007, 2009), sendo também criado para maximizar a produção da aquicultura com menos impacto ambiental (CRAB *et al.*, 2012).

Os flocos microbianos que compõem o BFT se constituem em uma biomassa complexa composta por diatomáceas, microalgas, fungos, bactérias, protozoários, rotíferos, nematóides, restos de fezes e ração, exoesqueletos, bactérias e invertebrados, entre outros, resultante da conversão de detritos orgânicos, formando um agregado de matéria orgânica viva e morta que se encontra suspensa na água do cultivo (WASIELESKY *et al.*, 2006).

Além de proteína, o BFT contém quantidades importantes de micronutrientes e outros macronutrientes, assim como aminoácidos e ácidos graxos (HARGREAVES, 2006; MOSS; FOSTER; TACON, 2006), os quais são também encontrados em microalgas utilizadas na alimentação de moluscos bivalves (ANJOS *et al.*, 2016; GONZÁLEZ-ARAYA *et al.*, 2012; PRONKER *et al.*, 2008).

No entanto, a atuação de bivalves dentro de sistemas que utilizem BFT ainda é restrita às tentativas de melhorar a qualidade de água, onde os mesmos são utilizados como filtro biológico para tratamento de efluentes (De OLIVEIRA, 2014; DIAZ *et al.*, 2007; JONES; PRESTON, 1999; JONES *et al.*, 2001, 2002; LEFEBVRE *et al.*, 2000; De LIMA *et al.*, 2020; MODESTO *et al.*, 2010; OLIVERA; BRITO, 2005).

Baseado nesse contexto da busca por substituição dietéticas e também levando em consideração a existência de estudos com ostras em policultivos, os flocos microbianos presentes no BFT podem surgir como uma nova possibilidade de alimentação para ostras. Contudo, ressalta-se que é necessário verificar aspectos que ainda não foram avaliados com o propósito de estimar condições aceitáveis para saúde e nutrição das ostras, podendo gerar assim um melhor aproveitamento dos bivalves pelo BFT.

Esta pesquisa apresenta-se como excelente oportunidade para contribuir a respeito da alimentação não convencional (bioflocos) de reprodutores de *C. gigas*. Também oferece a possibilidade de observar o reflexo deste item alimentar no desenvolvimento das ostras, através da avaliação de respostas histológicas, fatores de crescimento e de composição nutricional. Sendo assim, pesquisas nessa área são importantes para contribuir com o aprimoramento de metodologias nutricionais adequadas para a ostra *C. gigas*, levando em consideração às particularidades da espécie.

## 1.4 OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da substituição da dieta convencional (microalgas vivas) de *Crassostrea gigas* por concentrações de bioflocos, por meio da análise do desempenho zootécnico, índice de condição e histologia.

### 1.4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a sobrevivência, crescimento em concha e peso total de *C. gigas* submetidas a diferentes concentrações de bioflocos e microalgas na dieta.
- Avaliar o índice de condição e o desenvolvimento das células tecido reprodutivo, este último por meio de histologia.

## 2 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo será submetido ao periódico *Aquaculture Nutrition*.

### **Bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)**

Thaís Brito Freire, Carlos Henrique Araujo de Miranda Gomes, Gabriel Filipe Faria Graff, João Paulo Ramos Ferreira, Claudio Manoel Rodrigues de Melo.

Laboratório de Moluscos Marinhos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC 88061-600, Brasil.

\*Autor correspondente: Claudio Manoel Rodrigues de Melo (claudio.melo@ufsc.br)

### 2.1 INTRODUÇÃO

O maior incremento na produção mundial de moluscos foi do gênero *Crassostrea* sp. com cerca de 29,5%, e desta porcentagem, a ostra do Pacífico *Crassostrea gigas* contribuiu com 3,7% (FAO, 2020). No Brasil, o estado de Santa Catarina é responsável por 96,9% da produção nacional de moluscos bivalves (IBGE, 2019), sendo a ostra do Pacífico *C. gigas* a principal espécie produzida na ostreicultura do estado (EPAGRI, 2020).

A alimentação de ostras em laboratórios é quase que exclusivamente restrita a dietas mistas de microalgas, dentre estas, as espécies de *Isochrysis galbana* (Parke, 1949) e *Chaetoceros müelleri* (Lemmermann, 1898) (PERNET *et al.*, 2003). A produção de microalgas em concentrações capazes de atender à demanda nutricional das ostras é dispendiosa, gerando despesas que representam cerca de 30% a 40% dos custos operacionais em um laboratório de produção (COUTTEAU; SORGELOOS, 1992; MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2009; RATO *et al.*, 2018). Essas limitações econômicas vêm estimulando pesquisas com foco na busca por alimentos alternativos para a substituição dietética de microalgas vivas em laboratórios de moluscos bivalves (MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2008; MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2019).

Diversos estudos avaliaram formas de alimentação não convencional para bivalves com o objetivo de substituir ou suplementar a dieta tradicional desses organismos, como, por exemplo a farinha de trigo e amido de milho (MAZÓN-SUÁSTEGUI *et al.*, 2019), dietas microencapsuladas (WILLER e ALDRIDGE, 2017), macroalgas (RATO *et al.*, 2018; OMONT, 2021), emulsões lipídicas (EHTESHAMI *et al.*, 2016), concentrado de cloroplasto de alface desidratado (VIEIRA, *et al.*, 2021).

Outra alternativa para alimentação de ostras, seria a utilização de bioflocos produzidos em sistema denominado "Biofloc Technology" (BFT), que se destaca por ser um sistema

inovador no condicionamento e/ou na alimentação de organismos aquáticos, em que os nutrientes podem ser reciclados continuamente, além de permitir a reutilização da água ao longo dos ciclos de produção (AVNIMELECH, 2012; KRUMMENAUER *et al.*, 2014).

O bioflocos contém quantidades importantes de micronutrientes e macronutrientes, aminoácidos, ácidos graxos (HARGREAVES, 2006; MOSS; FOSTER; TACON, 2006), também encontrados em microalgas utilizadas na alimentação de moluscos bivalves (ANJOS *et al.*, 2016; GONZÁLEZ-ARAYA *et al.*, 2012). Entretanto, o emprego de bivalves em sistemas que utilizem bioflocos é restrita a tentativas de melhorar a qualidade de água, onde esses organismos são usados como filtro biológico (De OLIVEIRA, 2014; De LIMA *et al.*, 2020).

Baseado nesse contexto, é necessário determinar se as ostras podem se beneficiar da biomassa complexa que é o BFT, como fonte de nutrientes, já que não existem estudos que avaliem a sobrevivência, o crescimento e os aspectos reprodutivos de ostras alimentadas com bioflocos. Adicionalmente, é importante testar alternativas nutricionais que possam ser viáveis para a produção de moluscos bivalves em laboratórios comerciais e de pesquisa. O intuito deste estudo avaliar a utilização do bioflocos na alimentação de ostras do Pacífico (*C. gigas*) refletidos na sobrevivência, índice de condição e análises histológicas.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Objeto de estudo

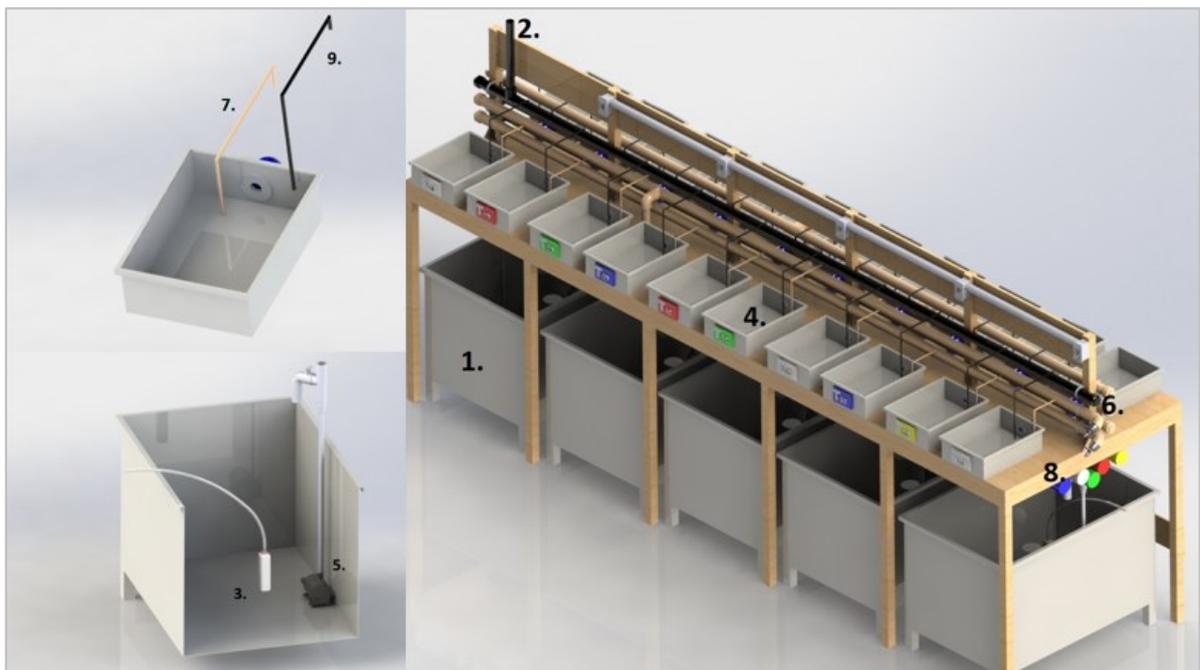
Foram utilizadas 400 ostras da espécie *C. gigas* com tamanho inicial médio de  $83,80 \pm 7,70$  mm, peso inicial médio  $60,57 \pm 8,39$  g e índice de condição médio de  $8,67 \pm 2,71$  oriundas do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM). O bioflocos foi proveniente do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), ambos laboratórios vinculados ao Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

### 2.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições (n=80 ostras por tratamento) (Figura 1). Foi avaliado o efeito da substituição da dieta de microalgas vivas (MV) por bioflocos (BFT), com base na sobrevivência, crescimento, composição centesimal, índice de condição médio e estágio gonadal.

As ostras foram submetidas às seguintes dietas: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 BFT); b) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (40 MV); c) 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT + 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (40 BFT + 40 MV); d) 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (80 MV) e sem alimentação (SA). A proporção das microalgas nas dietas contendo microalgas foi de 1:1. A escolha dessas concentrações foi baseada em uma revisão bibliográfica de estudos que avaliaram efeitos da concentração de *seston* limítrofe na capacidade de absorção de partículas em *Crassostrea* sp. (BAYNE, 2017; BARILLÉ, *et al.*, 1997). Diariamente era realizada a renovação de 100% da água em cada unidade experimental e, posteriormente, era feita a adição do alimento.

Figura 1. Visão geral sistema utilizado para desenvolvimento do experimento.



Água e alimento são adicionados aos tanques de alimentação (1) individualizados por tratamento. A aeração dos tanques de alimentação é feita com ar comprimido distribuído por um cano central de PVC (2) (Ø 25 mm) ao qual mangueiras individuais de silicone (Ø 1,50 mm) são conectadas para distribuição do ar aos tanques. À extremidade das mangueiras de aeração foi conectada a uma pedra porosa (3) (Sweetwater AS15S/14LPM) para melhor dispersão do ar. A água e o alimento são bombeados dos tanques de alimentação (1) para as unidades experimentais (UE) (4) por meio de bombas (Aleas/Jeneca HM-5063 2000L/H) submersas (5). A água e o alimento são distribuídos às unidades experimentais através do cano de PVC (Ø 25 mm) de distribuição principal (6) ao qual são conectadas mangueiras de silicone (Ø 1,50 mm) correspondentes a cada UE (7), após circularem pelas unidades experimentais (4) caem por gravidade em um cano de PVC de (Ø 75 mm) (8) e retornam ao tanque de alimentação (1). A oxigenação das EU é realizada por aeração distribuída por cano de PVC central (Ø 25 mm) (2) ao qual são conectadas mangueiras de silicone (Ø 1,50 mm) para distribuição do ar individualmente nas EU. Uma pedra porosa (9) (Boyu A001) foi conectada a extremidade da mangueira de aeração para melhor distribuição do ar e movimentação da água no interior das EU. As etiquetas de identificação fixadas na estrutura do sistema indicam as dietas avaliadas (T1:40 BFT; T2: 40 MV; T3: 40 MV+40 BFT; T4: 80 MV e T5: SA). Cor cinza nos tanques representam a marca d'água. Fonte: Caique Gomes, 2021.

### 2.2.3 Dietas utilizadas

Todas as dietas foram distribuídas por 22 horas por dia, para que fosse possível a realização do procedimento de limpeza e manter a concentração dos tratamentos.

#### 2.2.3.1 *Microalgas vivas*

As microalgas foram produzidas no Laboratório de Moluscos Marinhos – UFSC. Os estoques de algas foram cultivados em sacos plásticos de 100 litros contendo água do mar esterilizada e filtrada (0,5 µm), enriquecida com meio F/2 para *I. galbana* e F/2 + solução de silicato para *C. müelleri*. As culturas foram cultivadas a  $23 \pm 1$  °C, em salinidade de  $36 \pm 1$ , e fotoperíodo de 24 horas luz (fluorescente artificial). Como procedimento diário de rotina, a densidade celular foi determinada através da contagem realizada por meio da câmara de Neubauer no microscópio óptico. Após isso, as microalgas foram misturadas na proporção de 1:1 (ou seja, foi oferecido 40 mg. L<sup>-1</sup> de *I. galbana* e 40 mg. L<sup>-1</sup> de *C. müelleri*) e diluídas imediatamente nos tanques contendo água do mar filtrada e servindo como reservatórios de alimentação. Esta diluição foi fornecida continuamente através do sistema de recirculação.

#### 2.2.3.2 *Bioflocos*

O bioflocos foi adquirido através de uma parceria feita com o Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC. O tanque de onde foi coletado os flocos microbianos possui 4 m de diâmetro e 0,45 m de profundidade de água, totalizando 5,65 m<sup>3</sup> de volume útil, sendo povoado com 300 camarões juvenis, e a água com a nitrificação já estabelecida (EBELING *et al.*, 2006). Esse tanque permaneceu com renovação mínima de água, a aeração do tanque foi mantida constantemente através de seis “air-lift’s” com o padrão circular de distribuição do LCM/UFSC, além de um dispersor de ar central de mangueira microperfurada (AeroTubes™). Este tanque foi inicialmente abastecido com água oceânica, de salinidade entre 33 e 34 mgL<sup>-1</sup>, e o fotoperíodo foi mantido naturalmente, já a temperatura foi mantida com média de 27,5 °C.

### 2.2.4 Parâmetros físico-químicos

Para determinação da qualidade da água, diariamente foi registrada a temperatura (°C) da água antes e uma hora após a alimentação das ostras, utilizando-se um termômetro de mercúrio. A salinidade (g.kg<sup>-1</sup>) foi aferida uma vez por dia com o auxílio de um refratômetro

(Marca Biobrix, Modelo 211). O pH foi aferido uma vez por dia através de um medidor de pH de mesa (Alfakit, Modelo AT-350).

### **2.2.5 Crescimento e sobrevivência**

Quinzenalmente, foram mensurados peso vivo (g), altura (mm), comprimento (mm) e largura (mm) das valvas de todos os organismos, de acordo com o método proposto por Galtsoff (1964). Durante esse período, também foi verificada a sobrevivência dos animais.

### **2.2.6 Composição centesimal corporal**

Foi realizada uma amostragem em triplicada (100g/amostra) antes do experimento iniciar (tempo zero) e após 45 dias. Todos os animais passaram por jejum de 24 h antes da análise de composição corporal. As análises de caracterização físico-química foram realizadas em duplicata de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1999). As amostras de tecido de ostras alimentadas com diferentes dietas foram submetidas à análise de matéria seca (método 950.01), matéria mineral (método 942.05), proteína por LECO (método Dumas 990.03, fator de conversão 6,25), e extrato etéreo por Soxhlet (método 920.39C).

### **2.2.7 Índice de Condição**

Quinzenalmente foram coletadas aleatoriamente oito ostras por tratamento (n=2 por repetição) destinadas à verificação do índice de condição (IC). O IC foi calculado de acordo com metodologia descrita por Crosby e Gale (1990) e a obtenção do peso seco foi conforme Lawrence e Scott (1982).

### **2.2.8 Análise histológica**

Quinzenalmente, oito ostras/tratamento foram coletadas randomicamente para avaliar o estágio de desenvolvimento gonádico. Para as análises histológicas, foi realizada uma secção da gônada no sentido anteroposterior de aproximadamente 0,7 cm, a qual foi fixada em solução de Davidson (SHAW; BATTLE, 1957) por 48 h.

Foram confeccionadas lâminas histológicas com cortes de 7 µm de espessura, as quais foram coradas com Hematoxilina de Harris e Eosina (HE) (HOWARD; SMITH, 1983) e analisadas sob microscópio óptico para determinação do sexo e dos estádios do

desenvolvimento gonádico, segundo Steele e Mulcahy (1999) (Tabela 1). O sexo dos indivíduos foi classificado da seguinte maneira: fêmea (F), macho (M) e indeterminado (I).

Tabela 1. Estádios de maturação gonadal verificados em ostras da espécie *Crassostrea gigas* alimentados com concentrações de bioflocos e microalgas vivas.

Estádio	Macho	Fêmea
Imaturo	Nenhuma evidência da presença de folículos periféricos à glândula digestiva.	Nenhuma evidência da presença de folículos periféricos à glândula digestiva.
Gametogênese inicial	Predominância de pequenos folículos, espermatogônias e espermatócitos em grande quantidade, não há presença de espermatozóides.	Oogônia decorrente de células-tronco ao longo do folículo, sem oócitos livres. O tecido conjuntivo é muito abundante.
Gametogênese mediana/final	As células foliculares contêm predominantemente espermátides e espermatozóides, o padrão espiralado característico de espermatozóides, com caudas em direção ao lúmen do folículo, no centro do folículo.	Oócitos livres e fixos apresentam núcleos distintos que se coram de forma mais clara que o citoplasma.
Maduro	O tecido interfolicular e o epitélio germinativo são imperceptíveis. Folículos preenchidos com espermatozóides orientados com as caudas para o lúmen do folículo, formando um padrão de espiral de características que preenche completamente o folículo.	Oócitos livres com núcleos e nucléolos distintos.

Fonte: Steele e Mulcahy (1999).

### 2.2.9 Análise estatística

Os parâmetros de crescimento (altura, comprimento, largura e peso vivo), composição centesimal e IC foram submetidos à ANOVA, posteriormente ao teste de normalidade de resíduos (*Shapiro-Wilk*) e homocedasticidade de variâncias (*Bartlett's-Test*). Quando houve diferença entre as médias dos tratamentos, o teste de Tukey foi aplicado.

Para as variáveis que violaram os requisitos de normalidade e homocedasticidade, realizou-se a análise de variância pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* e, posteriormente, o teste de Dunn foi usado para comparação múltipla. Para os dados de histologia, foi realizado o teste t, não paramétrico, via permutação. Considerou-se nível de significância de 5% em todas as análises. As análises dos dados foram realizadas utilizando-se o software RStudio® versão 3.6.1.

## 3 RESULTADOS

Durante o experimento, o pH médio foi de  $7,96 \pm 0,10$ , as temperaturas médias, aferidas antes e após a alimentação, foram de  $22,12^\circ\text{C} \pm 1,70$  e  $22,25^\circ\text{C} \pm 1,10$ , respectivamente, e a salinidade média foi de  $34,75 \pm 1,33 \text{ g.kg}^{-1}$ .

Não houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) para altura, comprimento, largura da concha e peso total dos organismos submetidos aos tratamentos distintos após 15, 30 e 45 dias de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2. Peso vivo (g) e altura (mm), comprimento (mm) e largura (mm) da concha de ostras do pacífico (*C. gigas*) submetidas as diferentes dietas após 15, 30 e 45 dias de cultivo.

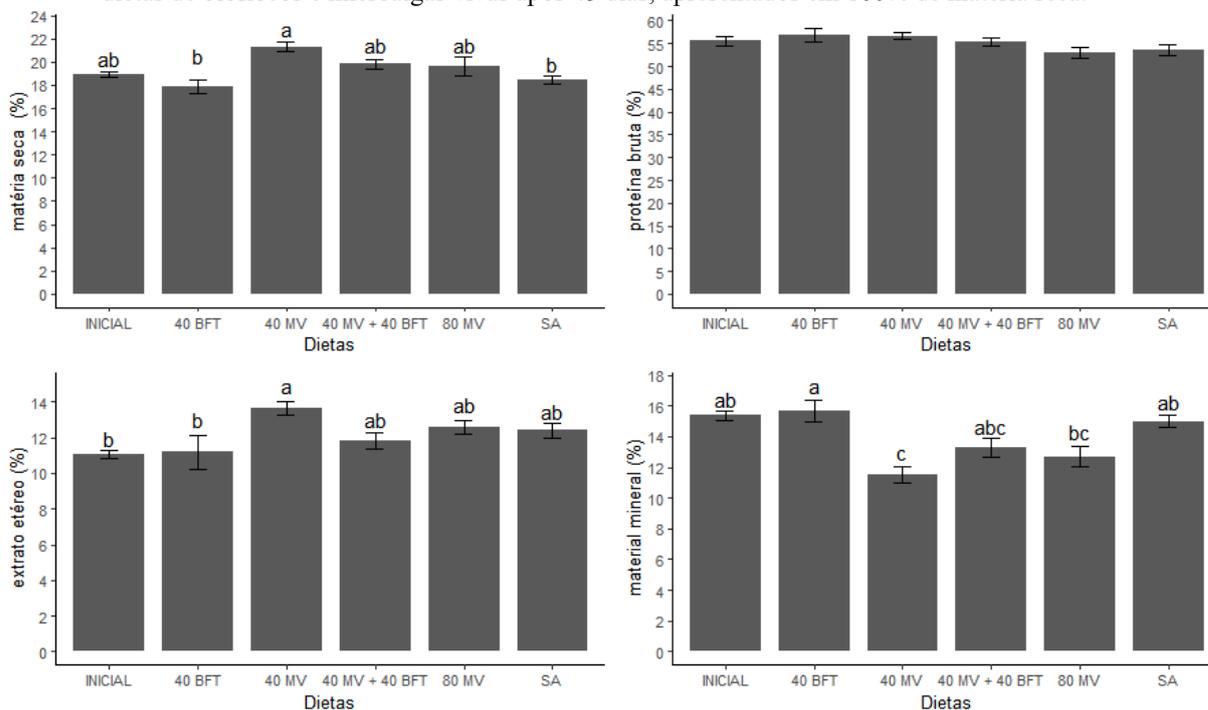
Após 15 dias				
Dieta (mg. L <sup>-1</sup> )	Altura (mm)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Peso vivo (g)
40BFT	84,86 ± 5,80	49,70 ± 5,31	29,74 ± 3,97	68,15 ± 12,48
40MV	84,62 ± 6,84	50,41 ± 5,10	29,41 ± 3,74	65,90 ± 9,80
40MV+40BFT	83,75 ± 6,39	51,81 ± 5,84	34,07 ± 10,25	68,95 ± 13,30
80MV	84,56 ± 6,45	51,56 ± 5,42	29,45 ± 4,12	68,28 ± 11,52
SA	84,11 ± 6,54	49,61 ± 4,91	29,91 ± 4,40	68,03 ± 15,01
Após 30 dias				
Dieta (mg. L <sup>-1</sup> )	Altura (mm)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Peso vivo (g)
40BFT	84,97 ± 6,34	49,72 ± 4,73	29,62 ± 4,72	69,42 ± 12,60
40MV	85,98 ± 7,33	50,69 ± 4,41	29,59 ± 4,02	69,62 ± 12,05
40MV+40BFT	85,19 ± 5,90	51,94 ± 5,28	29,52 ± 4,44	70,55 ± 13,68
80MV	85,98 ± 7,37	51,28 ± 4,88	29,03 ± 4,05	70,27 ± 11,41
SA	84,08 ± 6,44	50,00 ± 4,21	29,28 ± 4,21	68,46 ± 14,33
Após 45 dias				
Dieta (mg. L <sup>-1</sup> )	Altura (mm)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Peso vivo (g)
40BFT	84,56 ± 6,24	50,10 ± 5,15	30,69 ± 4,95	70,64 ± 13,06
40MV	86,95 ± 7,55	51,86 ± 5,12	30,50 ± 4,55	73,10 ± 13,69
40MV+40BFT	84,72 ± 6,05	52,08 ± 5,04	29,83 ± 4,18	71,68 ± 13,27
80MV	84,41 ± 5,68	51,83 ± 4,98	29,61 ± 3,08	69,31 ± 10,34
SA	83,42 ± 6,03	49,77 ± 5,15	29,44 ± 3,65	68,68 ± 14,46

Definição das abreviaturas: 40 mg.L<sup>-1</sup> de bioflocos (40 BFT); 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (40 MV); 40 mg. L<sup>-1</sup> de BFT + 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (40 BFT + 40 MV); 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (80 MV) e sem alimentação (SA). Fonte: Produção do autor.

Animais que não receberam alimentação ou foram alimentados apenas com bioflocos (40BFT) apresentaram uma sobrevivência de 100%. Por outro lado, ostras submetidas a dieta 40 MV, 40 MV + 40 BFT ou 80 MV demonstraram sobrevivências de 91,67%, 96% e 98%, respectivamente.

As dietas não afetaram a concentração de proteína bruta da carne das ostras avaliadas (Figura 2). Entretanto, o extrato etéreo do tecido de ostras submetidas à dieta 40MV foi significativamente maior que aquele das ostras alimentadas com 40BFT e das ostras amostradas antes do início do experimento (Figura 2). A matéria mineral do tecido das ostras alimentadas com a dieta 40BFT foi significativamente maior em comparação à matéria mineral dos animais alimentados com as dietas 40MV e 80MV (Figura 2).

Figura 2. Composição centesimal do tecido de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) submetidas às diferentes dietas de bioflocos e microalgas vivas após 45 dias, apresentados em 100% de matéria seca. <sup>(1)</sup>

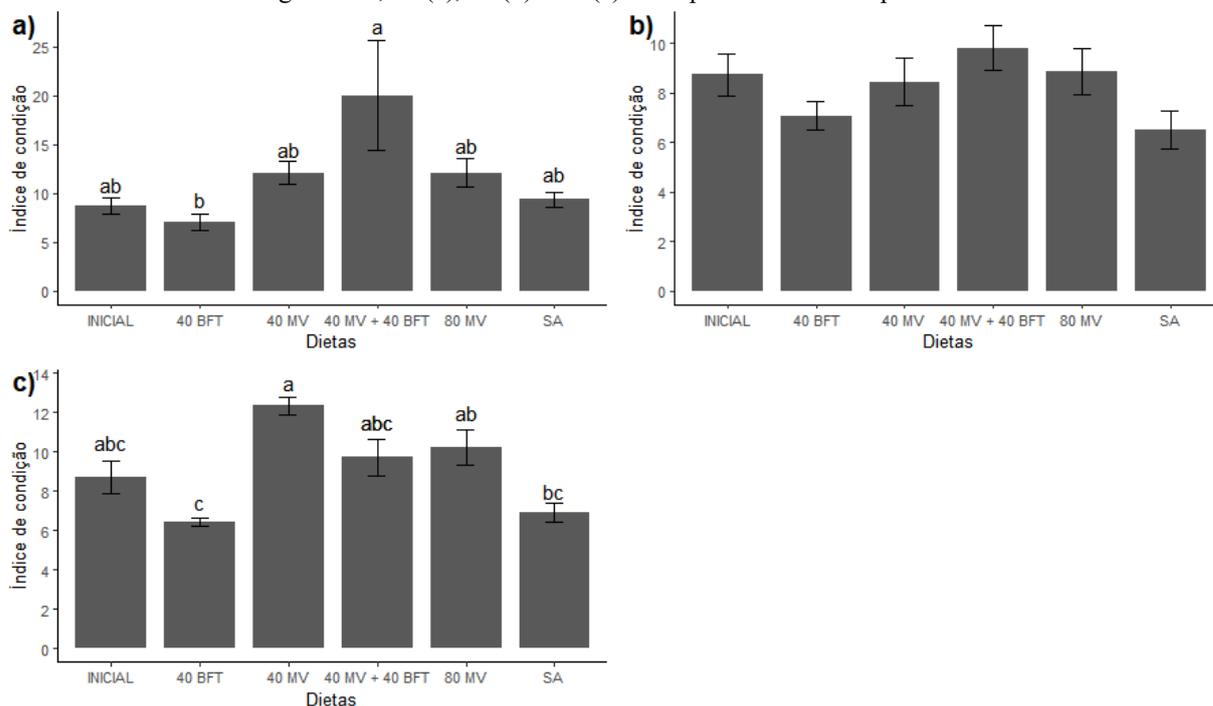


<sup>(1)</sup> Para cada fração da composição nutricional, letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Dietas avaliadas no experimento: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 BFT); b) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) (40 MV); c) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) + 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 MV + 40 BFT); d) 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) (80 MV) e sem alimentação (SA).

O índice de condição médio das ostras alimentadas com 40MV+40BFT, após 15 dias, apresentou diferenças em comparação ao IC médio de ostras submetidas à dieta 40BFT ( $p < 0,05$ ). Ostras submetidas as outras dietas não diferiram entre si quanto ao IC (Figura 3a). Embora não tenham sido observadas diferenças entre o IC médio das ostras após 30 dias ( $p > 0,05$ ), foi constatado um decréscimo de IC no tecido de todos os indivíduos submetidos, independente da dieta testada (Figura 3b). Após 45 dias, o IC médio final das ostras submetidas à dieta 40MV foi significativamente maior que o IC das ostras alimentadas com 40BFT e SA ( $p < 0,05$ ) (Figura 3c). Ostras submetidas às demais dietas não diferiram entre si quanto ao IC.

Figura 3. Índice de condição de ostras do Pacífico (*C. gigas*) submetidas a diferentes dietas de bioflocos e microalgas vivas, 15 (a), 30 (b) e 45 (c) dias após o início do experimento. <sup>(1)</sup>



<sup>(1)</sup> Em cada gráfico, letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Dunn ( $p < 0,05$ ).

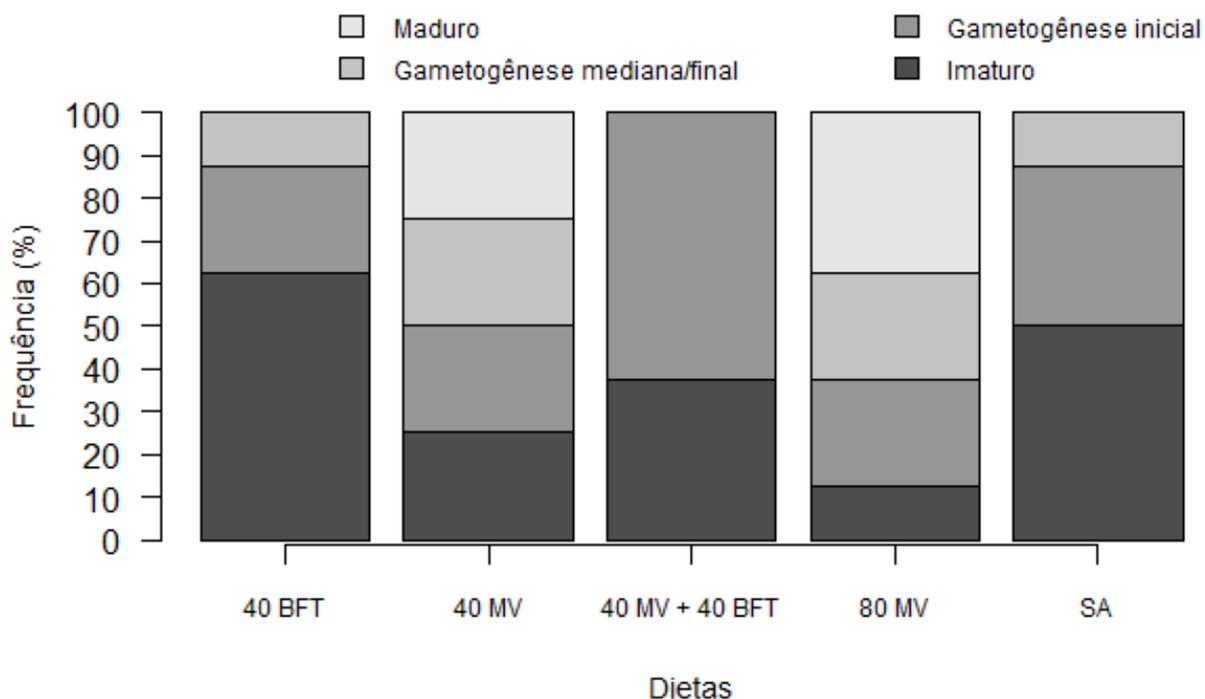
Dietas avaliadas no experimento: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 BFT); b) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) (40 MV); c) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) + 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 MV + 40 BFT); d) 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. mülleri* e *I. galbana*) (80 MV) e sem alimentação (SA).

Ostras alimentadas somente com microalgas vivas adentraram estádios mais avançados no processo de gametogênese em relação àquelas alimentadas com BFT. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) na proporção de animais dos diferentes sexos entre os tratamentos avaliados; entretanto, constatou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no desenvolvimento do tecido gonádico dos animais alimentados com 40BFT e 40MV, após 45 dias. Os organismos que foram alimentados com 40MV apresentaram frequência de 25% em cada um dos estádios do tecido gonádico, enquanto que os indivíduos submetidos à dieta de 40BFT, apresentaram uma proporção de 63% de imaturos, 25% em gametogênese inicial, 13% em gametogênese mediana ou final, não tendo sido observado nenhum animal em estágio maduro (Figura 4).

Observou-se diferença no desenvolvimento do tecido gonádico dos animais submetidos às dietas 40MV+40BFT comparados com aqueles submetidos à dieta 80MV. Na dieta 40MV+40BFT observou-se uma frequência de 38% de animais imaturos e 63% em gametogênese inicial, ao passo que na dieta com 80MV observou-se uma frequência de 13% de organismos imaturos, 25% em gametogênese inicial, 25% em gametogênese mediana ou avançada e 38% de ostras maduras (Figura 4). Também houve diferença entre o

desenvolvimento gonadal dos animais que receberam as dietas 80MV e as que não receberam alimento. As frequências observadas nos animais alimentados com 80MV foram, 13%, 25%, 25% e 38%, respectivamente, de animais imaturos, em gametogênese inicial, em gametogênese mediana ou avançada e maduros; enquanto que, entre os indivíduos que não receberam alimentação (SA), observou-se 50% imaturos, 38% em gametogênese inicial, 13% em gametogênese mediana ou avançada e nenhum indivíduo maduro (Figura 4).

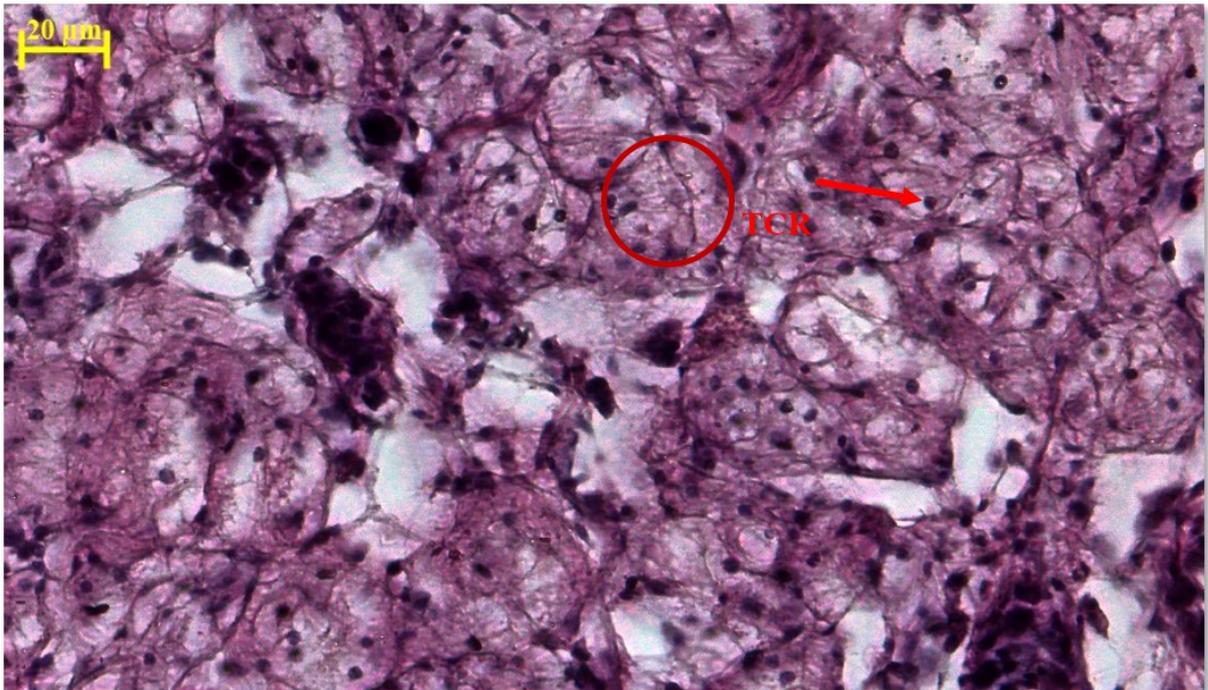
Figura 4. Frequência dos estádios de desenvolvimento do tecido gonádico de *Crassostrea gigas* submetidas a diferentes dietas com bioflocos e microalgas vivas de acordo com as dietas testadas, após 45 dias de cultivo.



Dietas avaliadas no experimento: a) 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 BFT); b) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (40 MV); c) 40 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) + 40 mg.L<sup>-1</sup> de BFT (40 MV + 40 BFT); d) 80 mg.L<sup>-1</sup> de microalgas (*C. müelleri* e *I. galbana*) (80 MV) e sem alimentação (SA).

Nos animais imaturos ou de gênero indeterminado (I) não foram observadas células germinativas em processo de gametogênese ou estas ainda estavam indiferenciadas. Sendo possível verificar o tecido conjuntivo de reserva (TCR) substituindo o tecido gonádico (Figura 5).

Figura 5. Fotomicrografia do tecido conjuntivo de reserva – TCR (círculo) de *Crassostrea gigas*, animal imaturo. Núcleo de uma célula de TCR (seta). Aumento 400x. Coloração em HE.

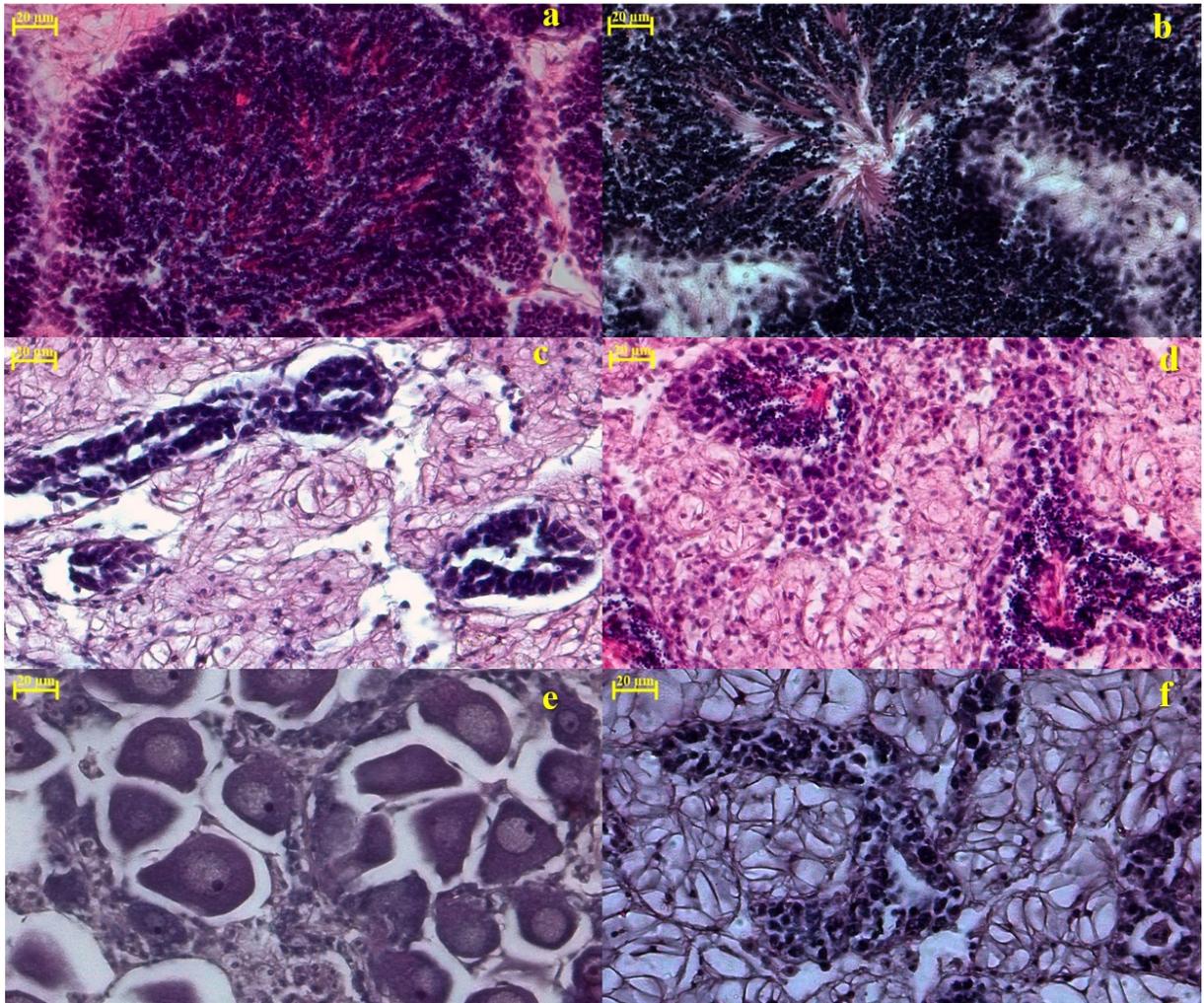


Fonte: Produção da autora, 2021.

O tecido gonádico masculino era formado por folículos microscópicos, onde ocorre a espermatogênese e o armazenamento de espermatozoides. Os folículos aumentam o diâmetro à medida que a espermatogênese é iniciada (Figura 6 a, b, c, d). É ainda possível observar desde pequenos folículos, com grande quantidade de TCR entremeando-os, até folículos grandes e justapostos. Na parede dos folículos há espermatogônias, que se diferenciavam em espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozoides, à medida que se aproximam de seu lúmen (Figura 6d).

A estrutura do tecido gonádico feminino foi semelhante à encontrada nos machos, com folículos gonádicos contendo oogônias, oócitos imaturos em estágio de maturação próximos à borda e oócitos maduros na luz dos folículos (Figura 6 e, f).

Figura 6. Fotomicrografia de estádios de maturação do tecido gonádico de *Crassostrea gigas* verificados em machos – Animal maduro (a); em gametogênese inicial (b); em gametogênese final (c) e em gametogênese mediana (d) e fêmeas – Animal em gametogênese final (e) e em gametogênese inicial (f). Aumento 400x. Coloração em HE.



Fonte: Produção da autora, 2021.

#### 4 DISCUSSÃO

Pouco se sabe sobre crescimento e sobrevivência de ostras submetidas à alimentação com bioflocos. O desenvolvimento de dietas para substituir as microalgas na alimentação de ostras é crucial não só para atender à demanda dos laboratórios ou indústrias, mas também para continuar a melhorar as taxas de sobrevivência e crescimento desses indivíduos (WANG *et al.*, 2016).

Alguns estudos relataram os efeitos de dietas alternativas na sobrevivência e crescimento de espécies de moluscos (KNAUER e SOUTHGATE, 1999; PEÑA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2020; RATO *et al.*, 2018). Rato *et al.* (2018), por exemplo, demonstraram que *C. gigas* não alimentadas apresentaram alta taxa de mortalidade (72%) após 11 semanas; enquanto que

quando alimentadas com 100% de um concentrado de *Ulva rigida* a condição fisiológica foi afetada, mas não houve efeito na sobrevivência. No presente estudo, diferente da alta taxa de mortalidade observada por esses autores quando os animais não foram alimentados, as ostras sobreviveram 45 dias sem alimentação. No tratamento contendo a dieta 40MV+40BFT a sobrevivência foi de 96%, indicando que a substituição parcial ou total de bioflocos na alimentação de *C. gigas* não interfere na sobrevivência desses indivíduos no período avaliado (45 dias). Esses resultados são similares aos encontrados por Peña-Rodríguez *et al.* (2020), onde a substituição total de microalgas por detritos unicelulares da macroalga *Ulva lactuca* causou uma alta porcentagem de sobrevivência (94%) em ostras *C. gigas*, após 17 dias de experimento.

Assim como a alimentação convencional ou as substituições dietéticas podem interferir na sobrevivência, também são capazes de influenciar no crescimento desses animais, pois a qualidade e quantidade de alimento ofertados modulam significativamente as taxas de crescimento de ostras (ARANA, 2004; SEED; SUCHANEK, 1992). Outros mecanismos como o tempo de exposição ao ar, profundidade d'água, velocidade de correntes marinhas e densidade populacional também podem afetar a disponibilidade de alimentos para as ostras e/o seu crescimento (GOSLING, 2015). Ao final desse estudo, as ostras não apresentaram incrementos significativos quanto ao crescimento em concha provavelmente por se tratar de animais adultos e devido ao tempo de exposição (45 dias). No entanto, foi possível observar o reflexo das dietas em outros parâmetros avaliados.

Além dos fatores citados, a aceitabilidade de partículas pode, também, afetar o crescimento dos moluscos. Essa aceitabilidade foi constatada por Bayne (2017) ao mencionar que algumas espécies do gênero *Crassostrea* suportam até 200 mg.L<sup>-1</sup> de material particulado total (TPM) antes que ocorra indícios de entupimento das brânquias. Em outro estudo, Barillé *et al.* (1997) ao avaliarem os efeitos do séston na alimentação de *C. gigas* concluíram que concentrações de partículas acima 90 mg.L<sup>-1</sup> leva a sobrecarga dos palpos labiais, mas que a capacidade de seleção dessa espécie decai ao ultrapassar concentrações de 160 mg.L<sup>-1</sup>. Neste estudo, a maior concentração de partículas que as ostras foram expostas foi de 80 mg.L<sup>-1</sup> (40MV+40BFT e 80MV), e a menor concentração foi de 40 mg.L<sup>-1</sup> (40 BFT e 40 MV). Assim, as dietas testadas estavam abaixo das concentrações que podem causar sobrecarga ou alterações morfológicas em brânquias e palpos labiais de *C. gigas*, o que pode justificar a baixa mortalidade e crescimento da espécie estudada.

Em ambiente natural, os bivalves estão expostos a grandes quantidades de matéria em suspensão, e isso inclui partículas com ou sem nutrientes (NEWELL, 1965; NEWELL *et al.*, 1989; OWEN, 1974), sendo principalmente constituída por fitoplâncton, bactérias e

protozoários (SILVA; BATISTA, 2008). Nesse sentido, a presença do mecanismo de classificação pré-ingestiva, que nas ostras é realizada pelos palpos labiais, visa otimizar o ganho de energia, através da escolha de partículas com maior qualidade nutritiva (GRIZZLE *et al.*, 2001; IGLESIAS *et al.*, 1992; LOOSANOFF, 1949; KIØRBOE; MØHLENBERG, 1981; TAGHON *et al.*, 1978; WARD; SHUMWAY, 2004). Apesar da classificação servir como forma de otimizar o ganho de energia, a composição do alimento oferecido também merece atenção e deve ser considerada.

Embora exista uma grande diferença na composição das microalgas, a proteína é sempre o maior constituinte orgânico, seguido pelo lipídio e carboidrato (COUTTEAU, 1996), onde a principal função da proteína é fornecer aminoácidos essenciais e nitrogênio para biossíntese de tecidos (BROWN; JEFFREY; GARLAND, 1989). Quando tratamos da utilização do BFT como substituinte na alimentação das ostras, verificamos que a qualidade nutricional dos meios de cultivo é baseada na fonte de carbono (melaço, farelos, dextrose), utilizado para inicialização do BFT, que auxiliam no crescimento populacional de bactérias heterotróficas (WASIELESKY *et al.*, 2006). Essa fonte de carbono orgânico utilizado na fertilização dos sistemas de BFT é importante porque influencia a composição nutricional dos flocos microbianos (FUGIMURA *et al.*, 2015).

Para um bom funcionamento do sistema BFT recomenda-se que a concentração de sólidos suspensos totais (SST) não fique abaixo de 200 mg.L<sup>-1</sup>, pois prejudicam os processos de nitrificação (SCHVEITZER *et al.*, 2013), as concentrações mínimas encontradas no sistema BFT estão acima do suportado por *C. gigas* (BARILLÉ *et al.*, 1997), sendo necessária a diluição do BFT para usá-lo fonte de alimento para ostras. Possivelmente essa diluição realizada antes da destruição da alimentação contribuiu para que o BFT não interferisse negativamente no crescimento das ostras *C. gigas*. Mesmo assim, a qualidade nutricional do bioflocos varia de acordo, também, com a comunidade de microrganismos desenvolvidos no sistema (DA ROCHA *et al.*, 2012), sua composição sofre influência da espécie cultivada, presença de microrganismos específicos e de manejo, além do tempo de cultivo dos flocos microbianos (AVNIMELECH, 2007). Apesar de existirem diferenças entre as alimentações testadas, as ostras não foram prejudicadas quanto ao crescimento por nenhuma das dietas avaliadas.

Diferentemente do que foi constatado por Omont *et al.* (2021), que sugeriram que a farinha de *U. lactuca* pode substituir em até 50% da microalga *C. calcitrans* sem alterar o crescimento de *C. gigas*, os resultados do presente estudo demonstram que substituir parcialmente ou totalmente o bioflocos por microalgas vivas não afeta o crescimento em concha e peso vivo de ostras *C. gigas*. Entretanto, o alimento oferecido interferiu tanto no índice de

condição quanto na gametogênese, sendo evidenciado pelas diferenças no esforço reprodutivo das ostras.

O índice de condição além de ser o método quantitativo mais utilizado em estudos com a ostra *C. gigas* (BAGHURST; MITCHELL, 2002), também serve para avaliar de forma indireta o estágio reprodutivo dos animais (RABELO *et al.*, 2005). Quando verificamos os aspectos de desenvolvimento da gametogênese, as reservas de energia são de grande importância na reprodução; sendo que o armazenamento e a utilização de energia em bivalves estão intimamente relacionados à dieta fornecida aos adultos, o que, conseqüentemente, afeta o desenvolvimento gonadal, a qualidade do oócito e a viabilidade larval (ANJOS *et al.*, 2016; UTTING e MILLICAN, 1997). Nesse estudo, quanto ao índice de condição, ainda que a alimentação 40MV+40BFT em comparação a 40BFT tenha apresentado bons resultados após 15 dias de experimento, esse efeito não permaneceu ao longo do tempo e, após esse período, o IC de todas as ostras diminuiu independente da dieta ofertada. Não houve nenhuma evidência de que as variações de pH, salinidade, temperatura, ou ainda, eventos de desovas influenciaram esses resultados.

Embora tenha sido constatado um decréscimo no IC de todos os indivíduos após 30 dias, ao final do estudo, o IC das ostras submetidas as dietas 40MV e 80MV apresentaram um incremento significativo, indicando uma recuperação no IC de indivíduos submetidos a dietas com microalgas. Ainda, a dieta contendo apenas bioflocos (40BFT) afetou diretamente a condição fisiológica das ostras, ainda que ostras alimentadas com 40MV+40BFT tenham obtido resultados de IC semelhantes às alimentadas a com 40MV e 80MV.

Os resultados do presente estudo são similares aos encontrados por Rato *et al.* (2018) que constaram uma diminuição no IC de ostras *C. gigas* alimentadas com 100% de concentrados da macroalga *U. rigida* em substituição a microalgas vivas. Contudo, difere do que foi observado por Omont *et al.* (2021), que sugerem que a farinha de *U. lactuca* pode substituir até 50% da microalga *C. calcitrans* sem alterar o índice de condição e crescimento de *C. gigas*.

As menores médias de IC de ostras que foram alimentadas com a dieta 40BFT ou daquelas que não receberam alimentação pode ser explicada pela derivação da energia dos recursos endógenos, em que os tecidos são perdidos devido às atividades catabólicas (LIU *et al.*, 2010). Em seu estudo, Liu *et al.* (2010), constataram que uma das respostas de *C. gigas* quando não são alimentadas é o aumento no conteúdo de cinzas, e a diminuição correspondente no índice de condição. Nesse estudo, tanto ostras não alimentadas quanto as submetidas a dieta 40BFT apresentaram os maiores teores de matéria mineral (%), implicando dizer que a presença

de BFT na alimentação de *C. gigas*, tem efeitos similares aos animais que não são alimentados, ou seja, diminui a propensão deles ao incremento de IC.

A condição fisiológica das ostras avaliadas pelo índice de condição está intimamente relacionada com o desenvolvimento gonadal. De fato, foi possível observar que o índice de condição reflete o estágio de desenvolvimento gonadal. Por exemplo, ao final do experimento, o IC coincide com o desenvolvimento gonadal de ostras submetidas a 40BFT ou que não receberam alimento. As ostras submetidas às dietas 40MV e 80MV exibiram uma evolução gonadal mais evidente, enquanto indivíduos alimentados com 40BFT, 40MV+40BFT, ou que não receberam alimentação, apresentaram uma condição desfavorável para desenvolver a gametogênese completa. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Rato *et al.* (2018) em que demonstraram que *C. gigas* alimentadas com dietas com maiores porcentagens (> 75%) de microalgas ou alimentadas apenas com microalgas apresentaram maturação mais rápida durante o experimento, enquanto um desenvolvimento gonadal mais lento foi observado nas ostras privadas de alimento e nas alimentadas com alta porcentagem de macroalgas (> 50%).

Ao observar a porcentagem de extrato etéreo encontrada no tecido das ostras, podemos inferir que indivíduos alimentados com 40MV, por 45 dias, apresentaram maiores teores de gorduras em seu tecido do que as ostras submetidas a dieta 40BFT, por exemplo. O que explica a proporção de indivíduos maduros ser maior naqueles submetidos a dietas contendo alguma quantidade de microalgas, visto que em ostras, as variações de lipídeos estão associadas ao desenvolvimento das gônadas e à desova quando parte do lipídeo acumulado é consumido (MORAIS *et al.*, 1978). Desse modo, ostras alimentadas apenas com microalgas tiveram uma dieta nutricional mais adequada quando comparada às demais, uma vez que os processos reprodutivos foram mais avançados nesses indivíduos. A alimentação com dietas contendo apenas microalgas possivelmente abrange a composição nutricional necessária para desenvolvimento da gametogênese (MADRONES-LADJA *et al.*, 2002), já que a qualidade dos alimentos também é importante na maturação das gônadas (GOSLING, 2015).

Por outro lado, as ostras privadas de alimento e aquelas alimentadas com 40BFT e 40MV+40BFT provavelmente ajustaram suas necessidades metabólicas e canalizaram a energia para manutenção interna. De acordo com Albentosa *et al.* (2007), uma das consequências da fome ou inadequação da qualidade e quantidade dos alimentos fornecidos nos invertebrados, é a diminuição do metabolismo até níveis de manutenção.

Os resultados do presente estudo demonstraram que em ostras que não foram alimentadas, o acúmulo de reservas anterior ao experimento e a possível translocação de

nutrientes (gorduras) não foram suficientes para desenvolver animais até o estágio maduro. Essas diferenças podem ser atribuídas ao mecanismo de fornecimento de energia necessária para a reprodução. A lenta evolução na maturação gonadal de *C. gigas* não alimentadas e submetidas a dietas 40BFT ou 40MV+40BFT sugerem que, em caso de estresse nutricional não chegando a proporcionar letalidade, a energia disponível é alocada para garantir a viabilidade da espécie e sobrevivência do indivíduo (ANJOS *et al.*, 2016; JOAQUIM *et al.*, 2011).

Bernard; De Kermoisan; Pouvreau (2011) descreveram que a ostra *C. gigas* realiza a reabsorção em casos de extrema fome, e que o rendimento de reabsorção é o mesmo na ausência de desova, o que pode explicar os resultados encontrados nesse estudo, que indicam o início de gametogênese em ostras que não foram alimentadas ou naquelas cuja a alimentação parece não ter sido bem incorporada por esses animais. O fato da capacidade das ostras de atingir gametogênese na ausência de alimento também foi relatado por Cannuel e Beninger (2005).

Os resultados também corroboram com o encontrado por Liu *et al.* (2010) para *C. gigas*, onde ao comparar grupos de ostras alimentadas e sem alimento constataram que ostras não alimentadas desenvolveram as gônadas, mas o progresso foi atrasado e a desova não ocorreu no mesmo período das ostras alimentadas. Esses autores, sugeriram que a gametogênese era dependente das reservas acumuladas pelas ostras antes do desenvolvimento das gônadas.

No presente estudo, a adição de apenas de BFT ou o uso dele juntamente com microalgas na dieta não auxiliou no desenvolvimento completo da gametogênese em *C. gigas*, indicando que o uso somente de BFT ou combinado com microalgas, nas concentrações testadas, por 45 dias, assim como ostras não alimentadas não foi capaz de proporcionar condições que auxiliassem a ostra *C. gigas* a desenvolver animais maduros. Ou seja, ainda que diluído o BFT dificulta o desenvolvimento gonadal completo desses animais, esse resultado difere do que foi encontrado por López-Carvalho *et al.* (2017), que relataram que dietas com microalgas suplementadas com farinhas de cereais são alternativas confiáveis para o desenvolvimento da gametogênese do mexilhão *M. capax*.

As respostas obtidas através do presente estudo podem colaborar com novas pesquisas na área de substituição dietética, e auxiliar na compreensão do comportamento de ostras frente ao BFT. Além disso, este foi o primeiro estudo no Brasil a avaliar ostras do Pacífico, *C. gigas*, expostas a dietas com BFT em concentrações aceitáveis por esses bivalves, sendo escassos na literatura estudos que utilizem concentrações de BFT dentro dos limites confortáveis para ostras.

## 5 CONCLUSÃO

O BFT não afetou a sobrevivência, crescimento e peso total da ostra do Pacífico, *C. gigas*, no período avaliado (45 dias); contudo, o mesmo afetou negativamente o índice de condição e o desenvolvimento completo da gametogênese desses animais.

## REFERÊNCIAS

- ALBENTOSA, M. *et al.* Response of two species of clams, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*, to starvation: Physiological and biochemical parameters. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 146, n. 2, p. 241–249, fev. 2007.
- ANJOS, C. *et al.* Broodstock conditioning of the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*, Lamarck, 1819): influence of different diets. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 7, p. 3859–3878, 1 jul. 2017.
- Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International** (17th ed.), Gaithersburg, MD: George W. Latimer, Jr. 1999.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1–4, p. 140–147, 6 abr. 2007.
- BAGHURST, B. C.; MITCHELL, J. G. Sex-specific growth and condition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). **Aquaculture Research**, v. 33, n. 15, p. 1253–1263, 2002.
- BARILLÉ, L. *et al.* Effects of high natural seston concentrations on the feeding, selection, and absorption of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 212, n. 2, p. 149–172, 1997.
- BAYNE, B. L. **Biology of Oysters, Developments in Aquaculture and Fisheries Science**. [s.l: s.n.]. v. 41, 2017.
- BERNARD, I.; DE KERMOYSAN, G.; POUVREAU, S. Effect of phytoplankton and temperature on the reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Investigation through DEB theory. **Journal of Sea Research**, v. 66, n. 4, p. 349–360, 2011.
- BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; GARLAND, C. D. **Nutritional Aspects of Microalgae used in Mariculture; a Literature Review Report**. Hobart, Tas.: CSIRO Marine Laboratories, 1989.
- CANNUEL, R.; BENINGER, P. G. Is oyster broodstock feeding always necessary? A study using oocyte quality predictors and validators in *Crassostrea gigas*. **Aquatic Living Resources**, v. 18, n. 1, p. 35–43, 2005.

CROSBY, M.P.; GALE, L.D. A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. **Journal of Shellfish Research**, vol. 9, p. 233–237, 1990.

DE OLIVEIRA, K. F. *et al.* Uso da ostra *Crassostrea rhizophorae* como filtro biológico para tratamento de efluentes da carcinicultura. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2789–2798, 2014.

DESLOUS-PAOLI, J; HÉRAL, M. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. **Aquatic living resources**, v. 1, n. 4, p. 239-249, 1988.

EHTESHAMI, F. *et al.* Effect of different dietary microalgae combinations on growth and survival of black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae and the feasibility of replacing microalgae with a dietary lipid emulsion. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 671–680, 2017.

EPAGRI; CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2019 - 2020**. p. 172, 2021.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in action**. [s.l: s.n.]. 2020.

FUGIMURA, M. M. S. *et al.* Brewery residues as a source of organic carbon in *Litopenaeus schmitti* white shrimp farms with BFT systems. **Aquaculture International**, v. 23, n. 2, p. 509–522, 2015.

GALTSOFF, P. S. **The American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin**. US Government Printing Office, 1964.

GONZÁLEZ-ARAYA, R. *et al.* The selection of an ideal diet for *Ostrea edulis* (L.) broodstock conditioning (part B). **Aquaculture**, v. 362–363, p. 55–66, 2012.

GOSLING. Ecology of bivalves. In: WILEY-BLACKWELL (Ed.). **Marine Bivalve Molluscs**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2015.

GRIZZLE, R. E.; BRICELJ, V. M.; SHUMWAY, S. E. Chapter 8 Physiological ecology of *Mercenaria mercenaria*. **Developments in Aquaculture and Fisheries Science**, v. 31, n. C, p. 305–382, 2001.

HARGREAVES, J. A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 344–363, 2006.

HOWARD, D. W.; SMITH, C. S. Histological techniques for marine bivalve molluscs, NOAA Technical Memorandum NMFS-F/NEC.25. **NOAA Technical Memorandum**, n. NMFS-F/NEC.25, p. 97, 1983.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal (PPM), A Pesquisa**. 2019.

IGLESIAS, J. I. P. *et al.* Feeding, particle selection and absorption in cockles *Cerastoderma edule* (L.) exposed to variable conditions of food concentration and quality. **Journal of**

**Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 162, n. 2, p. 177–198, 1992.

JOAQUIM, S. *et al.* Reproductive activity and biochemical composition of the pullet carpet shell *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia) from Ria de Aveiro (northwestern coast of Portugal). **Scientia Marina**, v. 75, n. 2, p. 217–226, 2011.

KIØRBOE, T.; MØHLENBERG, F. Particle Selection in Suspension-Feeding Bivalves. **Marine Ecology Progress Series**, v. 5, p. 291–296, 1981.

KNAUER, J.; SOUTHGATE, P. C. A Review of the Nutritional Requirements of Bivalves and the Development of Alternative and Artificial Diets for Bivalve Aquaculture. **Reviews in Fisheries Science**, v. 7, n. 3–4, p. 241–280, 1999.

KRUMMENAUER, D. *et al.* The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 1, p. 3–14, 2014.

LAWRENCE, D.R.; SCOTT, G.I. The Determination and use of condition index of oysters. **Estuaries**, vol. 5, p. 23–27, 1982.

LIMA, P. C. M. *et al.* Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. **Aquaculture**, v. 530, 2021.

LIU, W. *et al.* Effect of starvation on biochemical composition and gametogenesis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Fisheries Science**, v. 76, n. 5, p. 737–745, 2010.

LÓPEZ-CARVALLO, J. A. *et al.* Carbohydrate-rich diets meet energy demands of gametogenesis in hatchery-conditioned mussels (*Modiolus capax*) at increasing temperatures. **Journal of Shellfish Research**, v. 36, n. 3, p. 649–657, 2017.

MADRONES-LADJA, J. A.; DELA PEÑA, M. R.; PARAMI, N. P. The effect of micro algal diet and rearing condition on gonad maturity, fecundity and embryonic development of the window-pane shell, *Placuna placenta* Linnaeus. **Aquaculture**, v. 206, n. 3–4, p. 313–321, 2002.

MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Combined effects of diet and stocking density on growth and biochemical composition of spat of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* at the hatchery. **Aquaculture**, v. 284, n. 1–4, p. 98–105, 2008.

MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Influence of hatchery diets on early grow-out of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* in Sinaloa, Mexico. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 16, p. 1908–1914, 2009.

MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Influence of hatchery rich-carbohydrate diet on the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) farming. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 10, p. 3078–3081, 2019.

MOSS, S. M.; FORSTER, I. P.; TACON, A. G. J. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. **Aquaculture**, v. 258, n. 1–4, p. 388–395, 31 ago. 2006.

NEWELL, R. The role of detritus in the nutrition of two marine deposit feeders, the prosobranch *Hydrobia ulvae* and the bivalve *Macoma balthica*. **Proceedings of the**

**Zoological Society of London**, v. 144, n. 1, p. 25–45, 1965.

OMONT, A. *et al.* Nutritional contribution of seaweed *Ulva lactuca* single-cell detritus and microalgae *Chaetoceros calcitrans* to the growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Aquaculture**, v. 541, n., 2021.

OWEN, G. Feeding and Digestion in the Bivalvia. In: **Advances in Comparative Physiology and Biochemistry**. [s.l: s.n.]. v. 5p. 1–35.

PEÑA-RODRÍGUEZ, A. *et al.* Seaweed single cell detritus effects on the digestive enzymes activity and microbiota of the oyster *Crassostrea gigas*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 5, p. 3481–3493, 2020.

PERNET, F. *et al.* Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros müelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. **Aquaculture**, v. 221, n. 1–4, p. 393–406, 2003.

RATO, A. *et al.* Viability of dietary substitution of live microalgae with dry *Ulva rigida* in broodstock conditioning of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). **Biology Open**, v. 7, n. 9, 2018.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2021.

REBELO, M. F.; AMARAL, M. C. R.; PFEIFFER, W. C. Oyster condition index in *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) from a heavy-metal polluted coastal lagoon. **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, n. 2, p. 345–351, maio 2005.

ROCHA, A. F. DA *et al.* Avaliação da formação de bioflocos na criação de juvenis de tainha *Mugil cf. Hospes* sem renovação de água. **Atlântica**, v. 34, n. 1, p. 63–74, 1 abr. 2012.

SCHVEITZER, R. *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.

SHAW, B. L.; BATTLE, H. I. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). **Canadian Journal of Zoology**, v. 35, n. 3, p. 325–347, 1957.

SHUMWAY, S. E. *et al.* Particle selection, ingestion, and absorption in filter-feeding bivalves. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 91, n. 1–2, p. 77–92, 1985.

STEELE, S.; MULCAHY, M. F. Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in southern Ireland. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 79, n. 4, p. 673–686, 1 ago. 1999.

TAGHON, G. L.; SELF, R. F. L.; JUMARS, P. A. Predicting particle selection by deposit feeders: A model and its implications. **Limnology and Oceanography**, v. 23, n. 4, p. 752–759, 1978.

UTTING, S. D.; MILLICAN, P. F. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve

broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. **Aquaculture**, v. 155, n. 1–4, p. 45–54, 1997.

VIEIRA, G. C. *et al.* Replacement of living microalgae with a dried alfalfa chloroplast product in diets for the Brown mussel ( *Perna perna* ), Yellow clam ( *Mesodesma mactroides* ) and Manila clam ( *Venerupis philippinarum* ). **Aquaculture Nutrition**, v. 00, p. 1–13, 7 out. 2021.

WARD, J. E.; SHUMWAY, S. E. Separating the grain from the chaff: Particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 300, n. 1–2, p. 83–130, 31 mar. 2004.

WASIELESKY, W. *et al.* Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1–4, p. 396–403, 31 ago. 2006.

WILLER, D.; ALDRIDGE, D. C. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 11, 2017.

WILLER, D. F.; ALDRIDGE, D. C. Microencapsulated diets to improve growth and survivorship in juvenile European flat oysters (*Ostrea edulis*). **Aquaculture**, v. 505, n. February, p. 256–262, 2019.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS INTRODUÇÃO GERAL

- ALVAREZ, I. Reproduccion y acondicionamiento de bivalves em el criadero. **Conselleria de Pesca, Marrisqueo e Acuicultura. Xunta de Galicia Coruña, Espana**, v. 16, 1991.
- ANJOS, C. *et al.* Broodstock conditioning of the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*, Lamarck, 1819): influence of different diets. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 7, p. 3859–3878, 1 jul. 2017.
- ARANA, L. V. **Fundamentos de Aquicultura**. 1ª ed. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina, p. 348, 2004.
- ARNEY, B. *et al.* Feasibility of dietary substitution of live microalgae with spray-dried *Schizochytrium* sp. or Spirulina in the hatchery culture of juveniles of the Pacific geoduck clam (*Panopea generosa*). **Aquaculture**, v. 444, p. 117–133, 1 jul. 2015.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1–4, p. 140–147, 6 abr. 2007.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc technology: a practical guide book. [s.l.]. **World Aquaculture Society**, 2009.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology-A Practical Guide Book, USA. **The World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana**, 2012.
- 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, 1 out. 2008.
- BAGHURST, B.; MITCHELL, J. Sex specific growth and condition of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). **Aquaculture Research**, v. 33, 2002.
- BAYNE, B. L. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: VIELEY, M.L. (Ed.). **Estuarine Processes. Academic Press, New York**, 1976.
- BENINGER, P. G.; LUCAS, A. Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 79, n. 1, p. 19–37, 1984.
- BOEING, P.; ESCONDIDO, C. Use of spray-dried *Schizochytrium* sp. as a partial algal replacement for juvenile bivalves. **J. Shellfish Res**, p. 1–9, 1997.
- BODOY, A.; PROU, J.; BERTHOME, J. Etude comparative de différents indices de condition chez l'huître creuse (*Crassostrea gigas*). **Haliotis**, v. 15, p. 173-182, 1986.
- BREESE, W. P.; MALOUF, R. E. Hatchery manual for the Pacific oyster. 1. ed. Corvallis, Oregon State University. Special report; Agricultural Experiment Station, Oregon State University. **Agricultural Experiment Station**, v. 443, p. 22, 1975.
- BROWN, M. R. *et al.* **Nutritional value of microalgae for aquaculture**. Cancún, Quintana

Roo, México: CSIRO Marine Research, 2002.

CARBONI, S.; CLEGG, S. H.; HUGHES, A. D. The use of biorefinery by-products and natural detritus as feed sources for oysters (*Crassostrea gigas*) juveniles. **Aquaculture**, v. 464, 2016.

CHÁVEZ-VILLALBA, J. *et al.* Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: Origin and temperature effect. **Aquaculture**, v. 214, n. 1–4, p. 115–130, 2002.

COUTTEAU, P.; SORGELOOS, P. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. **Journal of Shellfish Research**, v. 11, 1992.

CRAB, R. *et al.* Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, v. 356–357, p. 351–356, 1 ago. 2012.

DAME, R. F. **Ecology of Marine Bivalves: An Ecosystem Approach, Second Edition**. 2<sup>a</sup> ed. [s.l.] CRC Press, 2016.

DE OLIVEIRA, K. F. *et al.* Uso da ostra *Crassostrea rhizophorae* como filtro biológico para tratamento de efluentes da carcinicultura. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2789–2798, 2014.

DÍAZ, R. O. R. **Remoção de matéria orgânica e inorgânica de efluentes da carcinicultura marinha utilizando processos integrados: sedimentação, filtração por moluscos bivalves e absorção por macroalgas**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

DRAGONE, G. *et al.* Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3331–3335, out. 2011.

DRIDI, S.; ROMDHANE, M. S.; ELCAFSI, M. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. **Aquaculture**, v. 263, n. 1–4, p. 238–248, mar. 2007.

KENNEDY, V. S.; NEWELL, R. I. E.; EBLE, A. F. **The eastern oyster : *Crassostrea virginica***. 2nd. ed. [s.l.] University of Maryland Sea Grant College, 1996.

EHTESHAMI, F. *et al.* Proximate and fatty acid composition of the gonads of wild versus hatchery-conditioned *Pinctada margaritifera* broodstock. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 3, jun. 2011.

EHTESHAMI, F. *et al.* Effect of different dietary microalgae combinations on growth and survival of black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae and the feasibility of replacing microalgae with a dietary lipid emulsion. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 671–680, ago. 2017.

EPAGRI; CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2019 - 2020**. p. 172, 2021.

FABIOUX, C. *et al.* Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. **Aquaculture**, v. 250, n. 1–2, p. 458–470, 2005.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Rome: FAO, 2020.

FERNÁNDEZ-REIRIZ, M. J.; IRISARRI, J.; LABARTA, U. Fatty acid composition of female and male clams (*Ruditapes philippinarum*): energy intake and temperature reliance. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 119–128, 1 fev. 2017.

GALLAGER, S. M.; MANN, R. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. **Aquaculture**, v. 56, 1986.

GONZÁLEZ-ARAYA, R. *et al.* A physiological and biochemical approach to selecting the ideal diet for *Ostrea edulis* (L.) broodstock conditioning (part A). **Aquaculture Research**, v. 42, n. 5, p. 710–726, abr. 2011.

GONZÁLEZ-ARAYA, R. *et al.* The selection of an ideal diet for *Ostrea edulis* (L.) broodstock conditioning (part B). **Aquaculture**, v. 362–363, p. 55–66, 28 set. 2012.

GOSLING. Ecology of bivalves. In: WILEY-BLACKWELL (Ed.). **Marine Bivalve Molluscs**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2015.

HARGREAVES, J. A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 344–363, 2006.

HELM, M.M. ; BOURNE, N. Hatchery culture of bivalves. A practical manual (ed. LOVATELLI, A.). **FAO Fisheries Technical Paper**, 2004.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal (PPM)**, A Pesquisa. 2019.

JONES, A. B.; PRESTON, N. P.; DENNISON, W. C. The efficiency and condition of oysters and macroalgae used as biological filters of shrimp pond effluent. **Aquaculture Research**, v. 33, 2002.

JONES, A. B. B.; PRESTON, N. P. Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley), filtration of shrimp farm effluent: The effects on water quality. **Aquaculture Research**, v. 30, n. 1, p. 51–57, 1999.

JONES, A. B.; DENNISON, W. C.; PRESTON, N. P. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. **Aquaculture**, v. 193, p. 155–178, 2001.

KRUMMENAUER, D. *et al.* The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 1, p. 3–14, fev. 2014.

LANGDON, C. J.; WALDOCK, M. J. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 61, n. 2, p. 431–448, 1981.

LEFEBVRE, S.; BARILLE, L.; CLERC, M. Pacific oyster *Crassostrea gigas* feeding responses to a fish-farm effluent. **Aquaculture**, v. 187, p. 185–198, 2000.

- LIMA, P. C. M. *et al.* Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. **Aquaculture**, v. 530, 15 jan. 2021.
- LOOSANOFF, V. L. Precocious gonad development in oysters induced in midwinter by high temperature. **Science**, v. 102, n. 2640, p. 124–125, 3 ago. 1945.
- LOOSANOFF, V. L.; DAVIS, H. C. Temperature Requirements for Maturation of Gonads of Northern Oysters. **Bulletin**, v. 103, n. 1, p. 80–96, 1952.
- LÓPEZ-CARVALLO, J. A. *et al.* Carbohydrate-rich diets meet energy demands of gametogenesis in hatchery-conditioned mussels (*Modiolus capax*) at increasing temperatures. **Journal of Shellfish Research**, v. 36, n. 3, p. 649–657, 1 dez. 2017.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. [s.l.] São Carlos: RiMa., 2006.
- MASON, C.J.; NELL, J. A. Condition index and chemical composition of meats of Sydney rock oysters (*Saccostrea commercialis*) and Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) at four sites in Port Stephens, NSW. **Marine and Freshwater Research**, v. 46, n. 5, p. 873–881, 1995.
- MATHIEU, M.; LUBET, P. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves - a brief review. **Invertebrate Reproduction and Development**, v. 23, n. 2–3, p. 123–129, 1993.
- MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Combined effects of diet and stocking density on growth and biochemical composition of spat of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* at the hatchery. **Aquaculture**, v. 284, n. 1–4, p. 98–105, 2008.
- MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Influence of hatchery diets on early grow-out of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* in Sinaloa, Mexico. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 16, p. 1908–1914, 2009.
- MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. *et al.* Influence of hatchery rich-carbohydrate diet on the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) farming. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 10, p. 3078–3081, 2019.
- MODESTO, G. A. *et al.* Use of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) in the treatment of effluents from the cultivation of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 5(3), p. 367–375, 2010.
- MOSS, S. M.; FORSTER, I. P.; TACON, A. G. J. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. **Aquaculture**, v. 258, n. 1–4, p. 388–395, 31 ago. 2006.
- OKUMUŞ, I.; STIRLING, H. P. Seasonal Variations in the Meat Weight, Condition Index and Biochemical Composition of Mussels (*Mytilus edulis* L.) in Suspended Culture in two Scottish Sea Lochs. **Aquaculture**, v. 159, 1998.
- OLIVERA, A.; BRITO, L. O. Treating shrimp farming effluent using the native oyster, *Crassostrea rhizophorae*, in Brazil. **World Aquaculture**, v. 36, 2005.
- OMONT, A. *et al.* Nutritional contribution of seaweed *Ulva lactuca* single-cell detritus and microalgae *Chaetoceros calcitrans* to the growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*.

**Aquaculture**, v. 541, 30 ago. 2021.

PATIL, V. *et al.* Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. **Aquaculture International**, v. 15, 2007.

PERDUE, J. A. **The relationship between the gametogenic cycle of the Pacific oyster, *C. gigas*, and the summer mortality phenomenon in strains of selectively bred oysters.** [s.l.] University of Washington, 1983.

PERNET, F. *et al.* Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros mülleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. **Aquaculture**, v. 221, n. 1–4, p. 393–406, 1 maio 2003.

PERRIN-GUYOMARD, A. *et al.* Prevalence of mcr-1 in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. **Eurosurveillance**, v. 21, 2016.

PRONKER, A. E. *et al.* Hatchery broodstock conditioning of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758). Part I. Impact of different micro-algae mixtures on broodstock performance. **Aquaculture International**, v. 16, n. 4, p. 297–307, ago. 2008.

RATO, A. *et al.* Viability of dietary substitution of live microalgae with dry *Ulva rigida* in broodstock conditioning of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). **Biology Open**, v. 7, n. 9, 2018.

RIVERO-RODRÍGUEZ, S.; BEAUMONT, A. R.; LORA-VILCHIS, M. C. The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. **Aquaculture**, v. 263, n. 1–4, p. 199–210, 6 mar. 2007.

RUIZ, C. *et al.* Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. **Mar. Biol. EcoL**, v. 155, p. 249–262, 1992.

SHPIGEL, M.; BARBER, B. J.; MANN, R. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology, and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* Thunberg. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 161, n. 1, p. 15–25, 1992.

SHUMWAY, S. E.; PARSONS, G. J. **Scallops: biology, ecology, aquaculture and fisheries.** 3<sup>a</sup> ed. [s.l.] Elsevier Science, 2016.

SPOLAORE, P. *et al.* Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87–96, fev. 2006.

UTTING, S. D.; MILLICAN, P. F. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. **Aquaculture**, v. 155, n. 1–4, p. 45–54, 1997.

VARGAS, M. A. *et al.* Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. **Journal of Phycology**, v. 34, n. 5, p. 812–817, 1998.

WASIELESKY, W. *et al.* Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

**Aquaculture**, v. 258, n. 1–4, p. 396–403, 31 ago. 2006.

WHYTE, J. N. C.; ENGLAR, J. R.; CARSWELL, B. L. Biochemical composition and energy reserves in *Crassostrea gigas* exposed to different levels of nutrition. **Aquaculture**, v. 90, n. 2, p. 157–172, 1990.

WILDISH, D.; KRISTMANSON, D. **Benthic Suspension Feeders and Flow**. New York: Cambridge University Press, 1997.

WILLER, D.; ALDRIDGE, D. C. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 11, 2017.