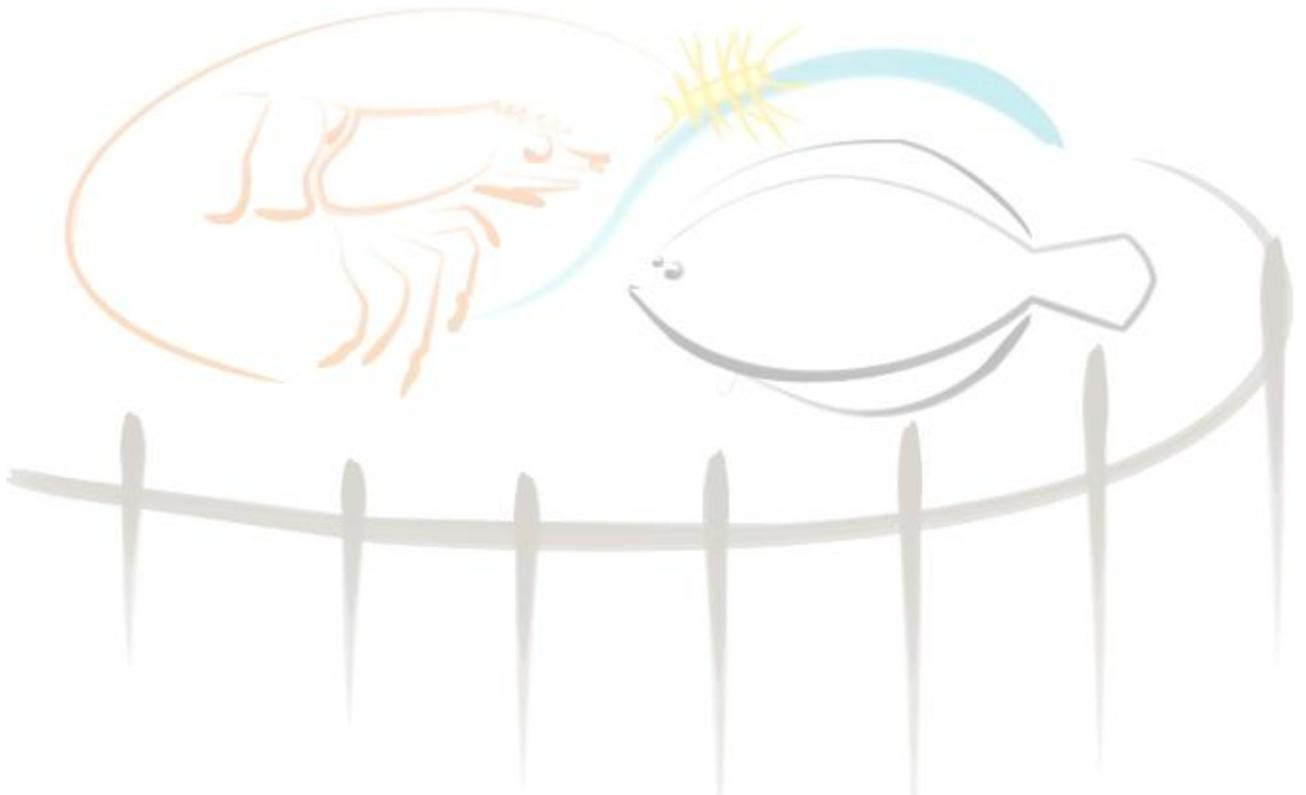




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**Condição fisiológica e imunológica do camarão-rosa do
Golfo do México *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad,
1939) cultivado em Sistema BFT (Bio-Floc Technology)**

MANUEL ANGEL VALENZUELA JIMENEZ

FURG
RIO GRANDE, RS.
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Condição fisiológica e imunológica do camarão-rosa do Golfo do México *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) cultivado em Sistema BFT (Bio-Floc Technology).

MANUEL ANGEL VALENZUELA JIMENEZ

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Dr. Wilson Wasielesky (FURG)
Co-orientadores: Dr. Carlos Rosas (UNAM)
Dr. Gerard Cuzon (IFREMER)

Rio Grande-RS-Brasil

Dezembro 2009

INDICE:

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.-RESUMO GERAL: | 3 |
| 2.-ABSTRACT: | 5 |
| 3.-INTRODUÇÃO GERAL: | 6 |
| Importancia da Aquicultura e a Carcinicultura | 6 |
| Problemas da Atividade Aquicola: | 7 |
| Sistemas Alternativos de Cultivo para Alcançar a Sustentabilidade | 7 |
| Sistema BFT (Bio-Floc-Technology) | 8 |
| Características da espécie <i>Farfantepenaeus duorarum</i> | 8 |
| Imunología e Indicadores do Estado de Saúde dos Camarões | 9 |
| Indicadores do Estado Fisiológico dos Camarões | 11 |
| 4.-OBJETIVO | 13 |
| 5.-BIBLIOGRAFIA: | 14 |
| 6.-CAPITULO I | 24 |
| 6.1.-RESUMO | 25 |
| 6.2.-ABSTRACT | 26 |
| 6.3. - INTRODUÇÃO | 27 |
| 6.4.-OBJETIVOS | 29 |
| 6.5.-MATERIAIS E METODO | 29 |
| 6.6. -RESULTADOS | 33 |
| 6.7.-DISCUSSÃO: | 41 |
| 6.8. -CONCLUSÃO | 44 |
| 6.9.-BIBLIOGRAFIA: | 45 |
| 7.-CAPITULO II | 51 |
| 7.1.-RESUMO: | 52 |
| 7.2.-ABSTRACT | 53 |
| 7.3.-INTRODUÇÃO: | 54 |
| 7.4. -OBJETIVOS: | 56 |
| 7.5.-MATERIAL E METODOS: | 57 |
| 7.6.-RESULTADOS: | 62 |
| 7.7.- DISCUSSÃO: | 70 |
| 7.8.-CONCLUSÃO: | 74 |
| 7.9.-BIBLIOGRAFIA: | 74 |
| 8.-CAPITULO III | 81 |
| 8.1.-RESUMO | 82 |
| 8.2.-ABSTRACT | 83 |
| 8.3.-INTRODUÇÃO | 84 |
| 8.4.-OBJETIVOS | 86 |
| 8.5.- MATERIAL E METODO: | 87 |
| 8.6.-RESULTADOS | 90 |
| 8.7.-DISCUSSÃO | 96 |
| 8.8.-CONCLUSÃO | 98 |
| 8.9.-BIBLIOGRAFIA | 99 |
| 9.-CONCLUSÕES GERAIS | 105 |

1.-RESUMO GERAL

O camarão-rosa *F. duorarum* é a espécie mais capturada no Golfo do México e no Mar do Caribe. Na atualidade a pesca desta espécie está colapsada. O cultivo pode ser uma alternativa para a produção e provavelmente para a sua conservação. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer a condição fisiológica e imunológica de *F. duorarum* em um sistema chamado de Bio-Floc Technology (BFT) o qual trabalha com fertilização orgânica, altas densidades de estocagem, aeração intensiva, troca mínima de água e controlando a relação C:N. Pode se estabelecer que o êxito destes sistemas de cultivo de camarões poderia estar associado com o aporte de proteína microbiana e sua consequência no estado fisiológico e de saúde geral dos organismos. Realizou-se um desenho experimental de dois tratamentos com quatro réplicas constituídas por oito tanques circulares com capacidade de 20 m³ durante 118 dias. O tratamento AC manteve uma troca de 30% diário e sem fertilização orgânica, para o Tratamento BFT foi adicionado melão de cana de açúcar para manter a relação nominal C:N 20:1. Foram utilizadas juvenis de uma grama, produzidos no laboratório de larvicultura de camarões da UMDI-UNAM estocados a uma densidade de 100 juvenis/m² e alimentados com ração comercial. A cada mês foram realizadas amostragens de hemolinfa para avaliar os metabolitos sanguíneos e variáveis como a Hemaglutinação, estouro respiratório, contagem de hemócitos totais e a atividade da profenol-oxidase (proPO). Foi medido o consumo de oxigênio ao longo do experimento. Houve diferenças significativa ($p < 0.05$) entre os tratamentos mostrando uma melhor condição fisiológica e imunológica nos camarões do tratamento BFT. O crescimento dos camarões durante os primeiros 100 dias de cultivo foi melhor no tratamento AC. Os metabolitos sanguíneos indicam que os camarões de ambos os tratamentos se nutrem da ração, mais os indicadores imunológicos e o consumo de oxigênio parecem indicar que os flocos microbianos estimulam uma melhor condição de saúde para resistir períodos de estresse ambiental como a baixa na temperatura apresentada na metade do experimento.

2.-ABSTRACT

The pink shrimp *F. duorarum* is the species most caught in the Gulf of Mexico. Currently fishing for this species is collapsed. The culture can be an alternative for the production and probably for conservation. The aim of this study was to establish the physiological and immunological condition *F. duorarum* in a recently called Bio-Floc Technology (BFT) which works with organic fertilization, high stocking densities, intensive aeration and minimum water turnover, controlling the C: N. It is possible to establish that the success of these systems of shrimp farming could be associated with protein intake and their influence on the physiological status and general health of organisms. Experimental design was conducted two treatments with four replicates consisting of eight circular tanks with a capacity of 20 m³ for 118 days. The AC treatment (clear water) maintained a daily turnover of 30% without organic fertilization; Treatment BFT cane molasses was added to maintain the nominal C: N 20:1. We used one gram juveniles produced in the laboratory of the shrimp larviculture UMDI-UNAM seeded at a density of 100 juveniles/m² and fed commercial feed. Each month was from samples where hemolymph samples were evaluated blood metabolites and variables such as hemagglutination, respiratory burst, and total count hemocytes activity Profenol-Oxidase (prop). We measured oxygen consumption during the experiment. There were significant differences ($p < 0.05$) between treatments, showing a better physiological and immunological condition in shrimp BFT treatment, even when growth during the first 100 days of culture was better in the AC treatment, blood metabolites indicated that shrimp of both treatments were fed the balanced feed, plus the immunological indicators and oxygen consumption suggest that microbial flocs stimulate better health condition to withstand periods of environmental stress such as low temperature presented in half of the experiment.

3.-INTRODUÇÃO GERAL:

Importancia da Aquicultura e a Carcinicultura

A aquicultura mundial desenvolveu-se consideravelmente nos últimos 50 anos, desde uma produção de menos de um milhão de toneladas no começo da década de 50, até um registro de 51,7 milhões de toneladas com um valor de US\$ 78 800 bilhões em 2006. Isso significa que a aquicultura segue crescendo a um ritmo maior que outros setores da produção de matérias de origem animal. Em quanto à produção da pesca cessou de crescer no meio da década de 80, o setor aquícola mantém uma taxa de crescimento médio anual de 8,7 % em todo o mundo desde 1970. A contribuição da aquicultura ao fornecimento mundial de crustáceos tem crescido rapidamente no último decênio, e alcançou 42 % da produção mundial em 2006, porém, nesse mesmo ano, proporcionou 70 % dos camarões (peneideos) produzidos no mundo. A maior parte das espécies marinhas cultivadas possui um elevado valor comercial, o que algumas vezes se deve ao tamanho reduzido das populações naturais ou ao processo de diminuição delas mesmas (FAO, 2009).

Com um aumento de volume da produção, comércio e consumo há uma crescente demanda por melhor sustentabilidade, aceitabilidade social, e segurança da saúde humana pelo setor da aquicultura. Isso não está afetando somente o comércio internacional e pressionando os produtores para focar em métodos de produção que atendam a esses quesitos, mas está também desafiando os países produtores para que esses desenvolvam e programem políticas e estruturas institucionais adequadas e apropriadas para prover um ambiente voltado para a produção e o comércio responsáveis (NACA, 2006)

Atualmente a pesar de a carcinicultura ser uma das atividades de cultivo mais polêmicas em nível mundial, o cultivo de camarões tem sido um dos setores da aquicultura de maior crescimento na Ásia e América Latina, e mais recentemente na África. A rápida expansão da carcinicultura tem gerado lucros substanciais para países em desenvolvimento, assim como em países desenvolvidos, porém acompanhado por preocupações crescentes relacionadas com os impactos ambientais e sociais. Além disso, a sustentabilidade da carcinicultura nos últimos anos está sendo questionada, devido entre outras coisas, pela introdução de patógenos, que resultam em importantes brotes de doenças e significativa perda econômica em países produtores (NACA, 2006).

Problemas da Atividade Aquícola:

A intensificação da indústria da aquicultura foi acompanhada em alguns casos da poluição ambiental (acúmulo de nitrogênio e fósforo, causando eutrofização) e da severidade crescente de manifestações da doença. O nível de intensificação exige maior quantidade de ração, maiores quantidades de proteína que contribuem por sua vez à poluição por nitrogênio no sistema de cultivo. A decomposição de algas mortas, ração não comida e excreções dos animais cultivados liberam o nitrogênio adicional sob a forma da amônia e nitrito os quais amplificam o nível da toxicidade do nitrogênio a través de variações de pH. As concentrações elevadas de amônia afetam o crescimento, muda consumo do oxigênio e mesmo a excreção da amônia, e pode eventualmente causar a mortalidade dos animais. A maior concentração de nitrito no meio ambiente afeta negativamente o desempenho do crescimento (Jiang, *et al.* 2000; Mallasen e Valenti 2006; Chen, *et al.* 2006).

Sistemas Alternativos de Cultivo para Alcançar a Sustentabilidade

Até hoje muitas técnicas como os sistemas foto autotróficos, com fitoplancton (Mc Neil, 2000; Brune, *et al.* 2003; Hargreaves, 2006) troca freqüente de água (Hopkins, *et al.* 1993; Hopkins, *et al.* 1995; Sandifer e Hopkins, 1996; Moss, *et al.* 2001) e o uso de biofiltros (Lei e Wen, 2001; Nelson, *et al.* 2001; Gautier, *et al.* 2001 Jones, *et al.* 2002;) têm sido usados para remover o excesso de nitrogênio. Assim, a procura para desenvolver uma estratégia para remover ou aperfeiçoar o nível de tais compostos tóxicos na água do viveiro transformou-se uma prioridade (Boyd *et al.*, 1998; Amit *et al.*, 2008) O desenvolvimento de novas tecnologias para engorda de camarões em sistemas ambientalmente amigáveis é requisito para satisfazer a crescente demanda de produtos saudáveis e de alta qualidade do camarão. Para satisfazer estas demandas, os carcinicultores devem considerar a exclusão de doenças no sistema de produção e também proteger os ecossistemas aquáticos adjacentes das fazendas. A situação atual da indústria do cultivo de camarão impõe desafios que terão que ser superados aproveitando a infra-estrutura científica dos países produtores. A substituição de farinha de pescado, a formulação de rações que ajudem a mitigar os efeitos das doenças, o uso adequado do alimento natural, e o manejo da ecologia microbiana, entre outros serão à base das pesquisas em nutrição dos camarões peneídeos cultivados. Estas pesquisas estarão particularmente influenciadas pelas variáveis do mercado, pelas pressões em

política ambiental, e a disponibilidade de insumos, entre outros fatores (Andreatta e Rosas, 2006).

Sistema BFT (Bio-Floc-Technology)

O objetivo do sistema heterotrófico ZEAH (Zero Exchange Aerobic and Heterotrophic System) (Wasielesky, *et al.* 2006) mais recentemente chamado na literatura científica de Sistema BFT (Bio Floc Technology) (Avnimelech, 2007, Azim e Little, 2008; Avnimelech e Kochba, 2009) é promover e potencializar o desenvolvimento de comunidades bacterianas heterotróficas nos sistemas de cultivo, que tem a habilidade de sintetizar proteínas que são aproveitadas pelos camarões, a partir de carbono orgânico e dos dejetos nitrogenados. Para isso, esse sistema requer de uma constante e abundante aeração da água nos tanques, com o objetivo de manter os sólidos suspensos. As bactérias heterotróficas colonizam as partículas dos dejetos e absorvem nitrogênio, fósforo e outros nutrientes da água (Wasielesky, *et al.* 2006; Serfling, 2006). Outra vantagem em relação ao controle dos efluentes em sistemas heterotróficos, segundo Andreatta e Rosas (2006), é o aporte nutricional do meio que segundo eles, também fortalece a imunologia dos organismos. No entanto os microorganismos presentes neste tipo de cultivo proporcionam nutrientes adicionais para os camarões e contribuem para manter a boa qualidade de água. (Otoshi, *et al.* 2001; Burford, 2004b Ballester *et al.* 2007). Além dos benefícios diretos, têm se demonstrado que o alimento vivo aumenta a atividade das enzimas digestivas aumentando a assimilação da ração (Guzmán *et al.*, 2001), o qual ao final afeta também os metabolitos sanguíneos. Assim o resultado obtido até agora em condições de laboratório com águas claras são evidentemente limitados já que estas condições diferem significativamente das que os camarões experimentam em viveiros de cultivo as quais afetam a fisiologia dos organismos de maneira importante (Rosas *et. al* 2002).

Características da espécie *Farfantepenaeus duorarum*

O camarão-rosa *F. duorarum* foi a espécie mais importante na pesca no sul do Golfo de México (Gracia, 1995) entre tanto atualmente a atividade encontra-se em colapso. No começo dos anos 70 a pesca alcançou um pico de produção de quase 27000 ton por ano, das quais 90% era camarão-rosa. Hoje, o rendimento é de 3000 ton por ano e o camarão-rosa contribui com menos de 1000 ton. (Arreguín-Sánchez 2008). O camarão-rosa no meio natural é exposto a diferentes pressões ambientais, que incluem

sobre pesca, poluição, efeitos da atividade petroleira e operações marinhas que vem sendo desenvolvidas ao longo do Golfo do México e do Atlântico americano (Balcom, 1994). A maricultura poderia ajudar a preservar a diversidade biológica como atividade econômica de sucesso, oferecendo uma alternativa à pressão predatória sobre espécies aquáticas normalmente capturadas. Assim gerando um alívio local e indiretamente mundial (Soto e Jara, 1999) já que na atualidade o desenvolvimento de fazendas de camarão está baseado em espécies amplamente domesticadas e usualmente exóticas para muitos países. Porém para manter a sustentabilidade, é preciso desenvolver programas de domesticação de espécies nativas (Gaxiola, *et al.* 2008).

Com relação ao potencial aquícola, tem se observado que é uma espécie muito carnívora (Sánchez, 1997). Por esta razão, é necessária uma alternativa de cultivo onde se ofereça uma maior quantidade de alimento vivo. Provavelmente o meio heterotrófico proporcione uma maior quantidade de presas vivas e com isso, venha suprir suas necessidades de proteína animal (Tacon, 2002; Cuzón G. IFREMER, com. pess.).

Indicadores do Estado de Saúde dos Camarões

Segundo Andreatta e Rosas (2006) e Wasielesky *et al.* (2006) pode se estabelecer que o êxito dos ambientes heterotróficos em cultivo dos camarões poderia estar associado com o contribuição de proteína e sua consequência no estado de saúde geral dos organismos. No entanto, a alta variabilidade dos sistemas heterotróficos impõe a necessidade de buscar indicadores nutricionais (como o índice hepatossomático, o ganho de peso e a avaliação de metabolitos sanguíneos como a glicose, colesterol e triglicerídeos, e os imunológicos (como a atividade da proPO, a quantidade e qualidade de hemócitos, o fator de hemaglutinação e o estouro respiratório) que permitam estabelecer quando um cultivo desta natureza é adequado ou não para uma determinada espécie.

Os camarões possuem um sistema circulatório aberto (Bayne, 1990). O coração distribui a hemolinfa a través de artérias, até chegar aos seios, onde os diferentes órgãos são banhados. Este sistema permite que as proteínas de reconhecimento e os hemócitos circulatórios tenham uma maior probabilidade de encontrar os elementos estranhos. Por outro lado, a presença de hemócitos fixos em tecidos como as brânquias e a glândula digestiva de diversos crustáceos proporciona uma elevada capacidade para isolar aos

agentes infecciosos nos lugares de maior contato com o meio (Smith e Ratcliffe, 1980; Van de Braak *et al.*, 2002).

O sistema imunológico participa na manutenção da integridade biológica de qualquer organismo, já que permite reconhecer e neutralizar partículas invasoras nocivas (microorganismos patógenos, por exemplo) provenientes do ambiente ou dos processos fisiológicos. Considera-se que a imunidade dos invertebrados é muito simples, já que carecem de alguns mecanismos presentes nos vertebrados, como as imunoglobulinas e a memória imunológica. No obstante, os crustáceos constituem um dos grupos mais antigos e diversificados no reino animal, e sob essa perspectiva, representam uma importante soma de estratégias exitosas contra as infecções (Dunn, 1986; Karp, 1990). Os mecanismos de defesa dos crustáceos incluem barreiras físicas passivas e uma resposta ativa contra organismos invasores. Nos camarões, as barreiras físicas passivas estão representadas por o rígido exoesqueleto e a membrana peritrófica que envolve o bolo alimentar para proteger o epitélio do sistema digestivo (Dunn, 1990), em quanto à resposta ativa implica normalmente uma rápida mudança no número de células circulatórias, e a síntese de novas proteínas na hemolinfa (Destoumieux *et al.*, 2000; Johansson, *et al.* 2000). Em adição, mecanismos hemostáticos reparam as feridas no tegumento interno para limitar a extensão de possíveis infecções a través do processo de coagulação (Gillespie e Kanost, 1997). Quando essas barreiras são transpostas, e não são suficientes para impedir a penetração de patógenos, desencadeia-se no hospedeiro uma série de reações imunológicas complexas com o objetivo de neutralizar e eliminar os agentes invasores (Barracco, *et al.* 2008)

Os hemócitos dos decápodes são considerados como a primeira linha de defesa, já que participam diretamente em processos de reconhecimento, processamento e amplificação da resposta imune (Söderhal, 1982; Söderhäll e Häll, 1984; Johansson e Söderhäll, 1988). Com base em critérios morfológicos e bioquímicos os hemócitos dos crustáceos têm sido caracterizados em três subtipos: células hialinas, com grandes grânulos e semi-granulares (Johansson, *et al.* 2000). Pesquisas recentes sinalam a vinculação entre os hemócitos e elementos séricos da resposta imune, como as peneidinas e crustinas (Vargas-Albores *et al.*, 2004), as quais são péptidos com atividade antimicrobiana (Destoumieux *et al.*, 2000; 2001). Também tem-se detectado a associação dos hemócitos com peroxinectinas, que apresentam função opsonizante e

atividade de peroxidase (Johansson *et al.*, 1995; Johansson, 1999). A amplificação da resposta imune dos crustáceos está diretamente relacionada ao sistema profenoloxidase (proPO) (Hernández-López *et al.*, 1996; Gollas-Galván *et al.*, 1997;1999) e o sistema de coagulação (Montaño-Pérez *et al.*, 1999), ambos sistemas são multiméricos e sua ativação requiere da exocitosis regulada pelos hemocitos circulatorios (Söderhäll e Häll, 1984; Johansson *et al.*, 2000).

Tem se demonstrado que os conhecimentos dos processos imunológicos associados à bioquímica fisiológica permitem determinar o estado de saúde dos camarões (Bachère *et al.*, 1995; Le Moullac *et al.*, 1998a). As variações da capacidade osmótica e a concentração dos metabolitos plasmáticos têm sido utilizadas para determinar o estado fisiológico em relação ao tamanho, o estágio de muda e a presença de contaminantes (Lin e Ting, 1994; Lignot *et al.*, 1997), ao oxigênio dissolvido (Charmantier *et al.*, 1994), a qualidade dos reprodutores (Palacios *et al.*, 1999b; Racotta e Hernández-Herrera, 2000; Pascual, 2000b; Sánchez *et al.*, 2001) ao tipo de alimentação (Rosas *et al.*, 2000; 2001b; 2002). Dentre dos indicadores do estado nutricional e imunológico se encontram diversos componentes sanguíneos que têm sido estudados em várias espécies de camarões, tanto cultivados como nativos. Dentro destes estudos tem-se notado que as proteínas têm um papel fundamental no metabolismo dos camarões, sendo as moléculas responsáveis tanto pelo estado nutricional como pelo sistema imune (Pascual, 2000; Rosas *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2003a; Pascual *et al.*, 2003b). Pelas implicações na tolerancia ambiental, os ajustes produzidos para a manutenção da pressão osmótica interna tem sido utilizados como indicadores do estado fisiológico de camarões (Lignot *et al.*, 2000), enquanto que os níveis de glicose, colesterol, acilglicéridos, proteínas, hemocianina e lactato tem sido utilizados para conhecer o estado nutricional (Racotta e Palacios, 1998; Rosas *et al.*, 2001a; Rosas *et al.*, 2002).

Indicadores do Estado Fisiológico dos Camarões

A hemolinfa dos camarões é um meio adequado para o estudo dos marcadores de situação nutricional, todavia poucos trabalhos têm sido dirigidos ao desenho e validação de indicadores em camarões peneídeos. Os marcadores do estado nutricional mais utilizado no sangue e na hemolinfa, tem sido as proteínas. A hipótese é que a concentração de proteínas no sangue se correlaciona com a quantidade total no corpo do

animal e na velocidade de troca protéica. A concentração de proteínas está determinada por três fatores: A velocidade de biossíntese, o volume e características da distribuição corporal e a velocidade de catabolismo (Carrillo, *et al.* 2006).

A hemocianina é uma proteína transportadora de oxigênio que representa entre 60 e 95% do total de proteínas da hemolinfa dos crustáceos. Esta proteína pode funcionar além de transportadora de oxigênio, também como armazenamento protéico (Cuzón e Ceccaldi, 1971; Cuzón *et al.*, 1980). Em caranguejos foi encontrado que seus níveis estão diretamente relacionados com o estado nutricional (Terwilliger, 1998). Para ser considerado um bom indicador, é preciso avaliar sua velocidade de mudança e se o efeito da hipoxia, a salinidade e o amônio sobre seus níveis em hemolinfa afetam a resposta nutricional. Pascual *et al.* (2003) estudaram os níveis de lactato, colesterol, triacilglicéridios, proteínas totais e hemocianina em camarões *L. vannamei* selvagens e cultivados. Neste estudo os autores encontraram uma interação entre o tipo de população estudada e o tipo de dieta. Rosas *et al.* (2001a) estudaram o efeito da conjugação do nível de carboidratos na dieta e a salinidade sobre os níveis de glicose e proteínas na hemolinfa de *L. vannamei* e encontraram um efeito do nível protéico da dieta sobre a concentração de proteínas na hemolinfa. Rosas *et al.* (2001b) também encontraram uma relação entre os níveis de proteínas e amônio na hemolinfa.

Estes resultados sugerem a possibilidade de avaliar o estado nutricional a partir do estudo dos componentes da hemolinfa. Pascual *et al.* (2004) analisaram a carência de dados sobre os níveis de componentes da hemolinfa de camarões do meio natural e de cultivo e a necessidade de verificar se estes respondem a uma distribuição normal na espécie estudada e enfatizaram sobre a necessidade de se ter dados de referência para *L. vannamei*. Estes autores propuseram, a partir de seus resultados e da comparação com os dados encontrados por outros pesquisadores, que os níveis de oxihemocianina, de proteínas totais, de glicose e de lactato podem resultar úteis como indicadores da referência do estado fisiológico dos camarões (Carrillo, *et al.* 2006).

A Bioenergética e especificamente a Ecologia Energética se dedicam à análise das taxas de gasto de energia, perdas, ganho e as eficiências das transformações de esta, em termos de unidades ecológicas em condições de campo. Desde um enfoque eco fisiológico pode se avaliar a energia dos organismos a partir do alimento, as propriedades nutritivas e seu valor energético, seu consumo, assimilação e a sua

distribuição para cobrir os diferentes custos metabólicos no organismo. Esta cobertura depende de condições como a temperatura, pH, oxigênio dissolvido, fotoperíodo, salinidade, turbidez, sexo, comprimento, peso, idade, alimentação, densidade de estocagem, fase de muda, entre outros fatores (Duncan e Klekowski, 1975). A respiração (R) nos organismos heterótrofos se inicia com a glicólise e termina com a fosforização oxidativa, pelo que a quantidade de oxigênio consumido por um animal tem um equivalente de energia em termos de moléculas de ATP (Zubay, 1983). A quantidade de energia produzida nos processos catabólicos acoplados ao ciclo de Krebs, encontram-se dentro da energia investida na respiração (Lucas, 1993; Guerin e Stickle, 1997; Rosas *et al.*, 1998). A taxa respiratória tem sido amplamente estudada em crustáceos em relação com a salinidade, a temperatura, o oxigênio dissolvido, a quantidade e qualidade do alimento, etc., já que é um bom indicador do estado fisiológico dos animais (Chen e Chen, 1993, Chen e Lin, 1998, Ferraris, *et al.*, 1994, Rosas, 1999, Rosas, *et al.*, 2000., Rosas, *et al.*, 1999, Rosas, *et al.*, 1995, Rosas, *et al.*, 1997, Rosas, *et al.*, 1992)

Os limites de tolerância de uma espécie, frente a uma condição ambiental particular, não são fixos já que estão sujeitos a história de vida dos indivíduos, revelando assim, a profunda associação entre o grau de compensação homeostática e a condição fisiológica dos organismos (Newell, 1976; Torres, 1995). Neste sentido, os marcadores da condição fisiológico-imunológica são importantes para aprofundar no entendimento dos mecanismos compensatórios que utilizam os organismos frente a mudanças ambientais, deficiências nutricionais e presença de patógenos (Andreatta e Rosas, 2006).

4.-OBJETIVO

Por esta razão o presente estudo teve por objetivo geral conhecer a forma como o meio heterotrófico atua sobre a condição fisiológica e imunológica de *F. duorarum*, a través do monitoramento dos metabolitos da hemolinfa, com a finalidade de determinar se esse tipo de cultivo é apropriado para esta espécie.

5.-BIBLIOGRAFIA:

- Amit, K. S., Kartik B. & Bossier, P. 2008 Horizon Scanning: The Potential use of Biofloc as an anti-infective strategy in Aquaculture. *Aquaculture Health International* 13 8-10 June.
- Andreato, E. R. Rosas, V. C. 2006 Perspectivas en la Investigación en nutrición de camarones Peneidos En: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED 322 p.
- Arreguín-Sánchez, F., Zetina-Rejón, M., Ramírez-Rodríguez, M. 2008. Exploring ecosystem based harvesting strategies to recover the collapsed pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum*) fishery in the southern Gulf of Mexico. *Ecological Modelling* 214, 83-94
- Avnimelech, Y. & Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture* 287, 163–168
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140-147
- Azim, M. E. & Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* *Aquaculture* 283, 29-35
- Bachère, E., Mialhe, E., Noël, D., Boulo, V., Morvan, A., Rodríguez, J., 1995. Knowledge and research prospect in marine mollusc and crustacean immunology. *Aquaculture* 132, 17-32.
- Balcom, B.1994. Dispersed oil toxicity tests with species indigenous to the Gulf of Mexico. Rep MMS: 14-35-0001-30617, Minerals Management Service, pp 1–8 (Em Rosas, 2007)
- Ballester E.L.C., Wasielesky, W., Cavalli, R. O. and Abreu P. 2007.Nursery of Pink Shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates Biofilm composition and Shrimp performance. *Aquaculture* 269, 355-362
- Barracco, M.A., Perazzolo, L.M. e Rosa, R. D. (2008) Inmunología del Camarón En: Morales, Q.V. e Cuellar, A. J. Editores (2008) Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. CYTED.Panamá 2008
- Bayne, C. J., 1990. Phagocytosis and non-self recognition in invertebrates. *Bioscience* 40, 723-731.

- Boyd, C. E., Massaut, L. and Weddig, L. J. 1998. Towards reducing environmental impacts of pond aquaculture. INFOFISH 2, 27-33
- Brune, D.E., Schwartz, G., Eversole, A.G., Collier, J.A., Schwedler, T.E., 2003. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. Aquacult. Eng. 28, 65–86.
- Burford, M.A., Sellars, M.J., Arnold, S.J., Keys, S.J., Crocos, P.J. & Preston, N.P. 2004 Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-density rearing systems. Aquaculture Research, 35, 508–515.
- Carrillo, O., Zaldívar, C. y Rosas C. 2006. Marcadores de Situación Nutricional y de Salud En: Rosas, C.; Carrillo, O.; Wilson, R. e Andreatta, E.R. Editores, Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED pp 105-124
- Charmantier, G., Soyes, C., Aquacop, 1994. Effect of moult stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the peneid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Ecol. 178, 223-246.
- Chen, J. C., Cheng, S.-Y., 1993. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquatic Toxicology 27, 281-292.
- Chen, J. e Lin, J. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juvenile reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164: 173-181.
- Chen, S., Ling, J., and Blancheton, J.P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering* 34 (2006) 179–197
- Cuzon, G. e Ceccaldi, J. 1971 Evolution des proteines de l'hémolymphe de *P. keratulus* durant le Jeune. *Tethys* 3:247- 250 Em Carrillo, et al. 2006
- Cuzon, G., Cahu, C., Aldrin, F. J., Messenger, L., Stepan, G., Mevel, M. 1980. Starvation effect on metabolism of *P.japonicus*. *Proc World Maricult Soc* 11:410-423. Em Carrillo, et al. 2006
- Destoumieux, D., Moñoz, M., Bulet, P., Bachere, E., 2000. Peneidins, a family of antimicrobial peptides from penaeid shrimp (Crustace, Decapoda). *Cellular and Molecular Life Sciences* 57, 1260-1271.

- Destoumieux, D., Saulnier, D., Garnier, J., Jouffrey, C., Bulet, P., Bachere, E., 2001. Antifungal peptides are generated from the C terminus of shrimp hemocyanine in response to microbial challenge. *The Journal of Biological Chemistry* 276, 47070-47077.
- Duncan, A. and R.Z. Klekowski. 1975. Parameters of an energy budget. In: Grodzinsky, W. et al. *Methods for Ecological Energetics*. IBP 24. Blackwell Scientific Publication. Oxford. p:353–362
- Dunn, P. E., 1990. Humoral immunity in insect. *Bioscience* 40, 738-758.
- Dunn, P. E., 1986. Biochemical aspects of insect immunology. *Ann. Rev. Entomol.* 31, 321-339.
- FAO 2009. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome Italy. 196 p.
- Ferraris, R.P. Parado-Estepa, J. M. Ladia. y E.G. de Jesús. 1998. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *comp. bioch. Physiol.* 85A(4): 701-708.
- Gautier, D., Amador, G. and Newmark, F. 2001. The use of mangrove wetland as a biofilter to treat shrimp pond effluents: preliminary results of an experiment on the Caribbean coast of Colombia. *Aquaculture Research*, 32, 787-799
- Gaxiola, G., Arena L., Aragón, H., Emerenciano, M., Maldonado, J.C., Concha, W., Chiappa, X., Gamboa, J. and Cuzón, G. 2008. Some aspects of feeding and nutrition of native *Farfantepenaeus duorarum*. 410-420 pp. Editores L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Juan Pablo Lazo y Ma. Teresa Viana. *Avances en Nutrición Acuícola IX*. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola 24-27 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Gillespie, J. P., Kanost, M. R., 1997. Biological mediators of insect immunity. *Ann. Rev. Entomol.* 42, 611-643.
- Gollas-Galván, T., Hernández-Herrera, R., Vargas-Albores, F., 1997. Effect of calcium on the prophenoloxidase system activation of the brown shrimp (*Penaeus californiensis*, Holmes). *Comparative Biochemistry and Physiology* 117, 419-425.

- Gollas-Galván, T., Hernandez-Lopez, J., Vargas-Albores, F., 1999. Prophenoloxidase from the brown shrimp (*Penaeus californiensis*, Holmes) hemocytes. *Comp. Biochem. Physiol.* 122, 77-82.
- Gracia G. A. 1995. Impacto de la pesca artesanal sobre la producción del camarón rosado *Penaeus Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad, 1839. *Revista de Ciencias Marinas*, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México 21: 003 pp. 343-359
- Guerim, J.L y W.B. Stickle. 1997. Effect of salinity on survival and bioenergetics of juveniles lesser blue crabs, *Callinectes similis*. *Marine Biology* 129:63-69.
- Guzmán, C., Gaxiola, G., Rosas, C., Torre-Blanco, A., 2001. The effect of dietary protein and total energy content on the digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquaculture Nutrition* 7, 113-122.
- Hargreaves, J.A.2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 34, 344–363
- Hernández-López, J., Gollas-Galván, T., Vargas-Albores, F., 1996. Activation of the prophenoloxidase system of brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). *Comp. Biochem. Physiol.* 113C, 61-66.
- Hopkins, J.S., Hamilton, R.D., Sandifer, P.A., Browdy, C.L., Stokes, A.D. 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 304–320.
- Hopkins, S, Sandifer, P., Browdy, C. 1995. A review of water management regimes which abate the environmental impacts of shrimp farming. In: Browdy, C., Hopkins, S. Eds., *Swimming Through Troubled Water*, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, pp. 157–166.
- Jiang, D.H., Lawrence, A. L., Neill, W.H., and Gong, H. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 253 (2000) 193–209
- Johansson, M. W., 1999. Cell adhesion molecules in invertebrate immunity. *Dev. Comp. Immunology* 23, 315.

- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., Söderhall, K., 2000. Crustacean hemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191, 45-52.
- Johansson, M. W., Lind, M. I., Holmblad, T., Thörnqvist, P. O., Söderhal, K., 1995. Peroxinectin, a novel cell adhesion from crayfish blood. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 216, 1079-1087.
- Johansson, M. W., Söderhall, K., 1988. Isolation y purification of a cell adhesion factor from crayfish blood cells. *The Journal of Cell Biology.* 106, 1795-1803.
- Jones, AB, Preston, N.P., Denisson, W.C. 2002. The efficiency and conditions of oysters and macroalgae used as biological filters of shrimp pond effluent. *Aquaculture Research.* 33 1-19
- Karp, R. D., 1990. Cell-mediated immunity in invertebrates. *Bioscience* 40, 732-737.
- Le Moullac, G., de Labori, L. P., Saulnier, D., Goarant, C., Dehasque, M., 1998. Principles and problems involved in the evaluation of immunoestimulants on juvenile shrimp. In: Vol. IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, November 15-18, La Paz BCS, México, 1-10 pp.
- Lei, Y., Lin, S. and Wen, K.S. 2001. Biofilter Treatment of Aquaculture water for Reuse Applications. *Wat. Res.* 35:13, pp. 3097–3108
- Lignot, J. H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209-245.
- Lignot, J.H., Charmantier, G., Trilles, J.P., 1997. Effects of an organophosphorous insecticide, fenitrothion, on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.* 128, 307-316.
- Lin, S.-J., Ting, Y.-Y., 1994. Effects of mercury on the growth, hepato-somatic index, water content in muscle and osmotic and protein concentrations in the hemolymph of *Penaeus penicillatus*. *J. Taiwan Fish. Res.* 3, 41-51.
- Lucas, A., 1993. Bioénergétique des animaux aquatiques. Masson Ed. Paris, 171pp. Em Cuzon, 2006
- Mallasen M and Valenti W.C. 2006. Effect of nitrite on larval development of the giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 261. Pp 1292-1298

- McNeil, R., 2000.. Zero exchange, aerobic, heterotrophic systems: key considerations. *Global Aquacult. Advoc.* 3 (3), 72–76.
- Montaño-Pérez, K., Yepiz-Plascencia, G., Higuera-Ciapara, I., Vargas-Albores, F., 1999. Purification and characterization of the clotting protein from the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comp. Biochem. Physiol.* 122, 381-387.
- Moss, S.M., Arce, S.M., Argue, B.J., Otoshi, C.A., Fernanda R.O. Calderon, and Tacon, A.G.J. 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In Craig L. Browdy and Darryl E. Jory editors. *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA USA.
- NACA 2006. *International Principles for Responsible Shrimp Farming*. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). Bangkok, Thailand. 20 pp.
- Nelson, S.G., Glenn, E. P., Conn, J., Moore, D., Walsh, T. and Akutagawa, M. 2001. Cultivation of *Gracilaria parviflora* (Rhodophyta) in shrimp-farm effluent ditches and floating cages in Hawaii: a two-phase polyculture system. *Aquaculture* 193, 239–248
- Newell, R.C. 1969. Effect of fluctuations in temperature on the metabolism of intertidal invertebrates. *Am. Zool.* 9, 293-307.
- Otoshi, C. A., Montgomery, A.D., Look, A.M., Moss, S.M., 2001. Effects of diet and water source on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 32, 243-249.
- Palacios, E., Pérez-rostro, C. I., Ramirez, J. L., Ibarra, A. M., Racotta, I. S., 1999. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival y growth. *Aquaculture* 171, 309-321.
- Pascual, C., 2000. Immunological and biochemical aspects of *Penaeus setiferus* adult males, during acclimation period. *Universidad Nacional Autónoma de México*, 250 pp
- Pascual, C., Sánchez, A., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., LeMoullac, G., Rosas, C., 2003. Haemolymph metabolic variables y immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650.

- Pascual,C., Gaxiola,G., Rosas,C., 2003^a. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Marine Biology* 142, 735-745.
- Pascual,C., Sánchez,A., Sánchez,A., Vargas-Albores,F., LeMoullac,G., Rosas,C., 2003^b. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650.
- Pascual,C.,Zenteno, E.,Cuzon, G.,Suarez, J., Sánchez, A., Gaxiola, G., Taboada, G., Maldonado, T. & Rosas, C. (2004) *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary proteins *Aquaculture* 239 (2004) 375–395
- Racotta, I. S., Hernández-Herrera, R., 2000. Metabolic response of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 125A, 437-443.
- Racotta, I. S., Palacios, E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 351-356.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soyez, C., Van Wormhoudt, A., 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 249, 181-198.
- Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sanchez, A., Soto, L. A., 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 234, 41-57.
- Rosas, C., Pascual, C., López, N., Sánchez, A., 2002^a. Metabolitos sanguíneos como herramientas para evaluar el estado nutricional de camarones peneidos. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002.* Cancún, Quintana Roo, México.

- Rosas, C., Sanchez, A., Diaz-Iglesia, E., Brito, R., Martinez, E., Soto, L.A., (1997). Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *Penaeus schmitti* postlarvae (PL sub(10–18)) exposed to salinity changes. *Aquaculture* 152, 259–272.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soyez, C., Van Wormhoudt, A., 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Journal Experimental Marine Biology y Ecology* 249, 181-198.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., LePriol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sánchez, A., Van Wormhoudt, A., 2001^a. Metabolism y growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity y dietary carbohydrate levels. *Journal Experimental Marine Biology y Ecology* 259, 1-22
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., Van Wormhoudt, A., 2002^b. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 268, 47-67.
- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola G., Van Wormhoudt, A., 2001^b. Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus* juveniles (Crustacea, Decapoda ; Penaeidae). *Aquaculture Research* 32, 1-20.
- Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sánchez, A., Soto, L.A., 1999. Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Penaeus setiferus*. *Journal of Crustacean Biology* 19(2), 67-75.
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L., Gaxiola, G., Brito, R., Baes, M.I., Pedroza, R., 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effects of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8, 161-169.
- Rosas, C., Sánchez, A., Soto, L., Escobar, E., Bolongaro-Crevanna, A., 1992. Oxygen consumption and metabolic amplitude of decapod crustaceans from Northwest Continental Shelf of the Gulf of México. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A(3), 491-496

- Rosas, C., Martínez-E., Gaxiola-G., Brito-R., Díaz-Iglesia-E., Soto-L. A. 1998. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. Marine-Ecology-Process-Series. 174: 67-75.
- Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez A., Vargas-Albores, F., Le Moullac, G., Rosas, C., 2001. Hemolymph metabolic variables y immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. Aquaculture 198, 13-28.
- Sánchez, A. J. 1997. Habitat preference of *Penaeus duorarum* Burkenroad (Crustacea: Decapoda) in a tropical coastal lagoon, southwest Gulf of Mexico Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 217, 107-117
- Sandifer, P.A., Hopkins, J.S. 1996. Conceptual design of a sustainable pond-based shrimp culture system. Aquacult. Eng. 15, 41-52.
- Serfling, S., A. 2006. Microbial flocs: Natural treatment method reports fresh-water, marine species in recirculating systems. Global Aquaculture Advocate. June, 34-36
- Smith, V., Ratcliffe, N. A., 1980. Host deference reactions of the shore crab, *Carcinus maenas* (L.): clearance and distribution of the injected test particles. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 60, 89-102.
- Söderhal, K., 1982. Prophenol oxidase system and melanization: a recognition mechanisms in arthropods. Com. Immunol. 6, 601-611.
- Söderhäll, K., Häll, L., 1984. Lipopolysaccharidae-induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish hemocyte lysate. Biochimica et Biophysica Acta 797, 99-104.
- Soto, D. y F. Jara. 1999. Relevance of ecosystemic services provided by species assemblages: coupling salmon farming with biological diversity use and management. En: Schei, Sandlund y Stran (Eds), Norway/UN Conference on the ecosystem approach for sustainable use of biological diversity pp 133-137.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P. & Decamp, O.E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets Aquaculture Nutrition 8,121-137
- Terwilliger, N. B. 1998. Functional adaptations of oxygen-transport proteins. The Journal of Experimental Biology 201:1085-1098 En Carrillo, et al. 2006 The role of the

- haematopoietic tissue in haemocyte production and maturation in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish & Shellfish Immunology* 12, 253-272.
- Torres, J., 1995. En el nombre de Darwin, Fondo de Cultura Económica, México.
- Van de Braak, C. B. T., Botterblom, M. H. A., Liu, W., Taverne, N., Van der Knaap, W.P.W., Rombout, J.H.W.M., 2002.
- Vargas-Albores, F., Yepiz-Plascencia, G., Jiménez-Vega, F., Ávila-Villa, A., 2004. Structural and functional differences of *Litopenaeus vannamei* crustins. *Comparative Biochemistry and Physiology*, B 138, 415-422.
- Wasielesky, Jr. W.; Atwood, H.; Stokes, A.; Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396-40
- Zubay, G. 1983. *Biochemistry*. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts. 1268 p. Em Rosas, 2003

6.-CAPITULO I

**CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DO CAMARÃO-ROSA DO GOLFO DO
MÉXICO *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) CULTIVADO EM
SISTEMA BFT (BIO-FLOC TECHNOLOGY)**

6.1.-RESUMO

Considerando que *F. duorarum* é uma espécie omnívora com tendências mais carnívoras, realizou-se o cultivo estimulando-se a formação de flocos microbianos para incrementar a quantidade de proteína disponível no sistema. O objetivo deste trabalho foi comparar o crescimento e a sobrevivência de *F. duorarum* em um sistema BFT, com uma troca mínima de água. Programou-se um desenho experimental de dois tratamentos com quatro réplicas constituídas por oito tanques circulares de fibra de vidro cobertos com geomembrana de PVC, com capacidade de 20 m³. Utilizou-se água marinha tratada por um filtro de areia. O tratamento AC (Água clara) manteve uma troca de 30% diária e sem fertilização orgânica, no Tratamento BFT (Bio-Floc Technology) foi feita uma inoculação inicial de diatomáceas *Chaetoceros gracilis* e quando a amônia atingiu 1 mg ml⁻¹ foi adicionado melão de cana de açúcar para manter a relação nominal C:N 20:1. Foram utilizadas juvenis de uma grama, produzidos no laboratório de larvicultura de camarões da UMDI-UNAM estocados a uma densidade de estocagem de 100 juvenis/m² e alimentados com ração comercial 40% de proteína bruta. Os parâmetros físicos e químicos se mantiveram estáveis e não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$) com exceção da temperatura que teve uma baixa em dezembro. Com respeito ao crescimento dos camarões, até os seis gramas o tratamento AC foi ligeiramente maior. Provavelmente isso se deve a formação de flocos microbianos que demorou aproximadamente 60 dias. Depois dos camarões atingirem as sete gramas o maior crescimento foi no tratamento BFT, provavelmente pela ingestão dos bioflocos microbianos. A sobrevivência nos tanques do tratamento AC foi maior (70%) que nos tanques BFT (57%). Os custos de produção e os efluentes foram bem maiores devido ao bombeamento permanente de água no tratamento AC. No entanto a sobrevivência e o crescimento no tratamento BFT foram aceitáveis para esta espécie considerando que ela tem bom mercado regional desde as cinco gramas e que neste tipo de sistema é possível utilizar uma grande densidade de estocagem.

6.2.-ABSTRACT

Whereas *F. duorarum* is a carnivorous species, culture was performed by stimulating the formation of microbial flocs to increase the amount of protein available on the system. The aim of this study was to compare growth and survival of pink shrimp in a BFT, with minimal water replacement. We developed an experimental design of two treatments with four replicates consisting of eight circular tanks fiberglass coated with PVC geomembrane, with a capacity of 20 m³. Treated seawater was used with sand filter. The AC treatment (clear water) maintained a daily turnover of 30% without organic fertilization, Treatment BFT (Bio-Floc Technology) were inoculated diatom *Chaetoceros gracilis* and when ammonia was 1 mg ml⁻¹ was added to molasses maintain the nominal C: N 20:1. We used juveniles of a gram, seeded at a density of 100 juveniles/m² and fed with commercial balanced 40% protein. The physical and chemical parameters were stable and no significant differences between treatments ($p > 0.05$) except for temperature which had a low in December. The growth of shrimp, up to six grams was better in the AC treatment, after seven grams of the highest growth was obtained in the BFT treatment, probably by ingestion of microbial flocs. Survival in the tanks of AC treatment was higher (70%) than in tanks BFT (57%). Production costs and the effluents were higher due to permanent water pumping in the AC treatment. However the survival and growth in BFT treatment were acceptable considering that this species has a good regional market from five grams and in this type of system you can use a planting density.

6.3.-INTRODUÇÃO

Tem se observado que *F. duorarum*, espécie nativa Del Golfo de México, tem hábitos predominantemente carnívoros (Sánchez, 1997). Por isso, em relação ao potencial aquícola desta espécie, é necessária uma alternativa de cultivo aonde se ofereça uma maior quantidade de alimento vivo. O material orgânico suspenso (bioflocos) gerado nos tanques de cultivo intensivo tem valor nutricional significativo para algumas espécies e permite aumentar as taxas de crescimento na sua presença (Tacon *et al.*, 2002). Provavelmente o meio heterotrófico proporcione uma maior quantidade de presas vivas e com isso, abasteça suas necessidades de proteína animal (Cuzón G. IFREMER, com pess.). Alguns pesquisadores têm estudado a possibilidade de cultivo de *F. duorarum* (Caillouet, 1972; Scki, 1973; Jannake, 1973; Caillouet, 1976; Tatum, 1978; Bottino, 1980; Gaxiola *et al.*, 2008). No México são poucos os trabalhos feitos para avaliar a engorda comercial de *F. duorarum*. López, *et al.*, (2001), cultivaram PL 10 de camarão rosa obtendo uma taxa de crescimento de 0.38 gr/semana. López, (2006) utilizou PL 20 de *F. duorarum* em cultivo intensivo em meio heterotrófico obtendo uma taxa de 0.92 g/semana. Na área de engorda experimental da UMDI-UNAM vem se realizando vários ensaios de cultivo desta espécie (cultivos autotróficos) com taxas de crescimento de até 0.89 g/semanal (resultados não publicados).

Nos últimos tempos, para melhorar a sustentabilidade e a biosegurança, se tem desenvolvido sistemas super-intensivos de engorda de camarões sem renovação de água. Minimizar a renovação de água é uma parte essencial da carcinicultura moderna e ambientalmente responsável. Reduzir a troca da água beneficia o produtor baixando custos de bombeamento e reduzindo a possibilidade de introduzir compostos tóxicos, patógenos, vetores de doenças ou outros organismos indesejáveis na fazenda. Isto também beneficia o ambiente reduzindo a descarga de nutrientes e de matéria orgânica das fazendas preservando recursos aquáticos (Decamp *et al.*, 2003; NACA,2006).

O cultivo de camarões com bioflocos é um sistema de produção que funciona com altas densidades de estocagem (de 100 até 700 camarões por m²) e é capaz de produzir elevadas biomassas de camarões em pequenas áreas de cultivo. Nos EUA, nesse sistema, os cultivos de camarões com bioflocos têm alcançado níveis de produção de quase 7 kg de camarões por m² e até 13 Kg/m³ utilizando-se volumes reduzidos de água

(Schweitzer, 2008; Wasielesky, 2006; Wasielesky, *et al.* 2009). Entretanto, para esses níveis de produção, equipamentos como removedores de sólidos e o uso de oxigênio são condições fundamentais para o processo. Uma consequência do aumento das densidades de estocagem de cultivo é o acúmulo de resíduos de ração, matéria orgânica e compostos nitrogenados inorgânicos que são tóxicos na água dos tanques. O acúmulo desses compostos ocorre porque os camarões retêm uma porcentagem muito pequena dos nutrientes presentes na ração e, como as quantidades de ração usadas nos cultivos com bioflocos são elevadas, uma grande parte dos resíduos gerados no processo se acumula na água do cultivo. Portanto, embora os camarões tolerem densidades de estocagem elevadas de cultivo, o aumento da biomassa de camarões nos sistemas intensivos compromete a qualidade ambiental (Avnimelech, 2006).

As recentes inovações têm demonstrado que protocolos apropriados de gestão podem reduzir as exigências de renovação de água, mesmo em sistemas altamente intensivos, sem nenhuma perda de desempenho dos camarões. Isto traz benefícios para todas as partes envolvidas e deve ser incentivado em todos os níveis (Lemonnier e Faninoz, 2006; NACA, 2006) O uso de sistemas heterotróficos sem troca de água começou a se desenvolver na década dos anos 70 com os trabalhos do grupo AQUACOP no Tahití (Polinésia Francesa), mantendo sistemas de cultivo de camarões baseados em bactérias nitrificantes em obscuridade total (Tacon, *et al.* 2002; Cuzón, *et al.* 2008); após esta fase, o sistema foi melhorado no Waddell Mariculture Center nos Estados Unidos no início dos anos 90 (Samocha, 2006; Wasielesky, *et al.* 2006). Na sequência o sistema de cultivo com bioflocos foi adaptado para fazendas comerciais em Belize (Belize Aquaculture Ltda.) (Burford, *et al.* 2003).

Os bioflocos são formados por macro-agregados ou partículas suspensas formadas na água de cultivo dos camarões e contém fitoplâncton (diatomáceas e outras microalgas), bactéria, zooplâncton, materiais detriticos, restos de exoesqueletos e organismos mortos e invertebrados (Chamberlain, 2001; Decamp, *et al.* 2003; Hari, 2004; Serfling, 2006, Crab, 2007, Manju, 2009) Segundo Andreatta e Rosas (2006), Wasielesky *et. al.* (2006) e Cuzón (2004) pode se estabelecer que o êxito dos ambientes heterotróficos em cultivo dos camarões poderia estar associado com o aporte de proteína e sua consequência no estado de saúde geral dos organismos. Não bastando, a alta variabilidade dos sistemas heterotróficos impõe a necessidade de buscar

indicadores nutricionais e imunológicos nos camarões que permitam estabelecer quando um cultivo desta natureza é adequado ou não para uma determinada espécie. O sistema BFT se apresenta como adequado sobre tudo para o cultivo de espécies ainda não domesticadas (Cuzon, 2008). Porém o presente trabalho tem os seguintes:

6.4.-OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o Crescimento e Sobrevivência do camarão rosa *Farfantepenaeus. duorarum* num sistema Bio-Floc Technology.

Objetivos Específicos

- Implementar um sistema de cultivo para camarões, com troca zero de água, através do controle da relação C/N;
- Caracterizar os parâmetros ambientais no meio de cultivo através do monitoramento dos Parâmetros Físicos e Químicos da água dos tanques.
- Comparar o crescimento de *F. duorarum* em sistema BFT e água clara.
- Comparar a sobrevivência de *F. duorarum* em sistema BFT e água clara.

6.5.- MATERIAIS E METODOS

Local do experimento:

O experimento foi conduzido na área de tanques externos da Unidade Multidisciplinar de Docência e Pesquisa (UMDI, pelas siglas em espanhol) da Faculdade de Ciências- Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus Sisal (Figura 1), localizada na região costeira noroeste do Estado de Yucatán (21°9'55.22 N, 90°1'54.93 W) no porto de abrigo em Sisal, município de Hunucmá em Yucatán, México (Figura 2).



Figura 1 Unidade Multidisciplinaria de Docência e Pesquisa-UNAM



Figura 2 Sisal, Yucatán-México

Animais experimentais:

As pós-larvas de camarão foram produzidas no laboratório de larvicultura da UMDI-UNAM, a partir de reprodutores selvagens capturados no Golfo do México. Foram utilizados juvenis de um grama de *F. duorarum* em uma densidade de 100 juvenis m^3 , em água marinha.

Desenho experimental:

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com dois tratamentos com três repetições cada, com duração de 118 días:

- Tratamento AC = Água clara, troca durante todo o experimento de 32% (5000 l/dia) diário de água
- Tratamento BFT = Sistema Bio-Floc Technology, sem troca de água

Foram usados oito tanques circulares de 5 metros de diâmetro e 0,85 m. de altura ($15 m^3$), com base de fibra de vidro cobertos com geomembrana de PVC Alkorplan® de 1,0 mm, protegidos com sombrite (50%) e rede anti-pássaros (Figura 3). Os tanques foram abastecidos com água do mar filtrada ($35 \pm 5 \%$). A aeração intensiva foi fornecida por meio de um soprador de ar (Sweetwater® 5HP). A drenagem foi modificada para poder excluir diariamente os sedimentos do fundo.



Figura 3 Área de Tanques Exteriores UMDI-UNAM

Sistema BFT (Bio-Floc Technology):

Para a preparação do Sistema BFT foi utilizado melaço, farelo de trigo e ração comercial. Foi realizada análise proximal (Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Autônoma de Yucatán) para determinar o conteúdo de Carbono e Nitrogênio na ração, no farelo de trigo e no melaço e poder manter a relação Carbono: Nitrogênio. Esta relação foi medida e balanceada de acordo com o conteúdo de cada ingrediente e dos dados dos compostos nitrogenados no tanque. O volume dos flocos foi medido com os Cones Imhoff[®] (Aquatic Ecosystems Inc.[®]).

No começo do experimento se agregou fertilizante Nutrilake[®] numa taxa de 100 Kg/ha Inoculou-se diatomáceas *Chaetoceros gracilis* a uma densidade de 2×10^4 células ml^{-1} . Além disso, foi feita realizada uma fertilização orgânica (Tabela 1), adicionando-se durante há primeira semana 620 g de melaço de cana e 200 g de farelo de trigo em cada tanque do tratamento BFT, (segundo a metodologia de Suita,2009) para dar substrato de fixação bacteriana e complementar assim junto com a ração, o aporte de N e C, mantendo uma relação C:N de 20:1 segundo Avnimelech, 1999.

Tabela 1. -Fertilização orgânica inicial

| Ingrediente | Quantidade (g) | MS (%) | Peso Seco (g) | Cinzas (%) | E (%) | PB (%) | PB (g) | | CHO (%MS) | CHO (%MU) | C (%MU) | C (g MU) |
|-----------------|-------------------|-----------|---------------------|---------------|----------|-----------|-----------|------|--------------|--------------|------------|-------------|
| <i>Melaço</i> | 620 | 8,3 | 51,46 | 0,2 | 0,5 | 1,5 | 0,77 | 4,90 | 98,6 | 8,18 | 4,09 | 25,36 |
| <i>F. Trigo</i> | 200 | 85,79 | 171,58 | 5,33 | 3,53 | 16,60 | 28,48 | 1,58 | 82,8 | 71,07 | 40,00 | 80,00 |
| <i>Ração</i> | 99,24 | 90,76 | 73,20 | 5,4 | 22,3 | 37,4 | 27,38 | 0,78 | 53,6 | 48,65 | 40,00 | 39,70 |

Os animais de ambos os tratamentos foram alimentados durante todo o período experimental em cinco porções iguais por dia com ração comercial Api-Camarón[®] com 40% de Proteína Bruta (PB), doada por Malta Clayton[®] México, duas vezes durante o dia e três na noite segundo a tabela de alimentação de Agribrands Purina[®], 2006 e a metodologia de alimentação em bandejas (Seiffert e Andreatta, 2004). Cada semana mediu-se a densidade dos flocos na água com os Cones Imhoff[®], adicionando um litro de água de cultivo aos cones e deixando sedimentar durante 15 minutos segundo a metodologia de Avnimelech, 2008.

Parâmetros Físicos e Químicos:

Os parâmetros físicos e químicos da água como temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente durante o dia (duas vezes) e a noite (três vezes), utilizando um Analisador multiparâmetros modelo SensION6-Hq40 da marca Hach[®], a salinidade foi medida com um refratômetro manual Fisherbrand[®] com compensador automático de temperatura. A transparência foi medida com um Disco de Secchi (Aquatic Ecosystems Inc.[®]); a Amônia Total (NAT), Nitrito (NO₂) e Nitrato (NO₃) com um kit para Amônio Saltwater Máster da marca Hach[®].

Análise Estatístico

Os valores de crescimento em peso, sobrevivência e conversão alimentar nas repetições de cada tratamento foram analisados com auxílio do software STATISTICA[®] versão 6.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA, $\alpha=0,05$) e após cumprir as premissas necessárias para analisar possíveis diferenças entre as repetições em um mesmo tratamento foi aplicado o teste t de Student para determinar se existiam diferenças significativas entre os tratamentos.

Desempenho dos camarões:**Crescimento**

Com intenção de manter os camarões livres de ou com o menor grau de estresse (posteriormente foram utilizados para outras avaliações), as biometrias foram feitas cada mês, amostrando-se 80 camarões, os quais foram levados ao laboratório, medidos com uma régua plástica e pesados numa balança digital Modelo Adventurer da marca Ohaus® com precisão de 0.01 gr. Os animais utilizados em cada biometria foram descartados.

Sobrevivência:

Ao final do período experimental todos os camarões foram coletados com puçá e contados individualmente para quantificar a sobrevivência.

Taxa de Conversão Alimentar (TCA)

A taxa de conversão alimentar foi calculada através da equação:

$$TCA = \text{Quantidade de Ração Fornecida} / \text{Biomassa Total Produzida}$$

A taxa foi calculada para as diferentes repetições e depois para os tratamentos.

6.6.-RESULTADOS:**Sistema Bio-Floc Technology (BFT):**

Após a fertilização inicial e o fornecimento constante de ração a amônia começou a se incrementar e quando atingiu um mg l^{-1} . Durante as semanas 3 e 6 foi agregado melaço de cana para controlar os níveis de amônia, considerando que 6 gramas de C servem para converter uma grama de N gerado em biomassa protéica (Samocho, 2007; Ebeling, 2006). O melaço foi adicionado somente quando foi necessário de acordo com os níveis de amônia. Na figura 4 pode se observar o consumo do melaço ao longo do experimento.

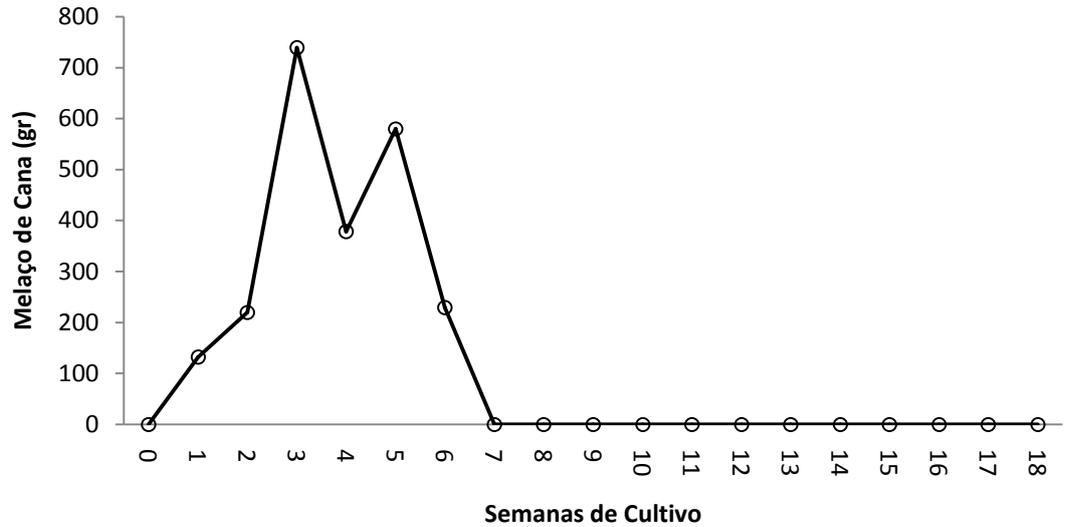


Figura 4 Suprimento de Melão de cana no tratamento BFT ao longo do experimento (118 dias)

A formação constante dos flocos demorou cerca de 45 dias. Na segunda semana foi agregada mais uma capa de sombrite para cada um dos tanques experimentais reduzindo a entrada de luz direta a 10%. A partir desse momento cada semana incrementou-se o volume dos flocos nos Cones Imhoff, descrito na Figura 5. Todos os dias pela manhã o cano da drenagem central foi retirado durante um minuto, deixando fluir aproximadamente 0,02% do volume total de água (aproximadamente 3,3 l) para a retirada do excesso de sedimentos, como sugerido por Mc Intosh, (2001), Avnimelech, (2006) e Cuzón, (2008). Nas Figuras 6,7 e 8 podem ser verificados alguns detalhes das observações dos bioflocos ao microscópio óptico.

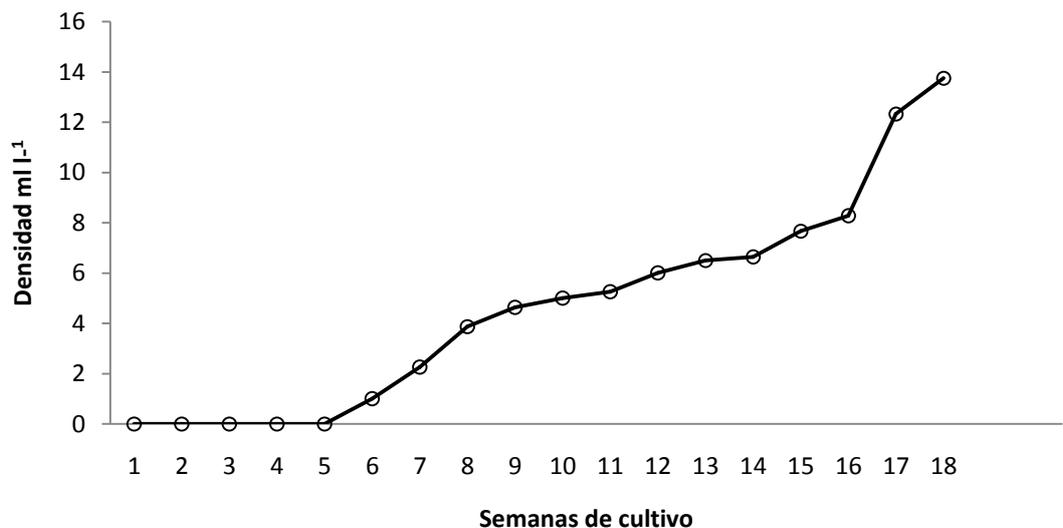


Figura 5 Densidade dos Flocos, registrado nos Cones Inhoff no Tratamento BFT ao longo do experimento

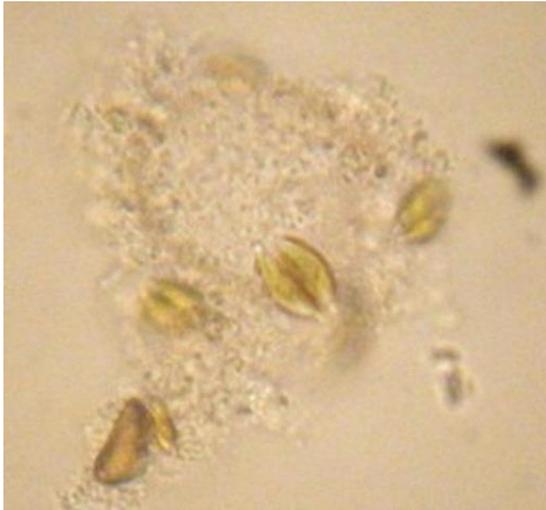


Figura 6 Diatômáceas nos Flocos Microscopio Optico (MO) 10X

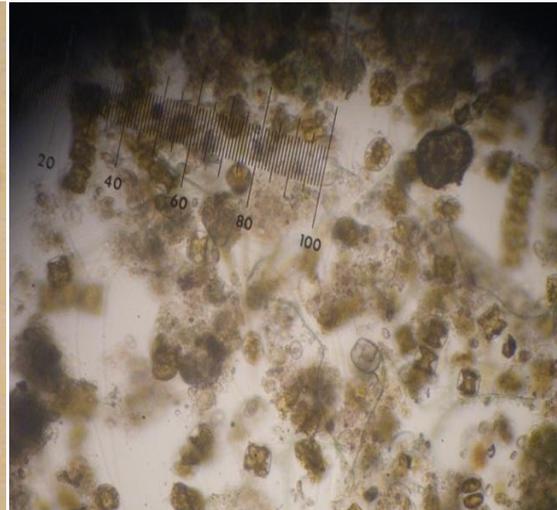


Figura 7 Regua indicando o Tamanho dos Flocos (MO) 10X

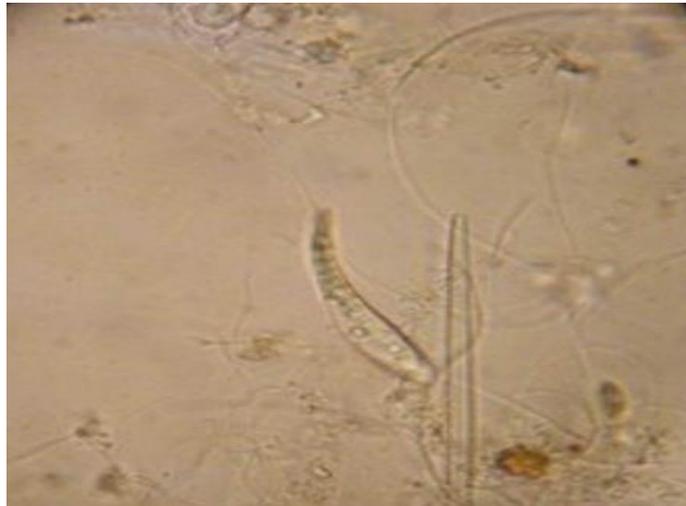


Figura 8 Nematódeos nos Flocos (MO) 10X

Ao final do experimento se fez um Analise Proximal dos Flocos, obtendo-se valores médios da composição proximal dos flocos podem ser vistos na tabela 2. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi constante em todas as amostras. A análise revelou altos teores de cinzas no período ao longo do experimento. O percentual de cinzas do presente estudo foi considerado elevado (entre 41-53%).

Tabela 2. Percentual (%) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), extrativo não nitrogenado (ENN), fibra bruta (FB) e cinzas em sete amostras finais de flocos

| Amostra | MS (%) | PB (%) | EE (%) | ENN*(%) | FB (%) | Cinzas (%) |
|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|-------------------|
| 1 | 95 | 26,48 | 2,62 | 27,16 | 2,13 | 41 |
| 2 | 95 | 23,18 | 2,65 | 25,21 | 2,3 | 46 |
| 3 | 91 | 22,56 | 1,93 | 24,04 | 2,61 | 48 |
| 4 | 94 | 21,41 | 3,22 | 20,58 | 2,12 | 52 |
| 5 | 94 | 22,5 | 3,17 | 22,80 | 2,35 | 49 |
| 6 | 95 | 21,47 | 3,44 | 21,11 | 2,44 | 51 |
| 7 | 96 | 19,81 | 1,74 | 23,59 | 1,81 | 53 |
| Media | 94 | 22,49 | 2,68 | 23,50 | 2,25 | 49 |

*Estimado por diferença [100 – (PB + EE + FB + Cinzas)]

Parâmetros Físicos e Químicos:

Os valores médios e os desvios padrão dos parâmetros físicos e químicos são apresentados na tabela 3. Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos em termos de temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade. A temperatura (Figura 10) se manteve sem diferenças significativas entre os tratamentos, mais houve uma diminuição bem marcada quando comparada ao início do experimento ($31,4^{\circ}\text{C}$) com os meses de dezembro a janeiro aonde se registraram temperaturas inferiores aos 19°C em ambos os tratamentos. No caso da amônia, nitrito e nitrato para o tratamento AC não foram registrados valores de acumulação destes compostos devido a constante troca de água. A transparência foi total ao longo do experimento para o tratamento AC. Quando se iniciou o incremento da amônia, o sistema foi controlado com a injeção de melão.

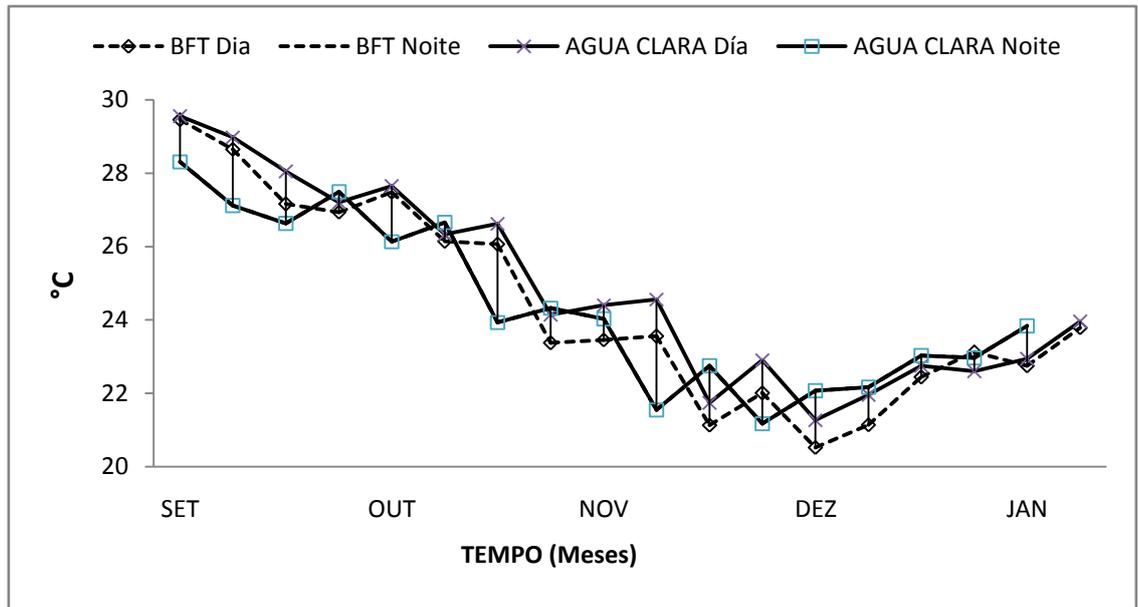


Figura 10 Temperatura dos tratamentos experimentais durante o dia e a noite ao longo do experimento

Tabela 3.- Médias (\pm DP) valores máximos e mínimos dos parâmetros físicos e químicos dos tanques experimentais de ambos os tratamentos durante o período experimental (118 Dias).

| | TRATAMIENTO A | | | TRATAMIENTO B | | |
|----------------------------------------------------|------------------|------------|------------|------------------|-------|------------|
| | AGUA CLARA | | | BFT | | |
| | Media | Max | Min | Media | Max | Min |
| Oxigênio (mg l^{-1}) | 7,07 \pm 0,53 | 7,59 | 5,94 | 6,75 \pm 0,68 | 7,84 | 5,52 |
| Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) | 24,4 \pm 2,72 | 31,4 | 18,6 | 24,36 \pm 2,25 | 31,6 | 18,3 |
| Salinidade | 38,63 \pm 1,41 | 41 | 37 | 38,84 \pm 1,21 | 40 | 35 |
| pH | 7,36 \pm 0,27 | 7,8 | 6,8 | 7,51 \pm 0,38 | 7,7 | 6,8 |
| Transparência (cm) | 57 \pm 2,87 | 60 | 42 | 21,91 \pm 3,21 | 24 | 17 |
| Amônia (mg l^{-1}) | 0,5 \pm 0,1 | \leq 0,5 | \leq 0,5 | 0,7 \pm 0,76 | 2,51 | \leq 0,5 |
| Nitrito (mg l^{-1}) | 0,5 \pm 0,1 | \leq 0,5 | \leq 0,5 | 4,69 \pm 3,57 | 10,23 | \leq 0,5 |
| Nitrato (mg l^{-1}) | 0,5 \pm 0,1 | \leq 0,5 | \leq 0,5 | 6,75 \pm 12,39 | 43,23 | \leq 0,5 |

Desempenho dos camarões:

Crescimento

Os parâmetros de desempenho dos camarões no sistema experimental são resumidos na tabela 4. O Crescimento de *F. duorarum* é mostrado na Fig.11. O crescimento no Tratamento Água Clara foi significativamente maior que o Tratamento BFT ($P < 0,05$) até o dia 88. Após o dia 100 no Tratamento BFT o crescimento foi melhor e houve uma diminuição de crescimento no tratamento AC.

Tabela 4. -Parâmetros de desempenho de *F. duorarum*

| | AGUA CLARA | BFT |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Pl/m2 | 100 ^a | 100 ^a |
| Peso inicial (g) | 1,17±0,27 ^a | 1,17±0,27 ^a |
| Peso final (g) | 6,29±1,08 ^a | 5,35±0,97 ^b |
| Sobrevivência (%) | 70,73±7,10 ^a | 57,69±3,11 ^b |
| TCA | 3,91±1,16 ^a | 1,99±0,65 ^b |
| Troca de água L/dia | 5200 ^a | 3,2 ^b |
| Rendimento Ton/ha | 4,75 ^a | 3,3 ^b |
| Taxa de Crescimento Diário % | 0,031 ^a | 0,034 ^a |

Letras diferentes indicam diferenças significativas $p > 0,05$

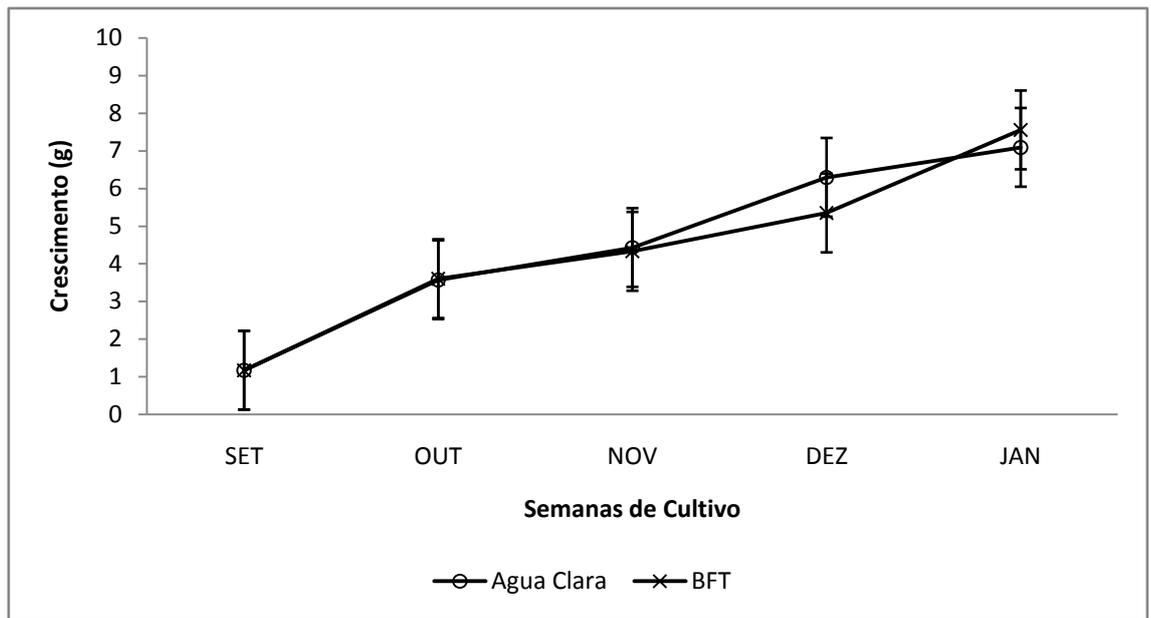


Figura 11 Crescimento de *F. duorarum* em ambos os tratamentos ao longo do período experimental (118 dias)

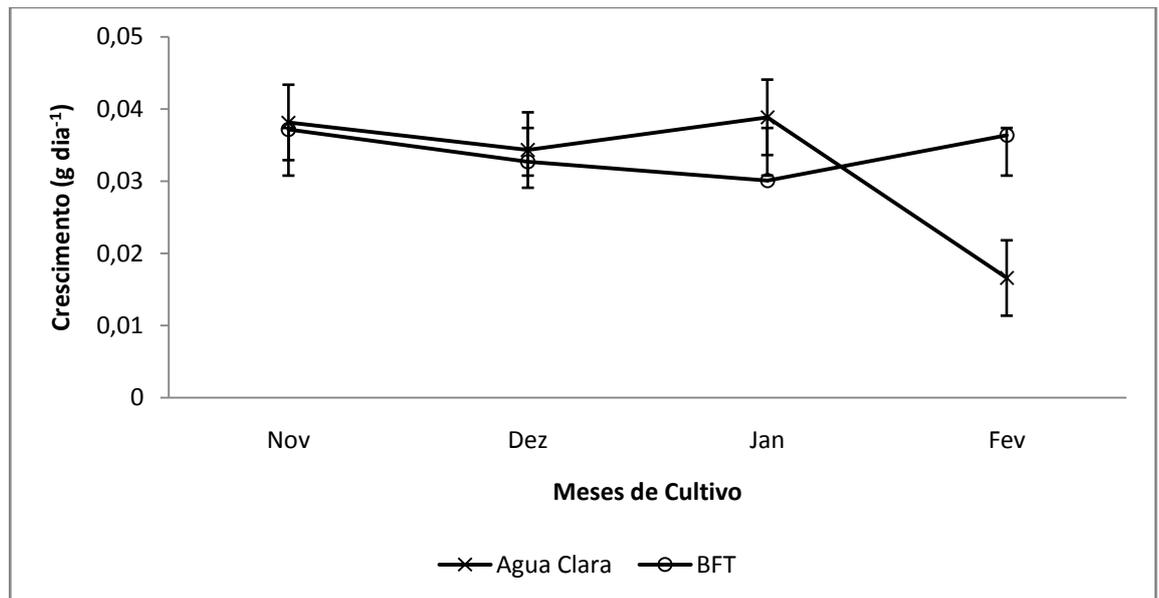


Figura 12 Taxa de Crescimento Diário de *F. duorarum* em ambos os tratamentos ao longo do experimento

Sobrevivência

A sobrevivência foi significativamente maior ($P < 0,05$) no tratamento AC. Houve um aumento da mortalidade natural durante dezembro e janeiro, quando as temperaturas baixaram até menos de 19°C em alguns dias do experimento.

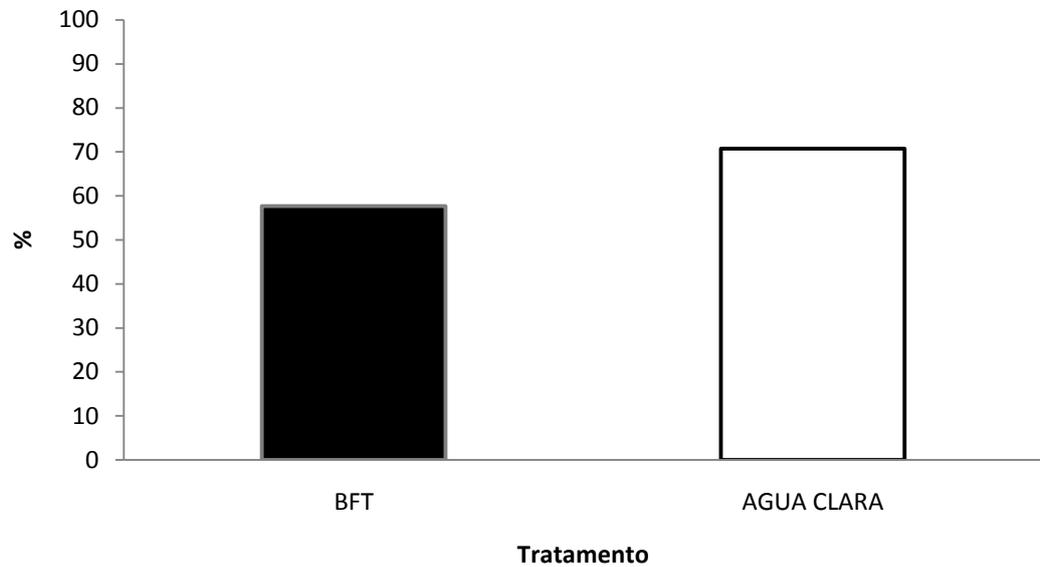


Figura 13 Sobrevivência total de *F. duorarum* em ambos os tratamentos ao final do experimento

Taxa de Conversão Alimentar:

O consumo de ração foi significativamente menor ($P < 0,05$) no tratamento BFT, reduzindo em 40 % o consumo total, conforme é mostrado na figura 14.

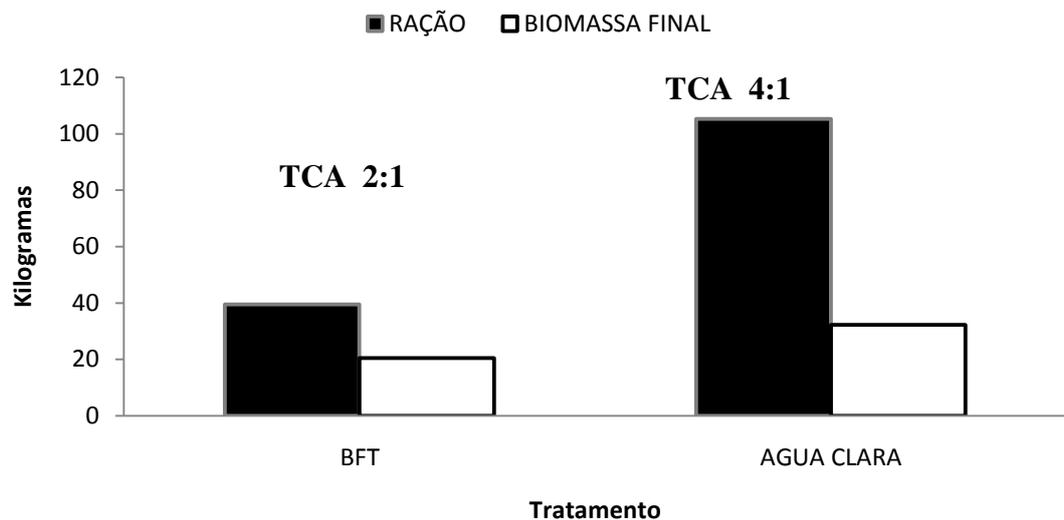


Figura 14 Taxa de Conversão Alimentar obtida para os camarões *F. duorarum* de ambos os tratamentos ao final do período experimental (118 dias)

6.7.-DISCUSSÃO:

A fertilização inicial fomentou o desenvolvimento de fitoplâncton, particularmente diatomáceas nos tanques do sistema BFT, mais ainda com o aumento das microalgas, não houve agregação de matéria orgânica. A radiação solar foi intensa durante o cultivo. Após a segunda semana de cultivo foi colocada uma segunda capa de sombrite para reduzir a entrada de luz direta em 90%. Sabe-se que condições com abundante intensidade luminosa favorecem o desenvolvimento do fitoplâncton e logo o zooplâncton e que eles fornecem os nutrientes precisos para o desenvolvimento da comunidade bacteriana, podendo então diminuir a entrada de luz (Zhi, 2008).

Poucos dias após a colocação do sombrite foram registradas algumas alterações tais como: uma mudança da cor dos sedimentos retirados diariamente (de verde para marrom), um aumento na turbidez e nos volumes de bioflocos. A redução da intensidade luminosa parece ter favorecido o desenvolvimento bacteriano para a formação de agregados de matéria orgânica, como é reportado por Cuzón, (2008). No momento de cobrir os tanques houve uma redução nas populações de fitoplâncton e isso incrementou os níveis da amônia no sistema, tornando necessária a adição de melaço de cana para converter a amônia em proteína de origem microbiana. O melaço foi aplicado durante cinco semanas. Após este período o sistema se equilibrou e não foi preciso continuar a adição de melaço. É provável que a retirada diária do excesso de sedimentos e o aumento na atividade bacteriana mantiveram controlada a produção de amônia, segundo Mc Intosh, (2001; Avnimelech, (2006) e Cuzón, (2008). Foram feitas observações ao microscópio óptico para verificar a formação e evolução dos flocos, esta foi desde a presença de microalgas, principalmente diatomáceas e clorófitas, até a presença de nematódeos ao interior dos bioflocos, esta presença de organismos maiores coincidiu com o momento em que se deixou de aplicar o melaço em que presumivelmente se alcançou o equilíbrio do sistema.

Todos os parâmetros se comportaram dentro dos limites para peneidos (Ocampo, 2000; Arana, 2002; Boyd, 1998). Houve uma queda na temperatura a partir da semana 9 e até a semana 14, quando a mesma declinou de 24°C para os 20°C, alcançando temperaturas extremas de 19°C. Ao que parece esta baixa na temperatura influenciou mortalidade em ambos os tratamentos já que esta regula as taxas de quase todos os

processos metabólicos incluído o potencial de crescimento. A temperatura é o fator que governa o consumo de oxigênio (Brett, 1979; Spanopoulos, 2005, em Bureau, *et al.*, 2000) principalmente no período de intermuda para espécies de peneídeos de tético fechado como *Farfantepenaeus californiensis* (Bureau *et al.*, 2000). Segundo Ocampo, *et al.* 2000, a temperatura de 19 °C limita os camarões na manutenção de seu balanço energético provavelmente diminuindo o apetite e o movimento. O oxigênio se manteve sempre acima de 5 mg L⁻¹ durante todo o experimento. A salinidade começou em 35 ‰, mas na maioria do tempo ficou mais perto de 40 ‰ em ambos os tratamentos. O incremento deste parâmetro não foi relacionado com a evaporação, e sim com a salinidade natural da fonte (poço). A transparência no tratamento AC foi sempre total devido a troca de água, e no tratamento BFT foi diminuindo conforme a agregação da matéria orgânica e a formação dos bioflocos. Os compostos nitrogenados evoluíram de forma natural ao reportado em trabalhos sobre sistema BFT (Wasiolesky, *et al.* 2006; Avnimelech, 2007; Crab, 2009), onde primeiramente ocorre um pico de amônia originado pela ração e os dejetos dos camarões, e posterior diminuição da amônia com a adição de melão e início de um pico de nitrito seguido do incremento nos nitrato. Apesar da presença destes produtos nitrogenados, os mesmos sempre estiveram dentro dos níveis aceitáveis para peneídeos (Thoman, 2001, Azim, 2008) e normais para sistemas BFT (Kuhn, *et al.* 2008; Avnimelech, 2009; Lin, *et al.* 2001).

A sobrevivência geral dos camarões foi de 70% para o tratamento AC e de 58% para o BFT. Esta taxa pode ser considerada expressiva para camarões peneídeos de tético fechado, cultivado em densidades de estocagem elevadas, como as obtidas por Ballester, *et al.* (2007). López, 2006 reportou uma sobrevivência de 84% para os camarões desta espécie mantidos em sistema BFT e de 76% para os do tratamento AC, mais utilizo uma densidade de estocagem baixa 25 camarões/m², e em menor tempo de cultivo (60 días) na mesma localidade deste trabalho. Em sistemas de cultivo semi-intensivo, geralmente as sobrevivências para camarões de tético fechado variam entre 6 e 52% como as obtidas para *F. duorarum* por Jorgensen e Benvenuti, (2001) e de 60% para *F. brasiliensis* como em Valenzuela, (2003).

A sobrevivência foi significativamente melhor ($p < 0.05$) no Tratamento AC. Mais ainda com diferenças estatísticas, as sobrevivências foram muito parecidas em ambos

os tratamentos provavelmente as baixas temperaturas do período de inverno influenciaram na sobrevivência final.

De forma inicial, o crescimento dos camarões foi melhor no tratamento AC durante os primeiros 100 dias de experimento, mais após esse período o qual coincidiu com o fim do inverno os camarões do Tratamento BFT começaram a incrementar seu peso. Por outro lado os camarões do tratamento AC diminuíram a taxa de crescimento específico, provavelmente o custo energético de resistir ao inverno foi muito alto para os camarões em água clara, já e caso contrário, os camarões do tratamento BFT tiveram um crescimento compensatório uma vez que a temperatura começou a se incrementar novamente.

A análise proximal dos flocos (Tabela, 2) indica um valor nutricional que parece ter sido importante para os camarões do tratamento BFT, isto também é confirmado em numerosos trabalhos nos quais se tem demonstrado que os camarões crescem melhor em cultivos que têm uma alta atividade de flocos microbianos, microalgas e outra biota natural (Avnimelech, 1999; Moss, et al. 2000, 2001; Tacon, 2002; Cuzon, *et al.* 2004, Izquierdo, *et al.* 2006).

Dados de pesquisas têm reportado que os sistemas BFT melhoram a saúde dos animais através da estimulação do sistema imune, reduzindo a mortalidade pelos efeitos benéficos de componentes bio-ativos nos flocos (vitaminas, enzimas, fito-esteroides e fotopigmentos) (Linan, *et al.* 2002; Burford, 2004) Ainda que os bioflocos tenham sido reportados como ricos em proteínas, vitaminas e minerais, mais pobre em lipídios (Tacon, 2002), também tem sido reportado com perfil de amino ácidos parecido ao da farinha de soja, o que pode ser uma boa oportunidade para reduzir o uso de farinha de peixe nas dietas (Zhi, 2008).

O alto conteúdo de cinzas nos bioflocos é comparável com os lodos ativados e provavelmente esteja relacionado com óxidos ácidos insolúveis e uma mistura de silicatos (Tacon 2002) indicando um efeito positivo na atividade de enzimas digestivas e na flora microbiana do trato digestivo dos camarões (Moss, et al. 2001).

Um maior número de estudos devem ser realizados para saber se além da grande importância nutricional dos bioflocos para os camarões existem também processos que estimulem o sistema imune para resistir fortes períodos de estresse (onde os camarões

sofrem alterações fisiológicas), por exemplo, as variações dos parâmetros ambientais como oxigênio, temperatura ou compostos nitrogenados.

O Manejo alimentar com bandejas permite controlar a quantidade de ração subministrada nos tanques. A ausência total de resíduos de ração nas bandejas dos tanques do tratamento AC fez manter a mesma quantidade de ração o tempo todo. Contrariamente no tratamento BFT ocorreu uma diminuição da quantidade de ração ministrada. Essa redução foi de até 40% da quantidade de ração utilizada no tratamento AC. Aparentemente os camarões do tratamento BFT, consumiram não só a ração, mais também provavelmente os bioflocos bacterianos com todos os microorganismos presentes neles. Além disso, se considerarmos a importância econômica deste fato, o sistema BFT permite reduzir os custos de produção do cultivo incluindo a diminuição da troca da água.

6.8.-CONCLUSÃO

O camarão-rosa do Golfo do México *F. duorarum* teve no Sistema BFT um crescimento muito similar ao obtido no tratamento AC. Considerando-se o grande gasto de energia para manter a troca permanente de água no tratamento AC, o cultivo no sistema BFT se apresenta como mais uma boa possibilidade para o cultivo desta espécie. Em relação ao crescimento durante o período de inverno, os resultados indicam que *F. duorarum* cultivado em sistema BFT tem uma melhor condição fisiológica para se sobrepôr a períodos de estresse, por exemplo, as baixas temperaturas. A redução no consumo de ração no tratamento BFT é uma excelente oportunidade para diminuir os custos do cultivo.

6.9.-BIBLIOGRAFIA:

- Andreatta, E. R. Rosas, V. C. 2006. Perspectivas en la Investigación en nutrición de camarones Peneidos En: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED 322 p.
- Arana, V. L. 2002. Principios Principios químicos de calidad del agua en acuicultura: Una revisión para peces y camarones. Editora UFSC-Brasil. 133 p.
- Avnimelec, Y.& Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio flocc tanks, using ^{15}N tracing. *Aquaculture* 287, 163–168
- Avnimelech, Y. 1999. Carbon-Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227–235
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34, 172–178
- Avnimelech, Y. 2008. Apuntes del Curso Bio-Floc technology (BFT): Las bases de la Aplicación. Mérida, México 28-31 de julio de 2008
- Azim, M. E. & Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* *Aquaculture* 283, 29-35
- Ballester, E.L.C., Wasielesky, W., Cavalli, R. O. e Abreu, P. C. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance *Aquaculture* 269 (2007) 355–362
- Bottino, NR., Gennity, J., Lilly, ML. Simmons, E. and Finne, G. 1980. Seasonal and nutritional effects on the fatty acids of three species of shrimp, *P. setiferus*, *P. Aztecus* and *P. duorarum*. *Aquaculture* 19(2) 139-148.
- Boyd, C. E., Massaut, L. and Weddig, L. J. 1998. Towards reducing environmental impacts of pond aquaculture. *INFOFISH* 2, 27-33
- Brett, J.R., 1979. Environmental factors and growth. In Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R. (Eds.) *Fish Physiology*, Vol. VIII, Bioenergetics and Growth. Academic Press, New York, pp. 599-667.
- Bureau, B.P., Azevedo, P.A., Tapia-Salazar, M., Cuzon, G., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición*

- Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, Mérida, Yucatán, Mexico.
- Burford, M. A.; Thompson, P. J.; Mc Intosh, P. R.; Bauman, R. H. and Pearson, D. C. 2004 The contribution of flocculate material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–538
- Burford, M. A.; Thompson, P. J.; Mc Intosh, P. R.; Bauman, R. H. and Pearson, D. C. 2003 Nutrient and microbial dynamics in high-intensity zero exchange shrimp ponds In Belize. *Aquaculture* 219, 393-411
- Caillouet, C.W., Hernen, J. & Tabb, D.C. 1972 Pink shrimp feeding experiments with wheat bran. *Aquaculture* 36, 415-459.
- Caillouet, CW., Norris, JP., Heald, EJ. 1976. Growth and yield of Pink Shrimp (*Penaeus duorarum duorarum*) in feeding experiments in concrete tanks. *Trans. Am. Fish. Soc.* 105(2)259-266.
- Chamberlain, G., Avnimelech, Y., Mc Intosh, R.P., Velazco, M. 2001 Advantages of Aerated Microbial Reuse Systems With Balanced C:N II: Composition and Nutritional Value Of Organic Detritus. *Global Aquaculture Advocate* JUNE.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1–14.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W. e Avnimelech, Y. 2009 Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering* 40, 105–112
- Cuzón, G., Lawrence A., Gaxiola, G., Rosas, C., Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture* 235, 513-551
- Cuzon, G., Goguenheim, J., Gaxiola, G. & AQUACOP. 2008. Floc contribution to penaeid intensive culture. 365-381 pp. Editores L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Juan Pablo Lazo y Ma. Teresa Viana. *Avances en Nutrición Acuícola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola 24-27 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.*
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G., Tacon, A.G.J., 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), with

- experimental zero water exchange culture systems. *Aquaculture Res.* 34, 345–355.
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346–358.
- Hari B, Kurup BM, Varghese JT, Schrama JH and Verdegem MCJ 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture system. *Aquaculture* 241. pp179-194
- Izquierdo, M., I. Forster, S. Divakaran, L. Conquest, and O. Decamp. 2006. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 12,192–202.
- Jorgensen, P. e Bemvenuti, C. E. 2001. Cultivo Intensivo de juvenís do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (PÉREZ-FARFANTE, 1967) em cercados: Avaliação experimental do sistema de engorda numa enseada estuarina da Lagoa dos Patos. *Atlântica*, Rio Grande, 23: 47-58, 2001.
- Kuhn,D.D;Boardman,G.D.;Craig, S.R.;Flick Jr.,G.J.& McLean, E. 2008. Use of Microbial Floes Generated from Tilapia Effluent as a Nutritional supplement for Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of the World Aquaculture Society* Vol.39 No. 1 February
- Lemonnier, H. & Faninoz, S. 2006. Effect of water exchange on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia. *Aquaculture Research*, 37, 938-948
- Lin, Y-C. and J-C. Chen. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259:109–119.
- Linan-Cabello M.A., Paniagua-Michel J. & Hopkins P.M. 2002. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutrition* 8, 299-309.
- López L. M.M. 2006 Crecimiento y Supervivencia del Camarón Rosado del Golfo de México (*Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad) en un Sistema adicionado con materia orgánica y cero recambio de agua. Memoria de residencia Profesional. Instituto Tecnológico de Conkal. Yucatán, México 58 p.

- López-Téllez, N.; J. Hernández-Rodríguez; H. Ramírez-Ligonio y J. Seca-Escalante. 2001. Crecimiento del camarón rosado *Farfantepenaeus duorarum* en estanques rústicos. *INP. SAGARPA. México. Ciencia Pesquera No. 14*.
- Manju, N.J., Deepesh, V., Achuthan, C., Rosamma, P. & Bright Singh, I.S.2009. Immobilization of nitrifying bacterial consortia on wood particles for bioaugmenting nitrification in shrimp culture systems. *Aquaculture* 294, 65–75
- McIntosh, P.R., 2001. Changing paradigms in shrimp farming. V. Establishment of heterotrophic bacterial communities. *Global Aquaculture Advocate* 4, 53–58.
- Medeiros, S. S. 2009. O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bio-flocos e desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água. Dissertação de mestrado FURG Programa de Pós-Graduação em Aquicultura RS Brasil.
- Moss, S. M., LeaMaster, B. R. and Sweeney, J. N. (2000). Relative abundance and species composition of gram-negative, anaerobic bacteria associated with the gut of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in oligotrophic well water and eutrophic pond water. *Journal of the World Aquaculture Society* 31:255–263.
- Moss, SM., Arce, SM., Argue, BJ.,Otoshi,CA.,Fernanda R.O. Calderon, and Tacon,A.G.J.2001.Greening of the blue revolution:Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In Craig L. Browdy and Darryl E. Jory editors. *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*, *Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA USA.
- NACA. 2006. *International Principles for Responsible Shrimp Farming*. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). Bangkok, Thailand. 20
- Ocampo, L., Villarreal, H., Vargas, M., Portillo, G., Magallon, F., 2000. Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). *Aquac. Res.* 31, 167– 171.
- Ocampo, V. L. 2000. Energía metabolizable y eficiencia neta de crecimiento bajo el efecto de variaciones medioambientales en el camarón. pp 187-201 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.)

- Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Samocha T. M., Susmita P., Speed M. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *litopenaeus vannamei*. *Aquacultural engineering* 36, 184-191
- Samocha T.M. 2006. Heterotrophic Intensification of Pond Shrimp Production. The Fifth International Conference of Recirculating Aquaculture. Department of Food Science and Technology, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Sánchez, A. J. 1997. Habitat preference of *Penaeus duorarum* Burkenroad (Crustacea: Decapoda) in a tropical coastal lagoon, southwest Gulf of Mexico *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217, 107-117
- Schveitzer, R., Andreatta, E.R. Souza, J., Arantes,R.,Quadros-Seiffert,W.2008. O cultivo com bioflocos: engorda e formação de matrizes de *Litopenaeus vannamei* Panorama da Aqüicultura, maio/junho
- Seiffert,Q.W. e Andreatta, E.2004.El manejo de la alimentación y la sostenibilidad en el cultivo de camarones en el Brasil. In L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie,Mireya Tapia Salazar,Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Scholz,U. y Gonzáles M. Avances en Nutrición Acuícola VII. VII Simposio Internacional de Nutrición Acuícola 16-19 Noviembre. Hermosillo, Sonora, México.
- Serfling, S., A. 2006. Microbial flocs: Natural treatment method reports fresh-water, marine species in recirculating systems. *Global Aquaculture Advocate*. June, 34-36
- Sick, L.V.& Andrews, J. W. 1973. The effect of selected dietary lipids,carbohydrates and proteins on growth, survival and body composition of *P. duorarum*. *Proceed. WMS* 4:263-276

- Silva, F. A. 2009. Influência da densidade de estocagem sobre o desempenho do camarão branco *Litopenaeus vannamei* durante a fase final de engorda em sistema super-intensivo. Dissertação de mestrado FURG Programa de Pós-Graduação em aquicultura RS Brasil
- Spanopoulos, H. M, Martínez, P.C.A., Vanegas, P.R.C., Rosas, V.C. e Ross, L.G. 2005. The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874) *Aquaculture* 244, 341–348
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P. & Decamp, O.E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets *Aquaculture Nutrition* 8;121-137
- Thoman, E.S., Ingall, E.D., Davis, D.A. & Arnold, C.R. 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering* 24, 195–211
- Valenzuela J. M. A., Durruty L. C. V., Rosas V. C. Arévalos C. M. y Huchín P. I. A. (2003) Avances en el cultivo del camarón rojo del caribe (*Farfantepenaeus brasiliensis*) Memorias del X Congreso Latinoamericano de Ciencias Marinas, San José de Costa Rica 22-26 septiembre del 2003.
- Wasielesky, Jr. W, Krummenauer, D. e Poersch, L.H. 2009. Cultivo de camarões em sistema de Bioflocos (Biofloc Technology). *Revista da ABCC*. Ano XI Ed. No. 1 Junho.
- Wasielesky, Jr. W.; Atwood, H.; Stokes, A.; Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396-40
- Zhi, Y.J, Forster, I.; Conquest, L.; Dominy, W.; Cuo, W.C. & Horgen, F.D. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles *Aquaculture Research*, 39, 118-133

7.-CAPITULO II

**CONDIÇÃO FISIOLÓGICA E IMUNOLÓGICA DO CAMARÃO-ROSA
Farfantepenaeus duorarum (Burkenroad, 1939) CULTIVADO EM SISTEMA BFT
(BIO-FLOC TECHNOLOGY).**

7.1.-RESUMO:

A resposta imune de camarões peneídeos tem sido avaliada através de diversas formas, entre as quais destacam a variação na concentração de hemócitos (NHT), a atividade do fenol-oxidase (proPO), o título de hemaglutinação (H) e o Estouro Respiratório(NBT) entre outras. Também tem se demonstrado que os conhecimentos dos processos imunológicos associados à bioquímica fisiológica permitem determinar o estado de saúde dos camarões. Assim, as variações da capacidade osmótica e a concentração dos metabolitos plasmáticos (colesterol, proteínas, acilglicerídeos, e glicose) têm sido utilizadas para determinar o estado fisiológico de diferentes espécies de peneídeos. Estes metabolitos foram avaliados para camarões *F. duorarum* cultivados em Água Clara (AC) e Sistema BFT (Bio-Floc technology), no sul do Golfo do México. Mensalmente foram analisadas amostras de camarões que se encontravam em estágio C de muda. Tomaram-se amostras de hemolinfa e realizaram-se as avaliações correspondentes. O Tratamento BFT apresentou valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos indicadores imunológicos que revelam uma boa condição de saúde dos camarões, neste meio, e que eles estão bem melhor preparados com respeito aos animais do tratamento AC para resistir o ataque de patógenos ou enfrentar condições ambientais adversas que geram estresse como variações abruptas de temperatura, compostos nitrogenados, ou salinidade. Os indicadores fisiológicos não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$) indicando que os camarões de ambos os tratamentos se nutrem da ração e que os bioflocos do sistema BFT provavelmente funcionam como um complemento que estimula o sistema imunológico.

7.2.-ABSTRACT

The immune response of penaeid shrimp has been assessed through various forms, including highlighting the total concentration of Hemocytes (NTH), the activity of phenol oxidase (proPO), hemagglutination factor (H) and the respiratory burst (NBT), among others. It also has shown that knowledge of immunological processes associated with physiological biochemistry for determining the health status of shrimp. Likewise, changes in osmotic capacity, oxygen consumption and plasma concentration of metabolites (cholesterol, protein, Glyceride, and glucose) were used to determine the physiological status of different penaeid species. We used juvenile shrimp *F. duorarum* grown in Clear Water (AC) permanent replacement of water and Bio-Floc System technology (BFT) with intensive organic fertilization and aeration. Monthly shrimp were taken from both treatments with scoop nets and reducing the temperature handling of animals not to disturb the blood metabolites. Were analyzed only shrimp that were in a state of mute C (intermolt), hemolymph samples were taken and assessments were made NTH, prop, M, NBT, as well as protein, cholesterol, triglycerides, and glucose hemocyanin. Treatment BFT have values significantly different ($p < 0.05$) immunological indicators show a better health status of shrimp in this environment and they are better prepared with respect to AC treatment to resist attack by pathogens or face adverse environmental conditions that generate stress, such as abrupt changes in temperature, nitrogen compounds, or salinity. Physiological indicators showed no significant differences ($p > 0.05$) indicating that both treatments shrimp feed on the nutritious food and that the Bio-Floc's of the BFT system probably function as a supplement that stimulates the immune system.

7.3.-INTRODUÇÃO:

Embora os conhecimentos sobre os requerimentos nutricionais e as condições ótimas de cultivo dos peneídeos tem se desenvolvido muito, a aparição de doenças continua apresentando uma redução no crescimento e grandes perdas econômicas pelas altas mortalidades (Rodríguez e LeMoullac, 2000). Com a finalidade de evitar as infecções, em muitos casos se adicionam antibióticos na ração, mas seu uso freqüente pode favorecer a resistência por parte dos patógenos, além de bioacumularse nos camarões e gerar efeitos ambientais colaterais. (Sun et al., 1996; Rengpipat et al., 1998). No momento, a profilaxia e o controle de doenças nos cultivos restringem-se basicamente a práticas adequadas de manejo e à redução das condições de estresse, uma vez que os fatores que determinam o estado de saúde dos camarões são ainda pouco conhecidos. Neste contexto, o estudo do sistema imune de crustáceos desponta como uma estratégia recente e promissora, visto que permite conhecer as bases da susceptibilidade e resistência destes animais a microrganismos patogênicos e parasitas, além de fornecer subsídios valiosos para o estabelecimento de parâmetros de saúde e imuno-marcadores para seleção genética de animais mais resistentes a infecções (Barracco, et al. 2008)

A resposta imune tem sido avaliada através de diversas formas entre as que destacam a variação na concentração de hemócitos, a atividade da fenol-oxidase e seus reguladores (macroglobulinas e pacifastina), o título de hemaglutinação, a atividade fagocítica e o Estalido Respiratório entre outras (Le Moullac et al., 1998b; López et al., 2003)

A situação nutricional avalia-se com um conjunto de elementos entre os que desta-se o papel predominante do peso, comprimento e a sobrevivência dos animais. O peso e o comprimento são bons indicadores e pelo geral ocupam o eixo central de qualquer estudo de nutrição e de qualquer sistema de controle durante o cultivo. O peso é um marcador indireto da massa protéica e do armazenamento de energia. Bureau et al. (2000) analisaram os padrões de crescimento e deposição de nutrientes em camarões e discutem algumas idéias interessantes sobre o uso de este indicador. Os autores afirmaram em seu trabalho que é comum entre os nutricionistas considerar que a qualidade e a quantidade do alimento é o fator que conduz ao crescimento enquanto seria mais apropriado reconhecer que o tamanho e provavelmente a composição

corporal estão determinados geneticamente e, porém é necessário conhecer o padrão de crescimento das espécies para saber quanto o animal é capaz de conseguir em biomassa concordando com a sua biologia e as condições em que se cultiva.

Para desenvolver métodos efetivos, a medida de peso corporal necessita ser complementada por outros indicadores já que em camarões o processo de crescimento é descontínuo e procede com uma série de mudas separadas por períodos de intermuda que introduzem variáveis não contempladas em outras espécies. A hemolinfa dos camarões é um meio adequado para o estudo dos marcadores de situação nutricional, todavia tem se realizados muito poucos trabalhos dirigidos ao desenho e validação de indicadores em camarões peneídeos (Carrillo, *et al.* 2006). Existem estudos nos que se tem relacionado os parâmetros sanguíneos de algumas das espécies, mas importantes de América tanto de indivíduos cultivados (*L. vannamei*) como das populações silvestres (*L. setiferus* e *Farfantepenaeus duorarum*) (Pascual *et al.*, 2003a; Rosas *et al.*, 2004; Rosas *et al.*, 2007) com a condição fisiológica e imunológica.

A medição de hemocianina tem sido proposta como um indicador para avaliar o estado de saúde e a condição nutricional dos crustáceos (Spicer e Baden, 2000). A hemocianina é a proteína mais abundante na hemolinfa, e além de ser pigmento respiratório, funciona como proteína de reserva na hemolinfa (Hagerman, 1983; Chen e Cheng, 1993; Van Holde *et al.*, 2001), atua como osmolito (Hagerman e Weber, 1981), transportador de ecdisona (Van Holde *et al.*, 2001), e possivelmente também participa na resposta imune, devido a seus componentes fungistáticos (Destoumieux *et al.*, 2001). Além disso, têm atividade tipo fenol-oxidase depois de reagir com alguns componentes endógenos da resposta imune, como fatores de coagulação e peptídeos antimicrobianos (Adachi *et al.*, 2003).

Com tudo um dos problemas que a indústria da aquicultura tem enfrentado é a falta de critérios para a avaliação da condição fisiológica e/ou de saúde dos animais em cultivo. Atualmente, muitas das decisões que implicam o uso de um ou outro aditivo, ou estratégia de manejo são baseadas em observações grossas relacionadas ao consumo de ração (diminuição do consumo nas bandejas de controle), algumas características morfológicas (a presença de apêndices ou telson vermelho) ou análises bacteriológicas ou virológicas que se fazem nas mesmas fazendas de cultivo (Andretta e Rosas, 2006).

Com todas as suas características, os sistemas heterotróficos, além das vantagens que oferecem, principalmente, a maior disponibilidade de alimento vivo, também produzem organismos em cultivo mais saudáveis. No entanto, não existem estudos que demonstrem a forma em que o meio heterotrófico (BFT) modula a condição fisiológica e imune dos camarões (Moss, *et al.* 2000; Moss, *et al.* 2001; Tacon, *et al.* 2002; Linan, *et al.* 2002, Cuzon, *et al.* 2004; Burford, 2004; Andreatta e Rosas 2006; Kuhn, 2008). Segundo Andreatta e Rosas (2006) e Wasielesky *et al.* (2006) pode se estabelecer que o êxito dos ambientes heterotróficos de cultivo dos camarões poderia estar associado com o aporte de proteína e sua consequência no estado de saúde geral dos organismos. Não bastando, a alta variabilidade dos sistemas heterotróficos impõe-se a necessidade de buscar indicadores nutricionais e imunológicos nos camarões que permitam estabelecer quando um cultivo desta natureza é adequado ou não para uma determinada espécie.

7.4.-OBJETIVOS:

Objetivo Geral

Avaliar o efeito do cultivo sobre o estado nutricional e imunológico do camarão *F. duorarum* cultivado em Sistema BFT (Bio-Floc Technology).

Objetivos Específicos:

Determinar o efeito das condições de cultivo sobre os indicadores do estado imunológico de juvenis de *F. duorarum* através do monitoramento da atividade do fenol-oxidase, o estouro respiratório, a concentração de hemocitos e a hemaglutinação.

Determinar o efeito das condições de cultivo sobre os indicadores do estado nutricional de juvenis de *F. duorarum* através do monitoramento do incremento em peso, o Índice Hepato-Somático (IHS) e os metabolitos sanguíneos (glicose, colesterol, acilglicéridos, proteínas e hemocianina).

7.5.-MATERIAIS E METODOS:

Local do Experimento

O experimento foi conduzido na área de tanques externos para engorda experimental e as avaliações bioquímicas e imunológicas foram feitas no Laboratório Central 1- Bioquímica, Imunología e Biología Molecular da Unidade Multidisciplinar de Docência e Pesquisa (UMDI, pelas siglas em espanhol) da Faculdade de Ciências-Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus Sisal, localizada na região costeira noroeste do Estado de Yucatán (21°9'55. 22 N, 90°1'54. 93 W) no porto de abrigo em Sisal, município de Hunucmá em Yucatán, México

Animais Experimentais

Utilizaram se camarões juvenis *F. duorarum* provenientes da área de tanques externos mantidos em dois tratamentos diferentes: Tratamento Água Clara (AC) e Tratamento BFT (Bio-Floc Technology).

Amostragens de Hemolinfa

Com o intuito de manter os camarões livres de, ou com o menor grau de estresse, as biometrias foram feitas cada mês, retirando uma amostra de 80 camarões. Antes da extração da hemolinfa, os camarões foram colocados em água fria (5°C abaixo da temperatura da água de cultivo) para diminuir seu metabolismo (Pascual et al., 2003a). Esta medida previne que alguns dos metabolitos plasmáticos, como a glicose e lactato, sejam alteradas rapidamente pela manipulação (Racotta *et al.*, 1998). Camarões caídos fora da caixa do isopor o do tanque foram descartados. Utilizaram se para o transporte dos camarões três caixas de isopor de 100 l. Os camarões foram levados ao Laboratório Central 1- Bioquímica, Imunología e Biología Molecular da UMDI-UNAM para as análises correspondentes segundo a metodologia de Pascual, 2007^a,2007^b; Cruz, 2009 para a contagem dos Hemocitos.

Obtenção da Hemolinfa:

Uma vez que os camarões estiveram aclimatados às condições de luz e temperatura, precedeu-se a extração da hemolinfa. Os camarões foram secados para retirar o excesso de água e evitar o contato com a hemolinfa. A hemolinfa foi extraída do seio ventre lateral do abdômem com ajuda de uma seringa hipodérmica descartável. Esta foi preparada previamente com aproximadamente 100 µL de solução anticoagulante fria (2-8°C): Solução Isotônica para Camarões (SIC-EDTA) (Vargas-

Albores *et al.*, 1993). Antes de extrair a hemolinfa a SIC-EDTA foi descartada. O volume total da hemolinfa foi separado da seguinte maneira: 10 µl para análise de hemocianina, 20 µl para pressão osmótica, 20 µl para hemócitos, 80 µl para análises dos metabolitos sanguíneos (hemocianina, glicose, colesterol, acilglicéridos e proteínas. Os camarões foram medidos com uma régua plástica e pesados em uma balança digital Modelo Adventurer da marca Ohaus® com precisão de 0.01 gr. Após da obtenção da hemolinfa, se retiraram amostras de brânquias e o hepatopâncreas para posterior análise e foram colocadas em nitrogênio líquido.

Obtenção do Plasma:

Os metabolitos sanguíneos não foram avaliados diretamente da hemolinfa. Esta foi diluída com SIC-EDTA em tubos Eppendorf. Para cada volume de hemolinfa foram requeridas dois de SIC-EDTA soluções que passaram por uma centrífuga a 800 g (2500 rpm por 5 minutos a 4 ° C. Desprezou se o sobrenadante e separou-se o plasma em tubos Eppendorf mantidos a 2-8 °C e foram processadas no mesmo dia.

Indicadores da Resposta Imune

Número Total de Hemocitos:

Para a contagem dos hemocitos se misturou um volume de amostra para três da solução Alsever-Formol 10%, as amostras foram mantidas em temperatura de 2-8°C até sua análise. A contagem dos hemócitos foi feita em uma câmara de Neubauer e em microscópio óptico em objetivo 40X de acordo com Le Moullac *et al.*, (1997)

Atividade do Fenol-Oxidase PO (OD 490 nm)

O sistema fenol-oxidase determina se avaliando espectroscopicamente a oxidação da L-hidroxi-fenilalanina (L-DOPA), segundo Leonard, *et al.* (1985), e modificada por Hernández-López *et al* (1996). A avaliação do fenol-oxidase requiere a conversão da profenol oxidase (proPO) na sua forma ativa, fenol oxidase (PO). O sistema profenol-oxidase se encontra em compartimentos, principalmente nas células granulares, porém o conteúdo granular de estas células, é obtido estourando as (degranulado de hemócitos).

Estouro Respiratorio (OD 630 nm)

O Estouro respiratório é um processo oxidativo associado à fagocitose, em que vários radicais tóxicos de oxigênio são gerados para destruir o patógeno invasor que está sendo ingerido pelas células imunitárias. A produção do anion superóxido é quantificada pela técnica espectrofotométrica de redução do Nitroblue Tetrazolium (NBT), segundo o protocolo otimizado por Hernández-López (2001). O teste otimizado

de micro placas de NBT é baseado na quantificação a 630 nm de Formazán solubilizado por KOH/DMSO melhorando a sensibilidade e exatidão da quantificação. A taxa de produção do anion super óxido, é obtida dividindo o valor da absorbância da amostra estimulada, pelo valor da absorbância da mesma amostra sem estimular.

Hemaglutinação (HU/mg protein)

Dentro dos procedimentos imunológicos, este é um útil e prático indicador que é baseado na especificidade da união Antígeno-Anticorpo do sistema imune dos vertebrados. Esta união pode ser visualizável pela aglutinação. Utilizou se soro de sangue humano. As células do sangue foram suspensas numa solução salina 2% (v/v). O plasma foi obtido por centrifugação (a 800 g) de sangue diluída 1:3 com SIC-EDTA (0.45 M NaCl, 10mM KCl, 10mM HEPES, pH 7.3, e 10mM EDTA-Na₂) por 3 minutos a 4 °C. Após de isso, o plasma foi serialmente diluído 11 vezes (1:2) com 50µL de solução salina em uma micro placa de poços com forma de U. Finalmente, se agregaram 50µL de suspensão de eritrócitos humanos e as micro placas foram incubadas por duas horas em temperatura ambiente (26±2 °C). Para cada placa usou se como controle uma coluna com eritrócitos e solução salina. A Hemaglutinação foi registrada como o inverso da ultima diluição da atividade hemaglutinante observada. Os resultados foram expresados como Atividade Específica Aglutinante (HU/mg protein).

Indicadores Fisiológicos

Hemocianina (mmol/l)

Em um recipiente ultravioleta de 1,0 ml colocaram-se 990 µL de água destilada e 10 µL da amostra de hemolinfa com uma micropipeta, leu se a absorbância (335 nm), em um espectrofotômetro, o procedimento foi feito em triplicata (Chen *et al.* 1993)

Pressão Osmótica (mOsm/kg):

A hemolinfa extraída colocou se sobre o papel Parafilm, que ao mesmo tempo estava sobre uma placa congelante, com o pistom se pegou a amostra e se leu no microosmometro (Advanced Instruments®). A capacidade osmótica calculou se a partir da diferença entre a pressão osmótica da hemolinfa e a pressão osmótica da água do meio (Lignot *et al.*, 1999)

A determinação de metabolitos sanguíneos (Glicose, Aciglicéridos, Colesterol, Proteínas) foi avaliada utilizando kits comerciais, através dos quais se avaliam colorimetricamente reações enzimáticas, com exceção das proteínas. Nestas não se quantificam as reações enzimáticas, sino a reação de enlaces químicos de uma solução

ácida de cor (Azul Coomassie) pela presença de proteínas. O princípio para todos os metabolitos foi baseado nas mudanças diferenciais da cor, identificados espectrofotometricamente a través da absorbância da solução na comprimento de onda correspondente e registrada em densidade óptica em resposta às concentrações dos metabolitos.

Os Kits de glicose (ELITech GPSL-5505), colesterol (ELITech CHSL-5505), e triglicerídeos (ELITech TGML-5415), tem o reagente pronto para ser usado. Todavia, com respeito às proteínas, o procedimento é alterado. Para as proteínas, é preciso diluir o reagente (Proteína BIO-RAD-500-0006) em água livre de pirógenos, em uma proporção de 1:4. Antes de começar as avaliações foi preciso aclimatar (colocar na mesma temperatura) as soluções reagentes dos kits.

Uma vez obtido o plasma, colocou-se em uma microplaca para leitura de ELISA: 10 µl de amostra + 200 µl de solução reagente (kit) colocaram se 10 µl da amostra de plasma em um poço (em triplicata). Posteriormente se acrescentaram 200 µl de solução reagente (kit), esperou-se o tempo de incubação e se mediu a absorbância em um espectro-fotómetro de micro-placas. Além das amostras de plasma para avaliar, se adicionou na micro-placa um branco e uma curva padrão para cada metabolito, e então se seguiu o mesmo procedimento que com as amostras

Proteínas totais solúveis (mmol/l)

Determinou-se a concentração de proteínas solubilizada a través de uma solução acida corada, o azul Coomassie, que se liga aos aminoácidos primariamente básicos e aromáticos, especialmente a arginina. A absorbancia máxima para esta solução ocorre entre 465-595 nm, quando acontece o enlace com proteínas.

Acil-glicerídios (mg/ml)

O glicerol liberado na hidrólise dos triglicerídeos, pela ação da lipoproteína-lipase, se converteu mediante a glicerol-3-fosfato, que oxida se pela glicerol-fosfato oxidase em dihidroxiacetona e peróxido de hidrógeno. Em presença da peroxidase, o peróxido de hidrogeno oxida o cromógeno 4-aminoantiripina/p-clorofenol, em um composto da cor laranja pálido.

Colesterol (mg/ml)

Os ésteres do colesterol são hidrolizados pela colesterol-éster-hidrolasa para liberar colesterol e ácidos graxos. O colesterol livre existente, conjuntamente com o produzido pela colesterol-oxidase a Δ^4 -colestenona E peróxido de hidrogênio, este

último, em presença de peroxidase, oxida o sistema cromógeno (4-aminoantipirina/fenol) em um composto cor de rosa.

Glicose (mg/ml)

A glicose é transformada pela glucosa-oxidasa em ácido glucónico e peróxido de hidrogênio; este último, em presença de peroxidasa, oxida o sistema cromógeno (4-aminofenazona/fenol) convertendo-lhe num composto cor de rosa.

Índice Hepato-Somático (IHS) %

O índice hepatosomático foi determinado segundo a metodologia de Molina, (2000) com a seguinte fórmula:

$$\text{IHS} = \frac{\text{Peso do Hepatopâncreas}}{\text{Peso do Camarão}} (100)$$

Estágio de muda

A muda (ecdise) é um processo cíclico que está claramente estabelecido pelo desprendimento do exoesqueleto (exuvia). Antes e depois da ecdise, ocorrem os maiores eventos metabólicos associados especificamente com o crescimento, e nos quais se incluem a degradação do exoesqueleto velho e a síntese do novo. Os estágios que integram o ciclo de muda são: Pos-muda (A, B), Inter-muda (C) e Pre-muda (D). Em cada um dos estágios, a concentração de metabolitos presentes na hemolinfa varia concordando com as mudanças metabólicas necessárias para que se realize o processo de ecdise. Por isso é preciso caracterizar o estágio de muda de cada um dos camarões amostrados e considerar unicamente aqueles que estejam em Intermuda (C). Uma forma de caracterizá-los é através da identificação visual microscópica das mudanças estruturais seqüenciais na epiderme dos urópodos, na qual, se considera: O grau de retração epidermal das bases das setas considerando a ausência ou presença da matriz celular; também se considera a retração epidermal da cutícula junto com o desenvolvimento das novas setas

Cortou-se uma parte do urópodo dos camarões em uma placa de Petri para ser observado ao microscópio óptico. Determinou-se o estágio de muda (posmuda, intermuda, pre-muda) utilizando o estado de setogénese observada nos urópodos segundo Pascual (2007a). As amostras identificadas como pré-muda ou post-muda foram descartadas, pelas possíveis alterações metabólicas que puderam apresentar.

Análise estatística

Para todos os dados aplicou-se uma prova estatística de análise de variância (ANOVA two- ways) usando-se o nível de probabilidade de 0,05 para avaliar se existiam diferenças significativas entre os tratamentos e entre as amostragens. (Zar, 1974).

7.6.-RESULTADOS:

Indicadores da Resposta Imune

Número Total de Hemocitos

O número total de hemocitos (Figura 1) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), mais houve diferenças para a amostragem do mês de janeiro em que a concentração de hemócitos totais foi significativamente maior ($p < 0,05$) para o tratamento BFT. A tendência do tratamento AC foi para diminuir no final do experimento, caso contrario do tratamento BFT, em que a tendência foi a aumentar o número de hemócitos com o passar do tempo.

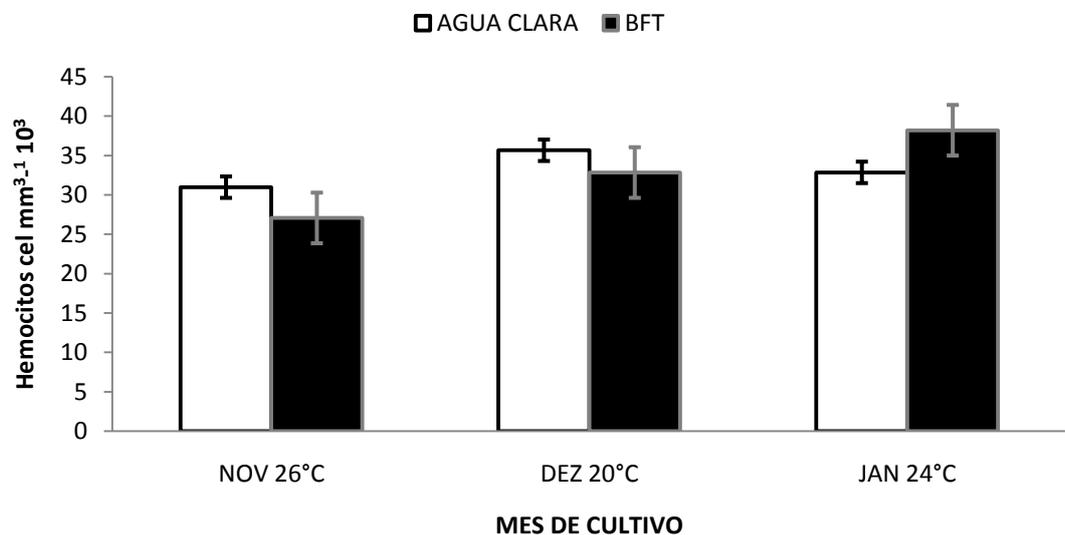


Figura 1 Número total de hemócitos de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período prévio (30 dias) a cada amostragem.

Atividade da Pro Fenol-Oxidase (ProPO)

A ProPO (Figura 2) apresentou diferenças significativas entre os tratamentos e entre as amostragens ($p < 0,05$). O Tratamento BFT teve maiores concentrações ainda na última amostragem (janeiro) não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos

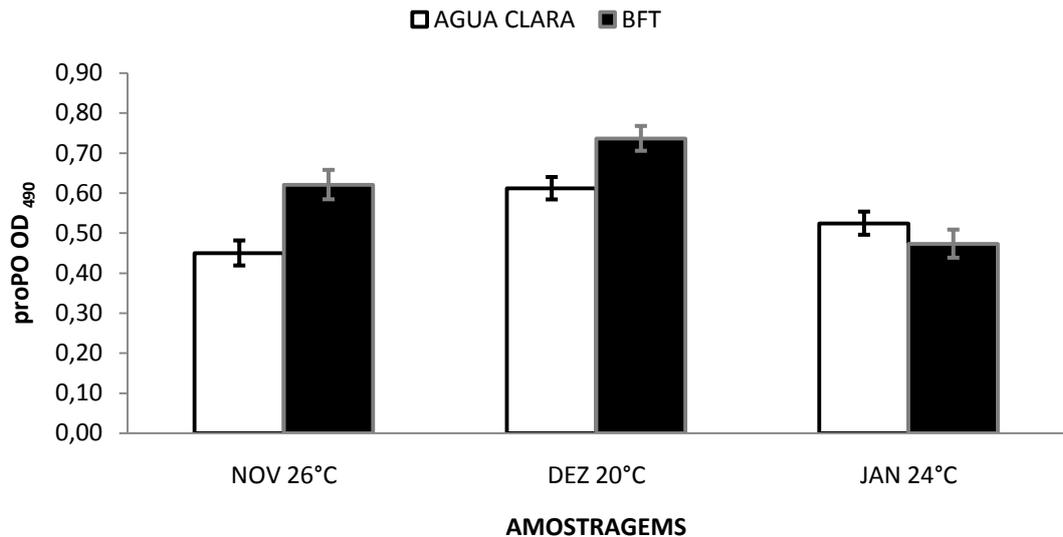


Figura 2 Atividade da profenol-oxidase ao longo do experimento para *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Estouro Respiratório

O comportamento do Estouro Respiratório (Basal e Ativado) mostrou um comportamento (Figura 3) similar a atividade da ProPO, houveram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos tanto para o basal como para o ativado.

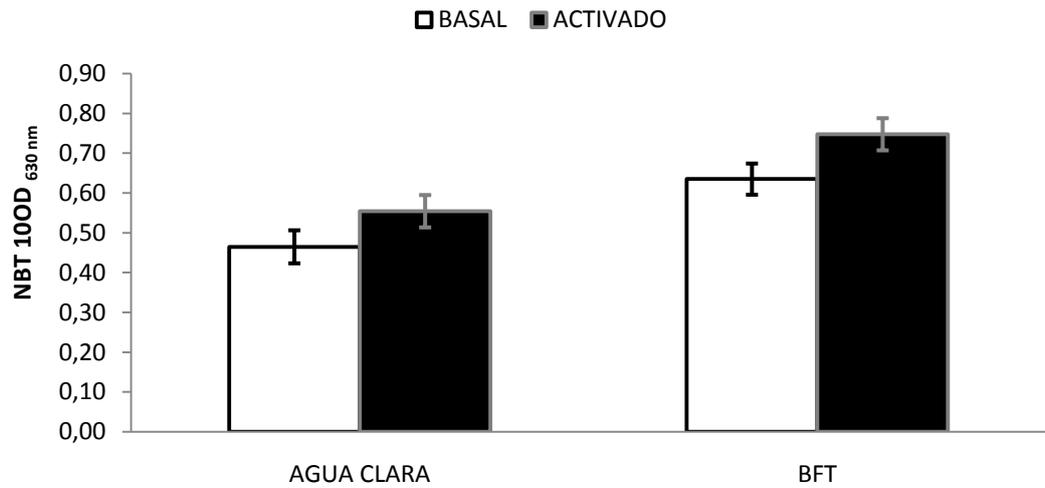


Figura 3 Estouro Respiratorio de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao Sistema BFT

Hemaglutinação

A Atividade Específica de Hemaglutinação (Figura 4) sempre apresentou valores superiores em quase 40% nos camarões do Tratamento BFT ($p < 0.05$)

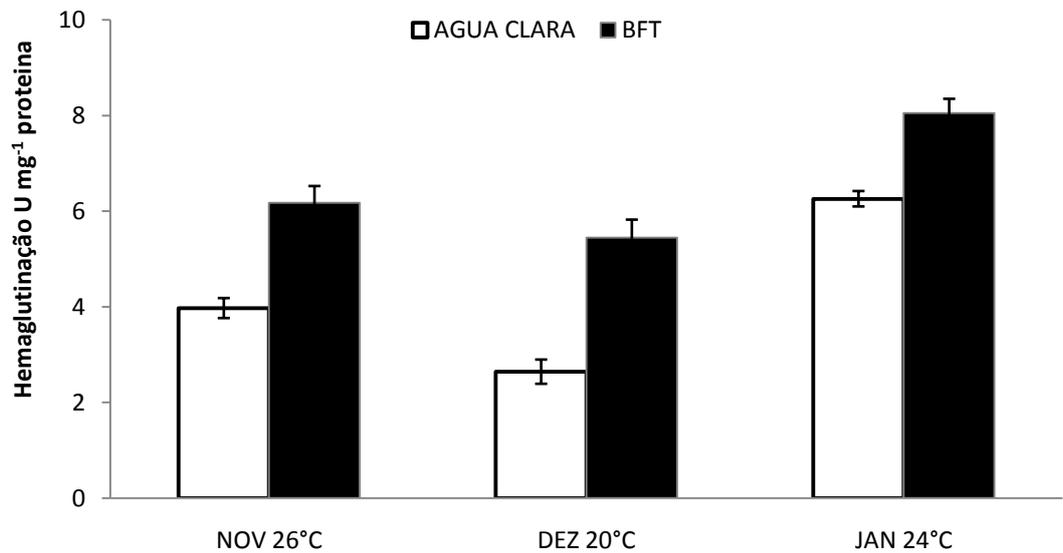


Figura 4 Atividade Específica de Hemaglutinação para *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Indicadores Fisiológicos

Hemocianina

Com respeito às concentrações de Hemocianina, a tendência foi para aumentar em ambos os tratamentos (Figura 5). Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostragens, mais não entre os tratamentos.

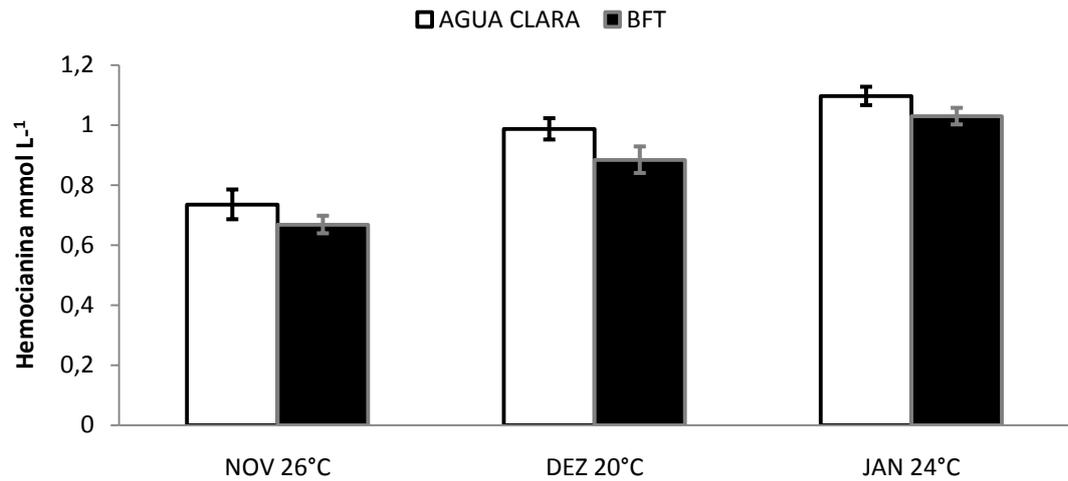


Figura 5.-Hemocianina na Hemolinfa de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Pressão Osmótica e Capacidade Osmótica

A Pressão Osmótica e a Capacidade Osmótica (Figura 6) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos nem entre as amostragens. No tratamento AC manteve uma tendência a aumentar ao longo do experimento. No tratamento BFT teve uma tendência parecida aumentando ligeiramente mais no mês de dezembro.

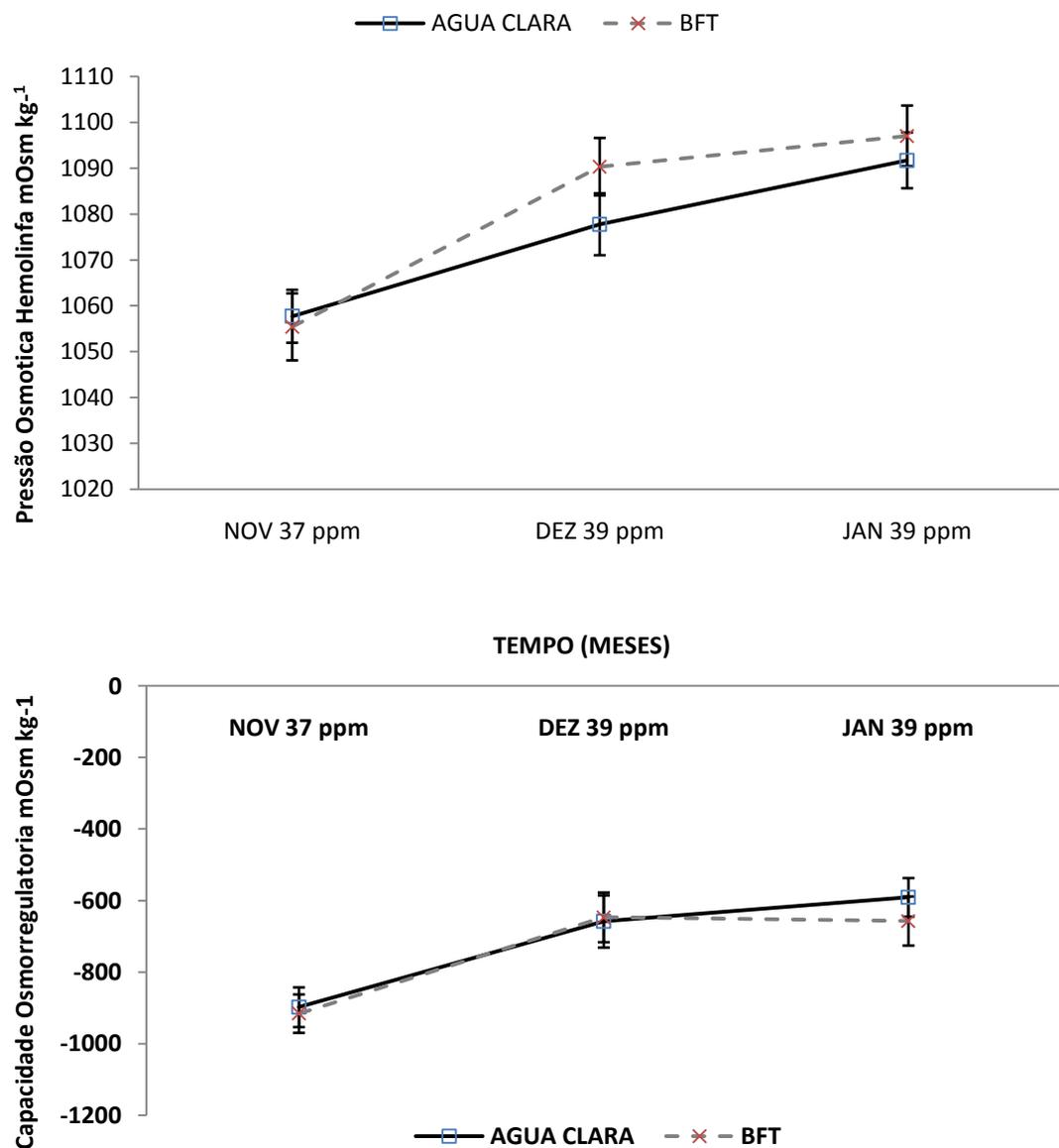


Figura 6 Pressão Osmótica Interna e Capacidade Osmótica de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT.

Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Proteínas Totais Solúveis:

A quantidade de proteínas na hemolinfa (Figura 7) foi significativamente maior ($p < 0.05$) no tratamento AC no início do experimento, mas com uma tendência a diminuir ao final do mesmo. O tratamento BFT apresentou um aumento significativo ($p < 0.05$) na última amostragem.

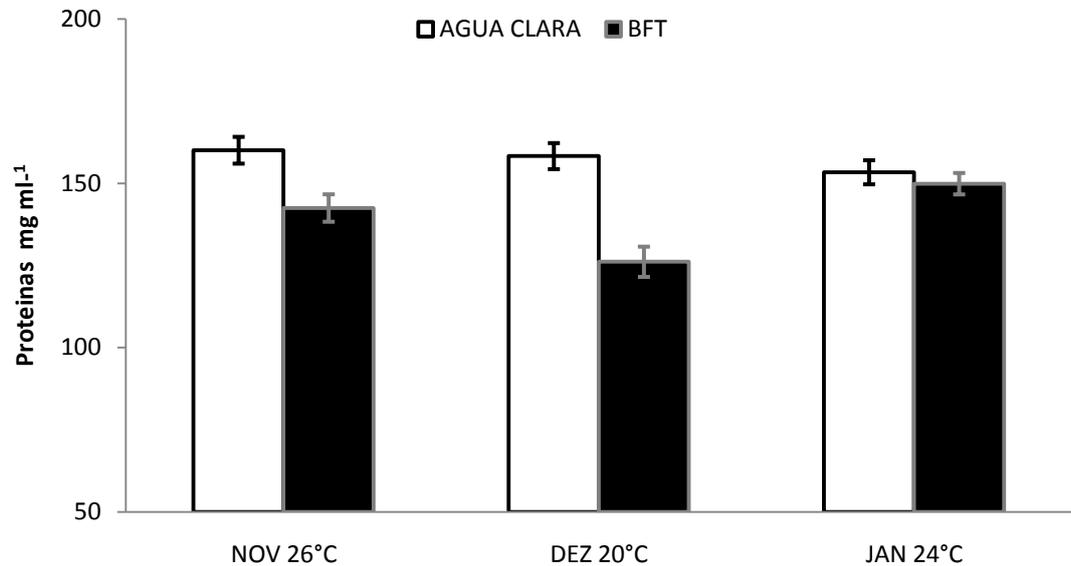


Figura 7 Concentração de Proteínas na Hemolinfa de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Acil-glicerídeos:

Os valores de triglicéridos (Figura 8) não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$) e sim entre os amostragens ($p < 0,05$). A tendência foi de incrementar os níveis diminuindo para a última amostragem em ambos os tratamentos.

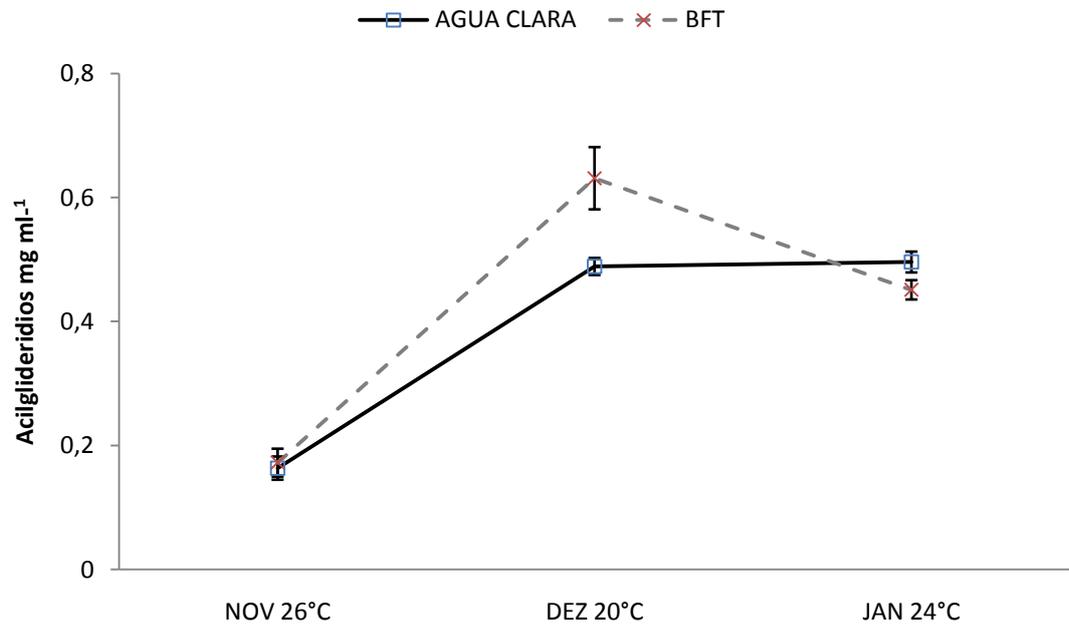


Figura 8 Concentração de Triglicerídios na Hemolinfa de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Glicose

Os valores de Glicose (Figura 9) também não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$) evidenciando-se uma tendência ao aumento com o passar do tempo, porém foram detectadas diferenças significativas entre as amostragens.

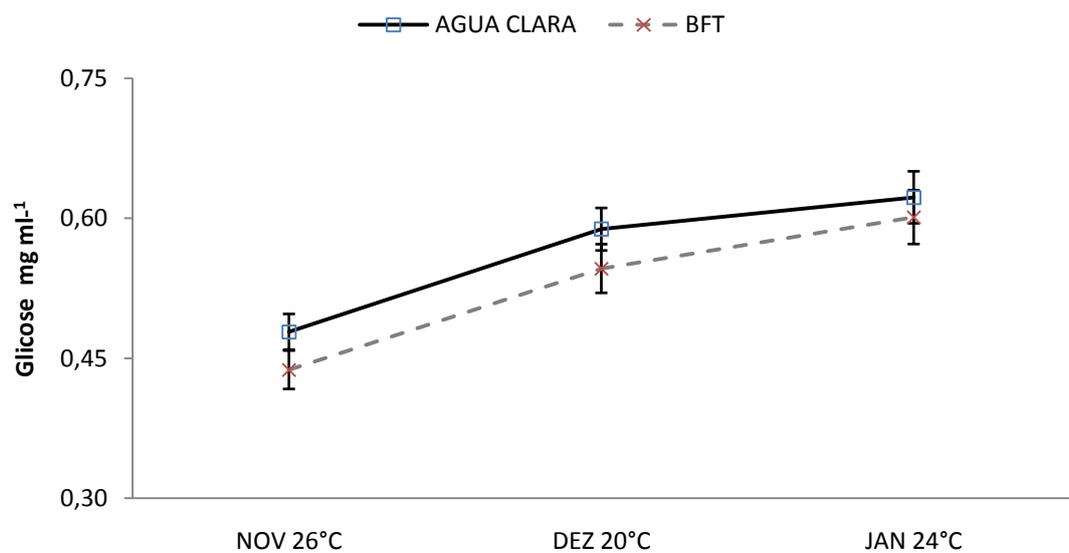


Figura 9 Concentração de Glicose na Hemolinfa de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Colesterol

Os níveis de colesterol (Figura 10) não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$), com exceção no mês de dezembro quando houve uma diminuição no tratamento BFT.

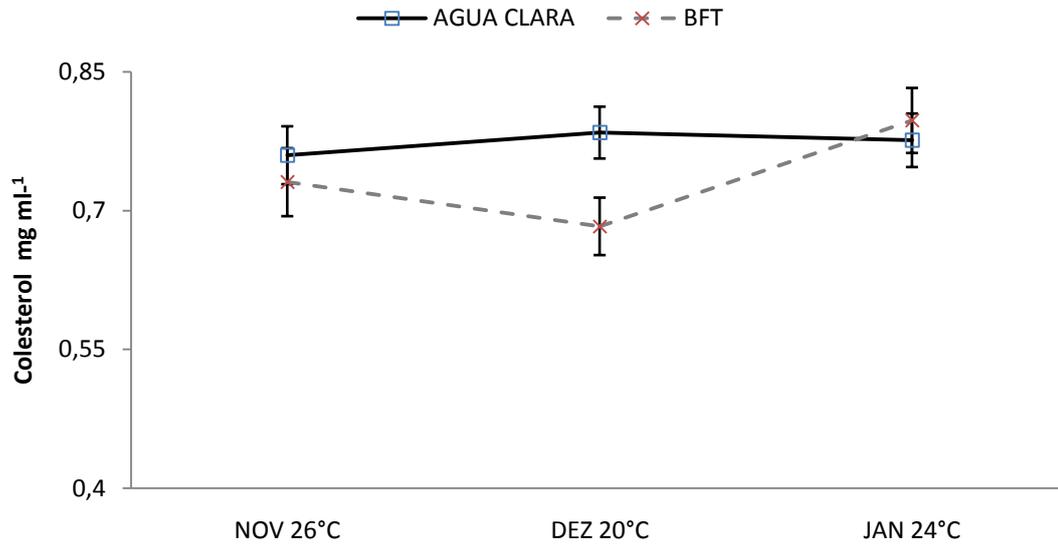


Figura 10 Concentração de Colesterol na Hemolinfa de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

Índice Hepato-Somático (IHS)

O IHS (Figura 11) indicou que os camarões submetidos ao tratamento BFT têm uma maior proporção de hepatopâncreas que os do tratamento AC ($p < 0,05$). Houveram também diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os amonstragens.

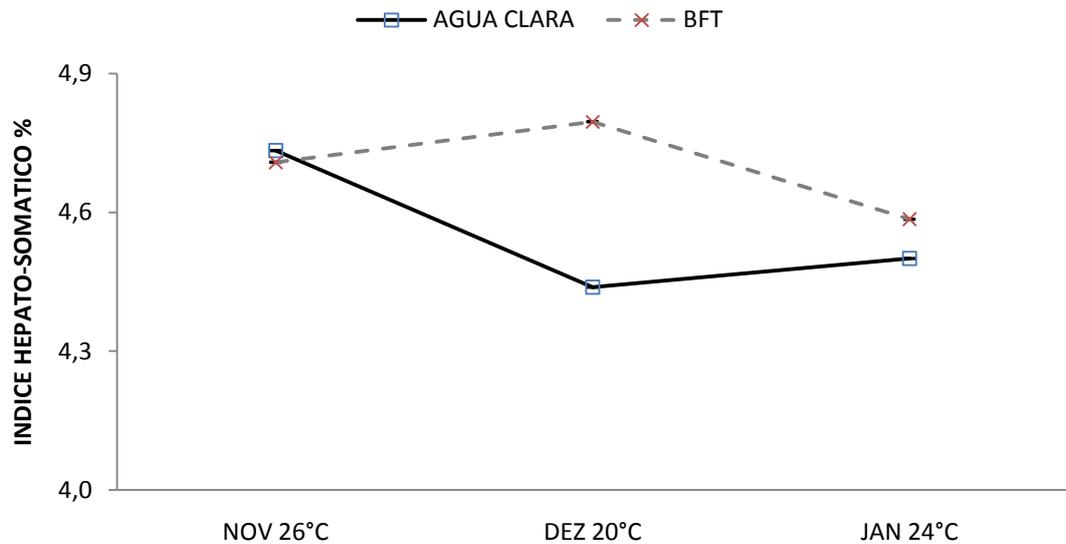


Figura 11 Índice Hepato-Somático de *F. duorarum* submetidos à água clara e ao sistema BFT. Também são indicadas as médias de temperatura para o período previo (30 dias) a cada amostragem.

7.7.-DISCUSSÃO:

Os indicadores imunológicos tais como número total de hemócitos (NTH), o estouro respiratório (NBT), a atividade específica de hemaglutinação (AEH) e a atividade da proPO (proPO) dos camarões do tratamento BFT apresentaram diferenças significativas em relação ao tratamento AC. Estes parâmetros são considerados bons indicadores do estado de saúde para camarões peneídeos como *L. setiferus* e *L. vannamei*, (Bachère et al., 1995; Le Moullac et al.; 1998^a; Pascual, 2000; Rosas *et al.*, 2001a; Rosas *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2003a; Pascual *et al.*, 2003b; Pascual, 2004, Vargas-Albores *et al.*, 2004)

Pode-se então afirmar que os animais do Tratamento BFT tiveram uma melhor condição imunológica, o que pode ser efeito do aporte de proteína de origem microbiana e das condições de cultivo no sistema BFT (Burford, 2004, Kuhn, 2009).

A redução da intensidade luminosa pela alta turbidez, a presença dos bioflocos microbianos, os aportes de C através do Melaço, porém a redução dos níveis de amônia e a alta oxigenação dos tanques podem ter reduzido o estresse dos camarões diminuindo o gasto de energia na procura de alimento nos camarões do tratamento BFT. Sobretudo se consideramos que além dos tratamentos a temperatura se apresentou como mais uma variável do experimento, colocando aos animais de ambos os tratamentos em um desafio térmico, já que a temperatura teve uma marcada influencia no mês de dezembro,

baixando até 18 °C, em todos os tanques de ambos os tratamentos durante vários dias do mês. Com isso, estima-se que tenha ocorrido um maior gasto energético dos animais para se manter. Porém os animais que tinham uma melhor estimulação do sistema imune puderam se manter em uma melhor condição. Os resultados indicam que os camarões do tratamento BFT tiveram uma melhor condição para se sobrepôr ao frio do inverno, já que quando terminou o intervalo de tempo frio estes mantiveram o crescimento. Ao contrário os animais do tratamento AC diminuíram o crescimento, indicando um elevado gasto energético para se manter durante o período frio, ou seja, os animais investiram toda a energia para se manter vivos e deixaram de investir em crescimento. Todas as variáveis imunológicas avaliadas mostraram diferenças significativas entre os tratamentos na última amostragem, manifestando assim uma melhor condição dos animais do sistema BFT.

Os hemócitos armazenam muitas moléculas importantes para o sistema imune dos crustáceos (Johansson, *et al.* 2000). O NTH manteve no tratamento BFT uma tendência a aumentar conforme passava o tempo, fornecendo uma maior capacidade para encarar o período de estresse térmico. Os valores obtidos de NTH neste trabalho são maiores que os obtidos por Rosas, *et al.* 2007 para adultos de *F. duorarum* silvestres e para juvenis de *L. setiferus* (Rosas, 2004) e parecidos aos reportados para juvenis de *L. vannamei* cultivados (Pascual, 2004). No caso dos animais do tratamento AC, a tendência do NTH foi de diminuir no último mês de cultivo, provavelmente por um aumento do estresse pelas baixas temperaturas nesse período.

Os valores de atividade específica de hemaglutinação foram parecidos aos encontrados para pré-adultos de *L. setiferus* (Goimier, 2006) que reporta altos níveis de hemaglutinação quando há maior quantidade de proteínas na dieta. Provavelmente mostrando que um mecanismo compensatório relacionado com a atividade da lectina pode estar operando (Pascual, 2004). Sanchez, (2001) e Pascual, *et al.* (2003b) mencionam que após de um período de estresse o número de hemócitos e a atividade da ProPO para *L. setiferus* tende a subir, como aconteceu neste estudo. O sistema imune innato dos camarões inclui a melanização por ativação da profenol oxidase proPO. O sistema proPO é uma parte importante do sistema imune e participa nos processos de imuno-reconhecimento, defesa e pode especificamente ser ativado por extremadamente baixas quantidades de componentes de células microbianas (Maw, 2009). No caso do

presente trabalho, os níveis de ProPO no tratamento BFT, se mantiveram altos mostrando animais mais saudáveis, diminuindo na última amostragem. Alguns autores (Goimier, 2006; Maw, 2009) mencionam que altos níveis de ProPO, implicam altos níveis de melanização e isso poderia causar lesões no espermátóforo e afetar a qualidade espermática dos animais. Pascual, *et al.* (2004) afirmam que os níveis de ProPO e hemócitos granulares dos animais em cultivo dependem da quantidade de carboidratos da dieta, provavelmente a ração utilizada juntamente com os bioflocos suprem estas necessidades dos camarões. Pascual, (2006) obteve altos níveis de proPO quando os níveis de proteínas eram também altos. O estouro respiratório é um indicador da capacidade fagocítica dos hemócitos. Os resultados indicam que os animais do tratamento BFT tiveram uma maior capacidade fagocítica. As diferenças na resposta basal sugerem que os camarões do tratamento BFT precisam de uma maior atividade fagocítica pela constante presença de bactérias na hemolinfa provenientes do meio de cultivo. É interessante observar que esta capacidade não se satura durante a ativação o que sugere que o tratamento BFT impacta no metabolismo dos hemócitos e na quantidade deles.

É importante destacar que em estudos onde se tem utilizados imunostimulantes dietéticos como os β -glucanos, o sistema imune dos camarões não tende a se saturar, provocando o que se conhece como “fadiga imunológica” (López *et al.*, 2003). Esta condição impede aos animais responder às alterações repetidas, isso limita seu papel como imuno-protetores de organismos em cultivos onde a presença de bactérias e agentes patogênicos pode ser recorrente. Nesse sentido o uso do BFT como sistema de cultivo parece imunostimular sem alcançar a saturação, permitindo aos animais responder apropriadamente a presença de agentes patogênicos sanguíneos sem limitar a resposta.

Os resultados dos indicadores de resposta imune sugerem que de forma geral os animais do tratamento BFT são mais estimulados para resistir períodos de estresse ambiental como foi neste caso a temperatura ao longo do experimento. Mas também é importante considerar que houve variações ao longo do dia em todos os parâmetros ambientais e tudo indica que o tratamento BFT trabalhou como amortecedor de essas mudanças. Outro fator importante de estresse foi a troca constante de água que manteve

maior atividade metabólica dos camarões do tratamento AC, enquanto os camarões do tratamento BFT, estavam protegidos pela turbidez e o escasso movimento da água.

Pascual, *et. al.*, (2003) que afirma que os níveis dos metabolitos na hemolinfa são baixos para organismos menos ativos indicando que o metabolismo pode ser um indicador da atividade geral de qualquer espécie. Os camarões de tético fechado com habito de enterramento, tem metabolitos sanguíneos menores e concentrações baixas de Hc que aquelas espécies de tético aberto mais ativamente nadadoras. Esta diferença poderia ser o reflexo de baixas demandas metabólicas associadas com essa baixa atividade de comportamento (Rosas, *et al.*2007). A concentração média de Hc neste estudo com uma espécie de tético fechado como o *F. duorarum* foi de 0,93 mmol l⁻¹ no tratamento AC e 0,86 mmol l⁻¹ para o BFT. Ambos resultados são, ligeiramente maiores que os detectados para adultos silvestres da mesma espécie (0,77 mmol l⁻¹) obtidos por Rosas, *et al.* (2007). Entretanto, são valores baixos se comparamos com 1,6 ou 1,8 mmol l⁻¹ para *L. vannamei* em cultivo (Pascual, 2003). A Hc é uma proteína multifuncional que participa nos mecanismos de defesa e estatus nutricional do camarão (Pascual,2004). A tendência de aumento das proteínas na hemolinfa no tratamento BFT indica uma influência do tratamento, caso contraria no tratamento AC em que os camarões somente contaram com as proteínas da dieta que mostraram uma diminuição para no final do experimento. Os acilglicérides, colesterol e glicose não foram influenciados pelo tratamento, o que pode significar que os camarões em ambos os tratamentos se nutrem se principalmente com a ração e que os flocos funcionam como um complemento que estimula o sistema imunológico (Andreatta e Rosas, 2006). Além disso, tem se encontrado diferencias entre os animais mantidos em condições de cultivo e os das populações silvestres que indicam que ao menos para o colesterol, os animais em cultivo têm uma melhor nutrição, independentemente do sistema de cultivo que seja usado (Rosas *et al.*, 2007). O índice hepato-somático apresentou valores maiores para os camarões do Tratamento BFT indicando uma maior capacidade de reserva e aproveitamento dos nutrientes e uma maior atividade digestiva, sobre todo, na amostragem do mês de dezembro em que as condições ambientais exigiam um maior gasto energético.

7.8.-CONCLUSÃO:

O tratamento BFT apresentou valores dos indicadores imunológicos que evidenciam uma excelente condição de saúde dos camarões neste meio e que eles estão mais bem preparados para resistir condições adversas como o estresse ambiental. Os indicadores nutricionais não mostraram diferenças, entre os tratamentos, revelando que *F. duorarum* de ambos os tratamentos se nutrem da ração e que os bioflocos bacterianos do sistema BFT funcionam possivelmente como um complemento que estimula fisiologicamente aos camarões, particularmente o sistema imunológico.

7.9BIBLIOGRAFIA:

- Adachi, K., Hirata, T., Nishioka, T., Sakaguchi, M., 2003. Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme. *Comp. Biochem. Physiol.* 134B, 135-141.
- Andreatta, E. R. Rosas, V. C. (2006) Perspectivas en la Investigación en nutrición de camarones Peneidos En: Rosas, C.; Carrillo, O.; Wilson, R. e Andreatta, E.R. Editores, Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED pp 325-327
- Bachère, E., Mialhe, E., Noël, D., Boulo, V., Morvan, A., Rodríguez, J., 1995. Knowledge and research prospect in marine mollusc and crustacean immunology. *Aquaculture* 132, 17-32.
- Barracco, M.A., Perazzolo, L.M. e Rosa, R. D. 2008 Inmunología del Camarón En: Morales, Q.V. e Cuellar, A. J. Editores Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. CYTED. Panamá
- Burford, M.A., Sellars, M.J., Arnold, S.J., Keys, S.J., Crocos, P.J. & Preston, N.P. 2004 Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-density rearing systems. *Aquacult. Res.*, 35, 508–515
- Bureau, B.P., Azevedo, P.A., Tapia-Salazar, M., Cuzon, G., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición*

- Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, Mérida, Yucatán, Mexico.
- Carrillo, O., Zaldívar, C. y Rosas C. (2006) Marcadores de Situación Nutricional y de Salud En: Rosas, C.; Carrillo, O.; Wilson, R. e Andreatta, E.R. Editores, Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED pp 105-124
- Chen, J. C., Cheng, S.-Y., 1993. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquatic Toxicology* 27, 281-292.
- Chen, J-Chu, Sha.-Y, Cheng. 1993. Hemolymph PCO₂, Hemocyanin, protein levels and urea excretion of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquatic Toxicology* 27: 281-292.
- Cruz, H., Sánchez, A., Rosas, C. y Pascual, C. 2009 *Manual de métodos para la evaluación del estado fisiológico del pulpo rojo Octopus maya*. UMDI, Fac. Ciencias, UNAM. Sisal, Yucatán. 41 pp.
- Cuzón, G., Lawrence A., Gaxiola, G., Rosas, C., Guillaume, J. 2004 Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture* 235 (2004) 513-551
- Destoumieux, D., Saulnier, D., Garnier, J., Jouffrey, C., Bulet, P., Bachere, E., 2001. Antifungal peptides are generated from the C terminus of shrimp hemocyanine in response to microbial challenge. *The Journal of Biological Chemistry* 276, 47070-47077.
- Goimier, Y., Pascual, C., Sánchez, A., Gaxiola, G., Sánchez, A. and Rosas, C. 2006. Relation between reproductive, physiological, and immunological condition of *Litopenaeus setiferus* pre-adult males fed different dietary protein levels (Crustacea; Penaeidae) *Animal Reproduction Science* 92 193-208
- Hagerman, L., 1983. Hemocyanin concentration in juvenile lobster (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions. *Marine Biology* 77, 11-17.
- Hagerman, L., Weber, R. E., 1981. Respiratory rate, hemolymph oxygen tension and hemocyanin level in the shrimp *Palaemon adspersus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 54, 13-20.

- Hernández-López, J., Gollas-Galván, T., Vargas-Albores, F., 1996. Activation of the prophenoloxidase system of brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). *Comp. Biochem. Physiol.* 113C, 61-66.
- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., Söderhall, K., 2000. Crustacean hemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191, 45-52.
- Kuhn, D.D.; Boardman, G.D.; Craig, S.R.; Flick Jr., G.J. & McLean, E. (2008) Use of Microbial Flocs Generated from Tilapia Effluent as a Nutritional supplement for Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of the World Aquaculture Society* Vol.39 No. 1 February 2008
- Le Moullac, G., de Labori, L. P., Saulnier, D., Goarant, C., Dehasque, M., 1998. Principles and problems involved in the evaluation of immunoestimulants on juvenile shrimp. In: Vol. IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, November 15-18, La Paz BCS, México, 1-10 pp.
- Le Moullac, G., Le Groumellec, M.L., Ansquer, D., Froissard, S., Levy, P., Aquacop, 1997. Hematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish Shellfish Immunol.* 7, 227-234.
- Le Moullac, G., Soyez, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J., Levy, P., 1998b. Effect of hypoxic stress on the immune response y the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus*. *Fish & Shellfish Immunology* 8.
- Lignot, J. H., Cochard, J. C., Soyez, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage y body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170, 79-92.
- Linan-Cabello M.A., Paniagua-Michel J. & Hopkins P.M. 2002. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutrition* 8, 299-309.
- López N., Cuzon, G., Gaxiola, G., Taboada, G., Valenzuela, M., Pascual, C., Sánchez A., Rosas, C. 2003. Physiological, nutritional and immunological role of dietary B 1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*. 224: 223-243.
- López, M. N. U. 2002. Efectos de dietas con inmunoestimulantes sobre las respuestas fisiológicas e inmunológicas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus*

- vannamei* (BOONE, 1931) Tesis Maestría en Ciencias, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México 78 p.
- Maw, S. Y.;Ching, Y. L.;Chun, H. L.;Ching, M.K. and Cheng, W. (2009)A second proPO present in white shrimp *Litopenaeus vannamei* and expression of the proPOs during a *Vibrio alginolyticus* injection, molt stage, and oral sodium alginate ingestionq Fish & Shellfish Immunology 26 (2009) 49–55
- Molina, C., Cadena, E., Orellana, F., 2000. Alimentación de Camarones en Relación a la Actividad Enzimática Como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo. R, (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- Moss, S. M., Divakaran, S. and Kim, B. G. 2001. Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). Aquaculture Research 32:125–131.
- Moss, S. M., LeaMaster, B. R. and Sweeney, J. N. (2000). Relative abundance and species composition of gram-negative, anaerobic bacteria associated with the gut of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in oligotrophic well water and eutrophic pond water. Journal of the World Aquaculture Society 31:255–263.
- Pascual, C., 2000. Immunological and biochemical aspects of *Penaeus setiferus* adult males, during acclimation period. Universidad Nacional Autónoma de México, 250 pp
- Pascual, C., Sánchez, A., Rosas, C (2007a) Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Facultad de Ciencias, UNAM México.
- Pascual, C., Sánchez, A., Rosas, C (2007b) Bases teórico-prácticas para el conteo de células sanguíneas de camarones cultivados. Facultad de Ciencias, UNAM México.
- Pascual, C., Sánchez, A., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., LeMoullac, G., Rosas, C., 2003. Haemolymph metabolic variables y immune response in *Litopenaeus*

- setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650.
- Pascual, C.; Rodriguez, T. e Rosas, V. C. (2006) Inmunidad y Nutrición En: Rosas, C.;Carrillo, O.;Wilson, R. e Andreatta, E.R. Editores, Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México,D.F.CYTED pp297-321
- Pascual,C., Gaxiola,G., Rosas,C., 2003^a. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Marine Biology* 142, 735-745.
- Pascual,C., Sánchez,A., Sánchez,A., Vargas-Albores,F., LeMoullac,G., Rosas,C., 2003^b. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650.
- Pascual,C.,Zenteno, E.,Cuzon, G.,Suarez, J., Sánchez, A., Gaxiola, G., Taboada, G., Maldonado, T. & Rosas, C. (2004) *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary proteins *Aquaculture* 239 (2004) 375–395
- Racotta, I. S., Palacios, E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Peneus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 351-356.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., and Manasveta, P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture* 167, 301-313.
- Rodríguez, J. and LeMoullac, G. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191, 109-119. 2000.
- Rodríguez, J., Cedeño, R., Molina, C., Otero, V., Valenzuela, V., Sotomayor, M. A., 2000. Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. In: Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M., Civera R. (Eds.), Mérida Yucatán, México.
- Rosas, C., Cooper, E.L., Pascual C., Brito, R., Gelabert, R., Moreno, T., Miranda, G. & Sánchez, A. 2004. Indicators of physiological and immunological status of

- Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae) Marine Biology 145: 401–413
- Rosas, C., Pascual, C., López, N., Sánchez, A., 2002^a. Metabolitos sanguíneos como herramientas para evaluar el estado nutricional de camarones peneidos. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Rosas, C., Cooper, E. L., Pascual, C., Brito, R., Gelabert, R., Moreno, T. and Sánchez, A. 2007. Physiological and immunological conditions of wild populations of *Farfantepenaeus duorarum* from the campeche sound (Crustacea, Penaeidae) Mar Biol 152:929–938
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., LePriol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sánchez, A., Van Wormhoudt, A., 2001a. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. Journal Experimental Marine Biology and Ecology 259, 1-22.
- Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., Le Moullac, G., Rosas, C., 2001. Hemolymph metabolic variables y immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. Aquaculture 198, 13-28.
- Spicer, J. I., Baden, S. P., 2000. Natural variation in the concentrations of haemocyanin from three decapods crustaceans, *Nephrops norvegicus*, *Licarcinus depurator* e *Hyas aranaeus*. Marine Biology 136, 55-61.
- Sun, Y., Yang, Q., Cui, Y., Li, J., 1996. Study of oxygen demand of newborn feed remains y its change during shrimp culture. J. Fish. China/Zhongguo Shuichan Kexue 3, 52-59.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P. & Decamp, O.E. (2002) Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets Aquaculture Nutrition 2002 8;121-137
- Van Holde, K., Miller, K. I., Decker, H., 2001. Hemocyanins and invertebrate evolution. The Journal of Biological Chemistry 276, 15563-15566.

- Vargas_Albores, F. Guzmán, M.A. y Ochoa, J.L. (1993) An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 106A: 299-303.
- Vargas-Albores, F., M.A., G.-M., J.L.,O., 1993. A lipopolysaccharide-binding agglutinin isolated from brown shrimp (*Penaeus californiensis* HOLMES) haemolymph. *Comp Bioch Physio.* 104, 407-143.
- Vargas-Albores, F., Yepiz-Plascencia, G., Jiménez-Vega, F., Ávila-Villa, A., 2004. Structural and functional differences of *Litopenaeus vannamei* crustins. *Comparative Biochemistry and Physiology*, B 138, 415-422.
- Zar JH (1974) *Bioestatistical analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs NJ:Prentice-Hall 620 p.

8.-CAPITULO III

CONSUMO DE OXIGÊNIO DO CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) CULTIVADO EM SISTEMA BFT (BIO-FLOC TECHNOLOGY).

8.1.-RESUMO

Um dos aspectos básicos para escolher o alimento mais adequado para promover crescimentos máximos com o menor custo, é o conhecimento dos requerimentos nutricionais, além da forma que uma espécie objeto de cultivo utiliza esses nutrientes. Assim para a avaliação de sistemas de cultivo é preciso considerar não só os dados de crescimento e a sobrevivência, mas também outros indicadores que revelem a forma em que se desempenham os camarões no cultivo, e a maneira em que usam a energia e sua capacidade para enfrentar condições adversas nos viveiros. Indicadores que podem ser fisiológicos, nutricionais o imunológicos. O consumo de oxigênio, metabolismo de rotina (MR) e o índice de calor aparente (ICA), considerados indicadores do estado fisiológico dos camarões, foram avaliados para *F. duorarum* cultivados em um sistema BFT e em um sistema com troca permanente (30% diário) (AC). Foram utilizadas câmaras respirométricas com a mesma água de cultivo dos camarões. Os resultados mostraram diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) com uma tendência a utilizar maior energia para o MR e menor energia para se alimentar (ICA) e menor crescimento no tratamento AC. Para o tratamento BFT, foi diferente, o uso da energia para manutenção das funções básicas e para se alimentar manteve-se constante ao longo do experimento. As condições dos camarões no tratamento BFT parecem dar aos animais uma melhor capacidade de resposta a fatores de estresse ambiental como a diminuição da temperatura que se apresentou no mês de dezembro, porque além de enfrentá-la bem os camarões continuaram crescendo, mantendo a mesma quantidade de energia para crescimento incluso durante o período crítico de temperatura, indicando que este tipo de cultivo pode ser uma opção para esta espécie de camarão em altas densidades de estocagem, onde os camarões mantêm um alto nível de estresse pela competição por espaço.

8.2.-ABSTRACT

One of the bases to choose the food best suited to promote maximum growth with the lowest cost is constituted by knowledge of the nutritional requirements and how to crop species using those nutrients. So for the evaluation of farming systems must be considered in addition to the growth and survival data, other indicators that show how they perform in shrimp cultivation, the way they use energy and ability to face adverse conditions in ponds. Indicators that are now known to be physiological, nutritional or immunological. Oxygen consumption, routine metabolism (RM) and the apparent heat index (ICA) as indicators of the physiological state of shrimp were evaluated for *F. duorarum* grown in a culture system with intensive aeration, organic fertilization and minimum water replacement (BFT) and a permanent replacement system (30% per day) of sea water without fertilization (AC). To fill the respirometric chambers were used tank water from experimental, or treatment flocs for BFT and clear water for AC treatment. The results showed significant differences between treatments ($p < 0.05$) with a tendency to use more energy for routine metabolism (survival) and less energy to feed (ICA) and grow in the AC treatment. For BFT treatment was different, the energy use for maintenance of the basic functions and feeding remained constant throughout the experiment. The conditions of the shrimp in the BFT treatment seem to give the animals a better capacity to respond to environmental stresses such as temperature drop occurring in the month of December, because in addition to coping well with the shrimp continued to grow, keeping the same amount of energy for growth even during the critical period of temperature, indicating that this crop may be an option for this species of shrimp at high densities, where shrimp are maintaining a high level of stress from competition for space.

8.3.-INTRODUÇÃO

O alimento é um dos fatores bióticos do meio, indispensável para o crescimento e reprodução dos organismos devido ao aporte de energia e nutrientes que este proporciona. O fluxo de energia no organismo permite quantificar a proporção de energia que se absorve, assimila e utiliza para o crescimento, a partir do alimento ingerido. Este fluxo de matéria e energia que mantém um estado fisiológico integral ocorre de maneira simultânea e incessante a partir dos nutrientes (lipídios, carboidratos e proteínas) aportados no alimento. A energia química contida nos nutrientes se transforma em gradientes elétricos, iônicos, osmóticos e de contração muscular, etc., indispensável para produzir trabalho e manter a integridade estrutural, para que os organismos se mantenham, cresçam, e se reproduzam. Pelo mesmo, os organismos vivos requerem um aporte freqüente de alimento pelo gasto contínuo de energia necessária para manter função e estrutura de todos os níveis de organização. Se a quantidade de energia ingerida diminuir abaixo da quantidade requerida para sua manutenção, o organismo consumirá as suas próprias reservas energéticas, e quando elas esgotarem, o organismo morrerá inevitavelmente (Eckert *et al* 1989). Em termos ecológicos e de cultivo, é muito importante se conhecer a forma em que os custos termodinâmicos da produção estão associados com a energia metabólica. Do total de energia assimilada por um organismo uma parte é destinada para produzir biomassa e a outra ao metabolismo respiratório. Nesse sentido se tem estimado que para produzir 100 kj de tecido novo precisam-se 120 e 130 kj, portanto, de 20 a 30 kj são reflexo da energia utilizada nos processos catabólicos do metabolismo e que são medidos como consumo de oxigênio.

Um dos aspectos básicos para estabelecer o alimento mais adequado que promova os máximos crescimentos com o menor custo, é constituído pelo conhecimento dos requerimentos nutricionais e a forma em que a espécie objeto de cultivo utiliza esses nutrientes. (Fraga, *et al.* 2002). Os estudos de Balanço energético integram diferentes conceitos fisiológicos e produtivos com o fim de estabelecer com bases científicas, as diferenças nutricionais entre diferentes tipos de alimentação tentando demonstrar qual tipo oferece os maiores benefícios para o produtor (Rosas, 2003) Assim, o consumo de oxigênio é uma medida direta dos custos de processamento do alimento ingerido. Esta

informação que pode ser de grande utilidade na hora de selecionar o melhor tipo de alimento ou condições de cultivo.

A quantidade de oxigênio consumido pode ser expressa em unidades de energia utilizando o coeficiente oxicalórico o qual depende da natureza do substrato metabólico que utilizam os organismos estudados. Existem diversos equivalentes energéticos publicados na literatura os quais têm sido calculados levando em consideração que a quantidade de energia respirada depende de maneira direta da quantidade de proteínas, lipídios e carboidratos que são metabolizados (Lucas, 1993). Levando-se Tomando em conta que o oxigênio é o último acceptor de elétrons da cadeia respiratória (R), esta pode ser medida como consumo de oxigênio, pelo que a quantidade de oxigênio consumido por um animal tem um equivalente de energia em termos de moléculas de ATP, os quais podem ser convertidos a unidades de energia convencionais (Joules). No caso dos camarões peneídeos um coeficiente oxicalórico comumente utilizado é 14,3 J por mg de oxigênio consumido. Este coeficiente representa uma média para animais que utilizam quantidades aproximadamente iguais de lipídios, carboidratos e proteínas como fonte de energia (Cuzon, *et al.* 2006).

As pesquisas sobre bioenergéticas se aplicaram ao estudo de camarões cultivados desde os anos 70's, primeiramente em *Macrobrachium* (Clifford e Brick, 1979) e depois com diferentes peneídeos (Rosas, 1998, 2001, 2002; Ocampo *et al.*, 2003). O oxigênio dissolvido tem sido um dos fatores ambientais de grande interesse porque dele depende o crescimento dos camarões. Os estudos realizados sobre o efeito do oxigênio dissolvido sobre o balanço energético de juvenis de *L. setiferus* têm demonstrado que o oxigênio afeta o crescimento devido a uma redução da energia disponível para realizar trabalho, o que impede a alimentação adequada dos animais. A relação custo-benefício fica evidente, se os níveis de oxigênio não são suficientes para satisfazer os custos associados com o consumo e processamento do alimento ingerido. Nestas situações os camarões deixam de comer, sacrificando a possibilidade de obter energia do alimento para ser dedicada ao crescimento. Esta estratégia evidentemente afeta o crescimento mas segura o aproveitamento eficiente do oxigênio que é necessário para produzir a energia metabólica para o mantimento das funções básicas, ou seja o metabolismo de rotina (Rosas *et al.*, 1998).

O efeito calórico do alimento, medido como Incremento de Calor Aparente (ICA) entre outros fatores tem sido utilizado como uma forma de medir os custos associados com as transformações mecânicas e bioquímicas do alimento em pós-larvas e juvenis de *L. setiferus* e postlarvas de *L. schmitti*, *F. duorarum* y *F. notialis*, alimentados com diferentes níveis de proteína dietética (40, 50, 60 y 65%). Nestes trabalhos tem sido evidenciado que as proteínas ingeridas através da dieta tem um grande efeito no ICA indicando que dietas com altos conteúdos protéicos resultam em altos custos metabólicos (Rosas, 1996). Segundo Chakraborty *et al.*, (1992) e Ross *et al.*, (1992) o ICA expressado como coeficiente é bom indicador da eficiência de transformação da energia perdida nos processos mecânicos e bioquímicos associados com a degradação do alimento. Tais coeficientes aumentam em função do aumento das proteínas da dieta como detectado nos menores valores de ICA obtidos com *L. setiferus* e *L. schmitti* e os maiores com *F. duoraum* e *F. notialis*. Isto confirma que as espécies de camarões cujos requerimentos protéicos são mais altos tendem a usar uma maior quantidade de energia no ICA, e como consequência de uma maior utilização de energia na absorção e assimilação do alimento. Isso significa que a quantidade de energia disponível para o crescimento dos organismos em cultivo estará diretamente associada com os custos no ICA, repercutindo no tamanho que os organismos podem alcançar em condições de cultivo (Rosas,2003)

O meio heterotrófico oferece uma ampla gama de nutrientes (Kuhn, 2009; Tacon 2002; Wasielesky, 2006), particularmente proteínas de origem microbiana e ainda não se sabe totalmente como estes podem influenciar o estado fisiológico e imunológico dos camarões em cultivo (Andreatta e Rosas, 2006), porém o presente trabalho pretende os seguintes objetivos:

8.4.-OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Determinar o Consumo de Oxigênio dos camarões *F. duorarum* cultivados em Sistema BFT e Agua clara

Objetivos Específicos

- Avaliar o Metabolismo de Rotina (MR) dos camarões *F. duorarum* cultivados num Sistema BFT e Água Clara
- Avaliar o Incremento de Calor Aparente dos camarões *F. duorarum* cultivados num Sistema BFT e Água Clara

8.5.-MATERIAL E METODOS:

Local do Experimento

O experimento foi conduzido na área de Estanques Exteriores para Engorda Experimental e as avaliações respirométricas foram feitas no Laboratório Central 2-Ecología da Unidade Multidisciplinar de Docência e Pesquisa (UMDI, pelas siglas em espanhol) da Faculdade de Ciências- Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus Sisal, localizada na região costeira noroeste do Estado de Yucatán (21°9'55. 22 N, 90°1'54. 93 W) no porto de abrigo em Sisal, município de Hunucmá em Yucatán, México

Animais Experimentais

Foram utilizados camarões juvenis *Farfantepenaeus duorarum* provenientes da área de Estanques Externos mantidos em dois tratamentos diferentes Tratamento Agua Clara (AC) e Tratamento BFT (Bio-Floc Technology).

Respirômetro

Utilizou-se um Oxímetro Digital de Fibra Optica de 10 Canais Modelo OXY 10, da marca Precision Sensing (Pre Sens®) com sensores ópticos de oxigênio, conectado através de uma interfase a um computador com Software OXY 10. O principio de operação do sensor esta baseado em apagar a luminescência causada pela colisão entre o oxigênio molecular e as moléculas de tinta luminescente no estado excitado.

Foi programado para fazer registros de Oxigênio Dissolvido (OD) a cada minuto. Foi colocado um sensor na entrada de água ao sistema para registrar os valores de OD antes de entrar nas câmaras. Sensores individuais foram colocados na saída de cada câmara com camarão incluindo o controle, sem camarão, para medir os níveis de OD de saída da câmara que indicava ao mesmo tempo a concentração de OD na câmara. Regulou se o fluxo de água de saída (ao redor de 15 seg 10 ml⁻¹) de forma tal que

houvesse diferença entre os valores de oxigênio de entrada e saída. Ajustou se o fluxo igualmente para todas as câmaras.

Neste sistema, o eletrodo foi colocado em uma peça tipo “T” de vidro na saída de cada câmara. Em tais circunstâncias foi possível obter medições do consumo de oxigênio freqüentemente o que permite estabelecer com muita precisão o tempo de aclimação, a respiração de rotina, e os efeitos que tem o alimento no metabolismo dos animais.

Avaliação Respirométrica

Tomando a conta que o metabolismo de rotina define se como a energia investida em atividade espontânea na ausência de alimento, os animais permaneceram em jejum por 24 horas antes de realizar as medições, ainda considerando que os camarões do tratamento BFT têm sempre disponibilidade de alimento vivo a ração foi suspensa 24 horas antes da avaliação.

Doze horas antes da colocação dos camarões nas câmaras do respirômetro, foi suspensa a alimentação.

Utilizaram se 14 camarões por tratamento para cada amostragem, Todas as medições foram feitas com repetição. Os camarões foram colocados individualmente em sete câmaras respirométricas preenchidas com água do respectivo tratamento e conectadas ao sistema de recirculação. As câmaras foram lacradas cuidando de não deixar bolhas de ar dentro da câmara. O tamanho e volume das câmaras dependeram do tamanho dos camarões no momento da amostragem; todavia foram do mesmo tamanho e volume para todos os camarões de ambos os tratamentos. Uma das câmaras ficou sem camarão e foi considerada como controle para cada tratamento.

Pela disponibilidade de câmaras e a logística do respirômetro, primeiro foi feito o amostragem para o tratamento Agua Clara e depois para o tratamento BFT. Usou se para cada amostragem água dos tanques de cultivo de cada tratamento, assim para ambos os tratamentos a água foi transportada em garraões de plástico até o laboratório, para cada um conjunto de medições simultâneas.

Os camarões permaneceram um período total de 24 h no interior das câmaras do respirômetro. Os dados das primeiras 8 h foram utilizados para analisar o MR. A partir das 8 h foi fornecida ração em todas as câmaras incluindo a controle. A ração foi

colocada nas câmaras através da entrada superior, a qual é fechada com uma tampa de borracha. Os dados após do fornecimento de ração foram utilizados para calcular o ICA.

Uma vez terminadas as medições, os camarões foram retirados das câmaras, secados e pesados (peso vivo) em uma balança digital Modelo Scout da marca Ohaus® com capacidade de 600 gr± 0.1 gr. Os camarões foram repostos aos tanques experimentais após a retirada de organismos para todas as medições. Os registros dos camarões que morreram durante a avaliação foram descartados. Devido ao fato de que a câmara controle registrou algumas vezes valores mais altos de oxigênio na saída que a entrada no tratamento BFT, as câmaras foram cobertas com plástico preto para eliminar ao máximo possível entrada de luz, evitando-se com isso o processo de fotossíntese dos organismos autótrofos dentro dos bioflocos.

O consumo de oxigênio foi determinado para cada câmara restando o valor de entrada menos o valor de saída, sendo este valor multiplicado pelo fluxo (em ml hora⁻¹) da água a través das câmaras. Finalmente foi calculado o valor do consumo de oxigênio retirando-se o valor de consumo na câmara controle. Os dados foram expressos em mg O₂ g⁻¹ h⁻¹ de acordo com Rosas, (2008).

$$VO_2 = [(O_{2e} - O_{2s}) \times F] / P_c$$

Onde

VO₂ = consumo de oxigênio em mgO₂ g⁻¹h⁻¹,

O_{2e} = concentração de oxigênio em mg L⁻¹ obtida na entrada da câmara,

O_{2s} = concentração de oxigênio em mg L⁻¹ obtida na saída da câmara,

F= fluxo em L h⁻¹ e

P_c = peso corporal úmido (g).

Para a avaliação do custo energético associado com a digestão e utilização do alimento (captura, trituração e ingestão do alimento), calculou-se o Incremento de Calor Aparente (ICA). Para o cálculo do ICA foi subtraído o valor de consumo de oxigênio do tempo inicial (MR), ao valor máximo que alcançou o metabolismo respiratório após da alimentação.

Análise estatística

Os valores obtidos do respirômetro foram transformados do formato OXY 10 ao formato do software EXCELL 2007. Os dados por tratamento foram tratados com

auxílio do software STATISTICA[®] versão 6.0. Foi aplicada a análise de variância (ANOVA, $\alpha=0,05$) entre os tratamentos e entre as amostragens. Após cumprir as premissas necessárias foi aplicado o teste t de Student para determinar se existiam diferenças significativas entre os tratamentos.

8.6.-RESULTADOS

Consumo de Oxigênio

O consumo de oxigênio apresentou diferenças significativas ($p<0.05$) entre os tratamentos. Os dados médios com os desvios padrão, máximos e mínimos obtidos são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 Consumo de Oxigênio ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{g}^{-1}$) de *F. duorarum* ao longo do experimento (118 días)

| | TRATAMENTO AGUA CLARA | | | | TRATAMENTO BFT | | | |
|------------|-----------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| | OUT | NOV | DEZ | JAN | OUT | NOV | DEZ | JAN |
| MED | - | 1,1 \pm 0,31 | 1,2 \pm 0,17 | 0,25 \pm 0,11 | 2,2 \pm 0,4 | 0,66 \pm 0,36 | - | 0,27 \pm 0,13 |
| MIN | - | 0,46 | 0,16 | 0,05 | 1,33 | 0,14 | - | 0,02 |
| MAX | - | 1,37 | 1,45 | 0,44 | 2,96 | 1,42 | - | 0,51 |

No Tratamento AC (Figura 1) não foram consideradas as avaliações de outubro devido a complicações técnicas que derivaram na morte de alguns dos animais, porém foi detectada uma grande irregularidade nas avaliações.

Para o Tratamento BFT (Figura 2) foi ainda mais complicado devido à interferência dos flocos com o fluxo corrente de água as T's de vidro aonde se localizaram os sensores ficaram entupidas e houve que ajustar os fluxos. Durante o mês de dezembro as complicações se multiplicaram provocando o descarte dos dados pela exagerada variabilidade ocasionada pelos entupimentos e queda da energia, provocando a morte de alguns camarões, por ficar o sistema sem circulação de água. Notou se um efeito da baixa de temperatura na resposta dos camarões, já que os consumos foram menores conforme a temperatura da água diminuía. Para melhor representar os consumos de oxigênio foram retiradas as medições com valores extremos, em função dos problemas detectados.

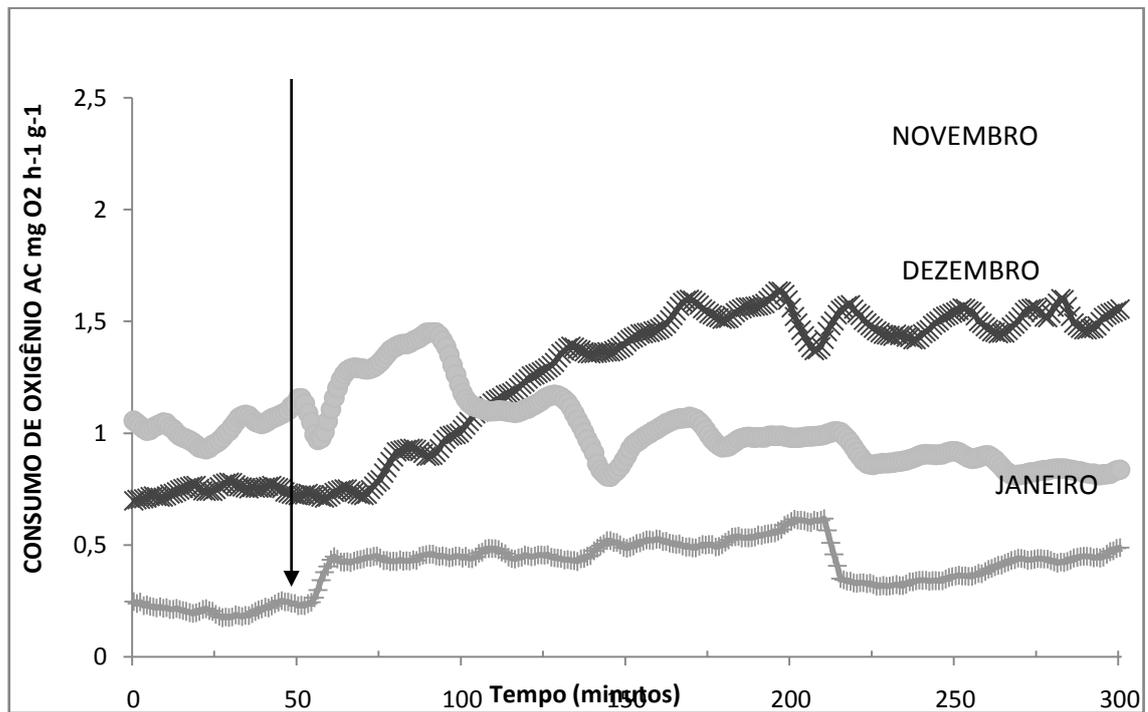


Figura 1 Consumo de Oxigênio ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de *F. duorarum* em Água Clara. A seta indica o momento da alimentação

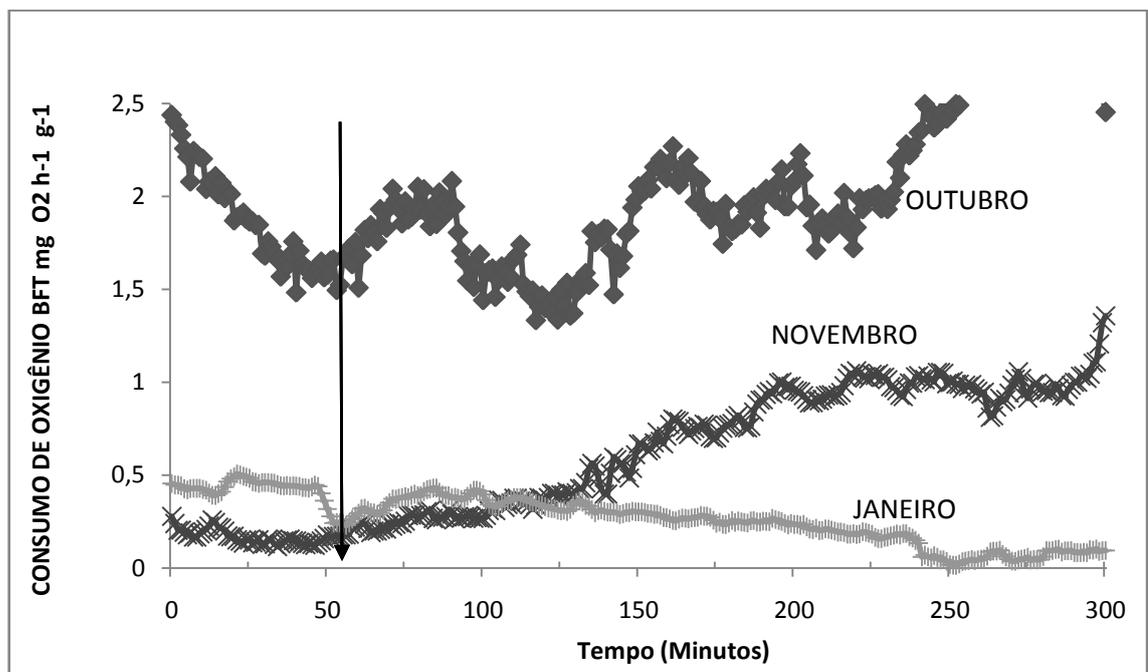


Figura 2 Consumo de Oxigênio ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de *F. duorarum* em Sistema BFT. A seta indica o momento da alimentação

Metabolismo de Rotina.

Os dados foram graficados por separado em Dados de Jejum e Dados Postprandial (Após da Alimentação).

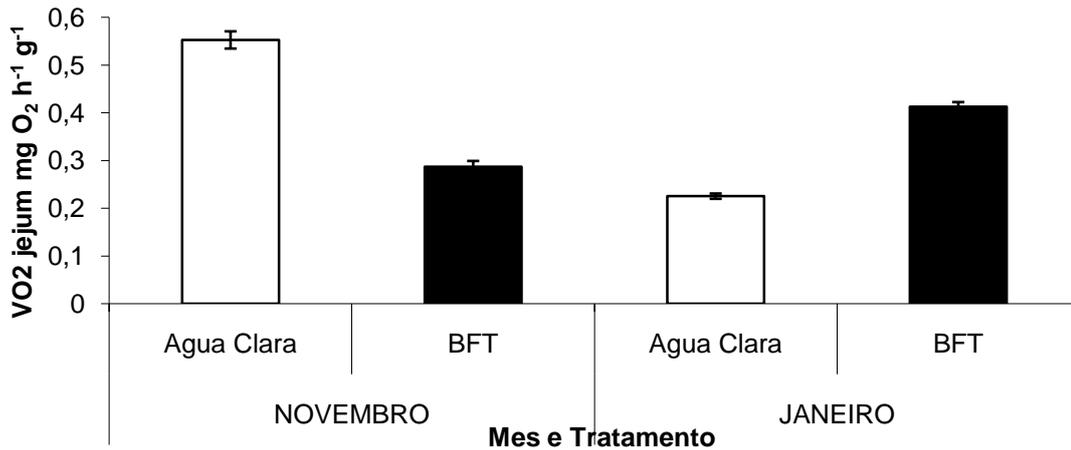


Figura 3.- Máximos e Mínimos de Consumo de Oxigênio em Jejum para *F. duorarum* em tratamento Agua Clara e BFT

Os resultados sugerem que em jejum os maiores consumos de oxigênio (Figura 3) para o tratamento AC foram registrados em novembro e os menores durante o mês de janeiro indicando um maior gasto energético para o começo do experimento, e uma redução para o final do mesmo. No tratamento BFT pelo contrario, no começo do experimento e após de haver passado o período de estresse pelo incremento de amônia antes da aplicação do melão de cana (Capítulo I) para controlar o, os consumos foram menores ao inicio do experimento e maiores ao final. A alta variabilidade observada nos valores de consumo de oxigênio individual foi analisada utilizando a variancia como uma medida dos efeitos dos meses de amostragem e dos tratamentos (Fig. 4). Pode se observar que as maiores dispersões dos dados foram observadas nos animais do tratamento AC e os menores no BFT, igualmente nas amostragens de novembro e janeiro. As diferenças significativas registradas na magnitude das variancias indicam que em ambos os meses os valores de consumo de oxigênio dos camarões do BFT resultaram ser significativamente menores aos obtidos pelos camarões do AC ($P < 0.05$).

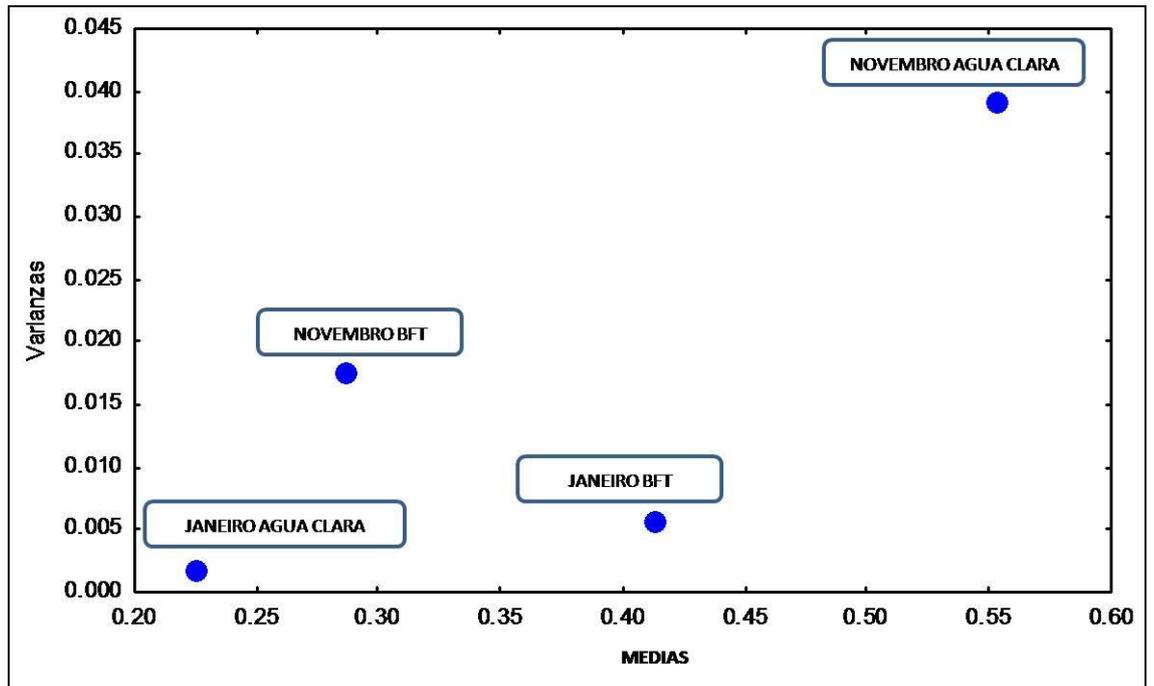


Figura 4.- Análise de Variância do Consumo de Oxigênio em jejum para *F. duorarum* ao longo do experimento (118 días)

O Metabolismo de Rotina para o tratamento AC pode ser observado na figura 5 e para o tratamento BFT na figura 6.

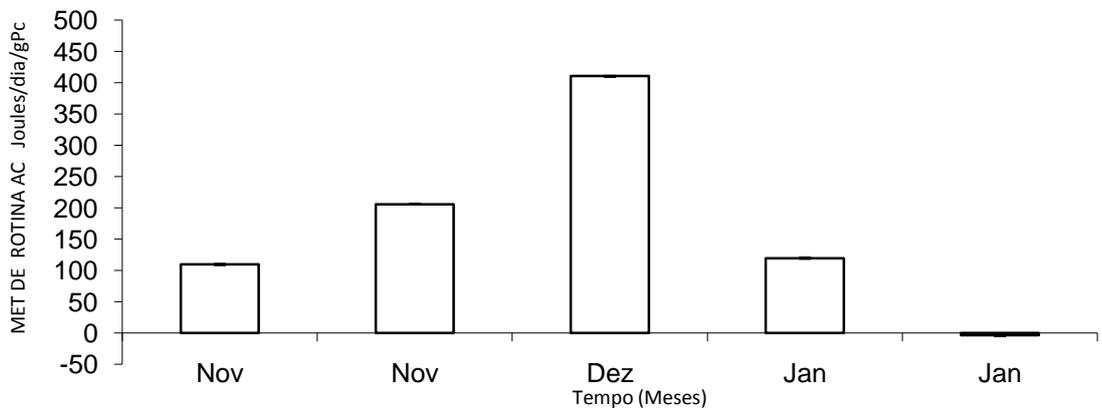


Figura 5.- Metabolismo de Rotina para *F. duorarum* em Tratamento Agua Clara

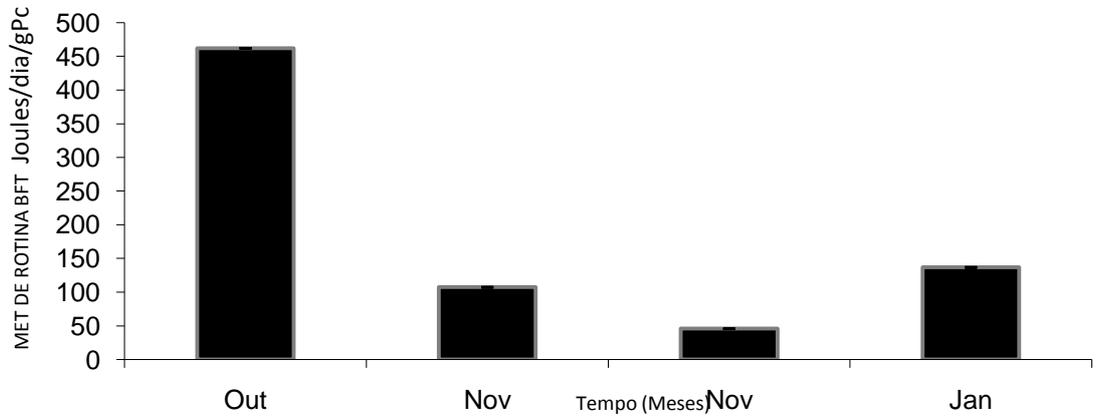


Figura 6.- Metabolismo de Rotina para *F. duorarum* em Tratamento BFT

Incremento de Calor Aparente

O Incremento de Calor Aparente (ICA) foi calculado com os dados Postprandial para AC (Figura 7) e para BFT (Figura 8). Houve diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os tratamentos em relação ao ICA. Os dados sugerem que o ICA foi mais elevado para os camarões do sistema BFT sobretudo para o mês de janeiro em que o nível dos flocos estava em seu máximo.

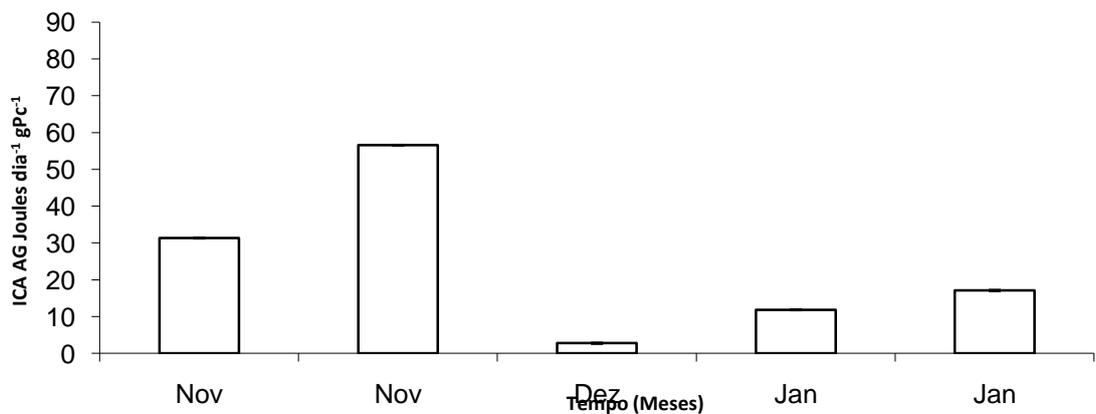


Figura 7.- Incremento de Calor Aparente para *F. duorarum* em Tratamento Agua Clara

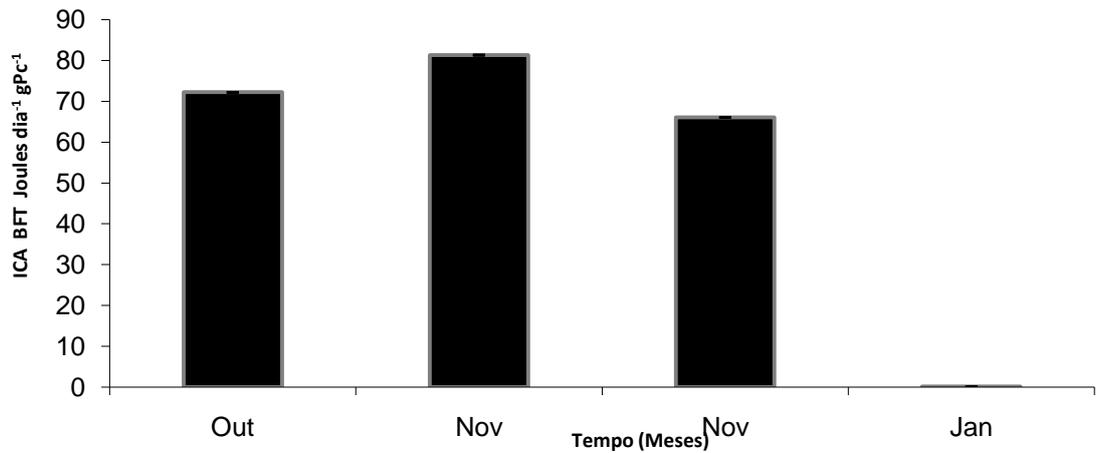


Figura 8.- Incremento de Calor Aparente para *F. duorarum* em Tratamento BFT

O gasto energético referente ao momento após em que os camarões foram alimentados (ICA) mostrou uma tendência a incrementar o gasto de energia na medida em que o tempo avançava. A mudança brusca dos consumos em janeiro talvez é possível que esteja relacionada com a temperatura (Tabela 2). Para o Tratamento BFT esta atividade mostrou uma tendência a se manter constante ao longo do experimento. O gasto energético dos camarões com bioflocos foi maior que em AC.

Tabela 2 Temperaturas nos tanques experimentais ao longo do experimento (118 dias) para ambos os tratamentos

| MÊS CULTIVO | TRATAMENTO | | | TRATAMENTO | | |
|----------------|------------|------|------|------------|------|------|
| | BFT | BFT | BFT | AC | AC | AC |
| | Media | max | min | Media | max | min |
| SET (inicio) | 28,14 | 32 | 24 | 28,41 | 32,5 | 24,7 |
| OUT | 26,69 | 28,6 | 28,2 | 26,84 | 28,8 | 28,3 |
| NOV | 23,17 | 25 | 18,2 | 23,59 | 26,7 | 19,8 |
| DEZ | 21,79 | 24,5 | 18,3 | 22,13 | 26,6 | 18 |
| JAN (final) | 23,25 | 32 | 18,2 | 23,22 | 25,5 | 21,9 |

8.7.-DISCUSSÃO

Em general os dados de consumo de Oxigênio de *F. duorarum* (Tabela 1) se mostraram altos em comparação com resultados publicados para *F. californiensis* (Villareal, 2003; Ocampo, 2000; 2003), *F. brasiliensis* (Scelso e Zúñiga; Brito, 2000) *L. setiferus* (Rosas, *et al.* 1997,1998,1999,2000) e *L. vannamei* (Villareal, 1994;Rosas, *et al.* 2001^a,2001^b) O fato realmente interessante é conhecer a capacidade de predição desses valores e a utilidade prática que eles possam ser para estimar a quantidade de energia disponível para produzir biomassa. Utilizando os dados da tabela 1 e considerando que 1) $As = P + R$, onde As é a energia assimilada, P a energia produzida e R a energia metabolizada, e 2) que $R = 0.25As$, então valores teóricos de P porém de crecimiento podem ser calculados (Clarke and Johnston, 1999; Gillooly *et al.*, 2001; Pörtner, 2001; Gillooly *et al.*, 2002; Clarke, 2004; Clarke and Fraser, 2004; Pörtner *et al.*, 2005) (Tabela 3).

Tabela 3. Cálculos para estimar a biomassa final alcançada por *F. duorarum* a partir de medições do consumo de oxigênio, mantidos em (AC) e (BTF)

| | | OUTUBRO | NOVEMBRO | DEZEMBRO | JANEIRO | PESO FINAL | PESO REAL |
|--------------------------------------|-----|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
| R 25%As Joules/g/dia | AC | | 377.52 | 411.84 | 85.8 | | |
| | BFT | 755.04 | 226.512 | | 92.664 | | |
| P 75%As Joules/g/dia | AC | | 1132.56 | 1235.52 | 257.4 | | |
| | BFT | 2265.12 | 679.536 | | 277.992 | | |
| Produção de biomassa g/dia | AC | | 0.04726878 | 0.05156594 | 0.0107429 | | |
| | BFT | 0.09453756 | 0.02836127 | | 0.01160234 | | |
| Produção de biomassa g/mes | AC | 2.83612688 | 1.41806344 | 1.5469783 | 0.32228715 | 6.12 | 6.29 |
| | BFT | 2.83612688 | 0.85083806 | 1.5469783 | 0.34807012 | 5.58 | 5.35 |

Os dados de consumo de oxigênio foram primeiro transformados a valores de energia utilizando o factor de 14.3 joules/mg oxigênio consumido (Lucas 1993). Desses valores se assumiram como (R), 25% (As) para cada mês onde se teve o valor correspondente de consumo de oxigênio. Com esse valor calculou-se (P) como 75% (As), o qual foi convertido a valores de biomassa considerando um conteúdo energético de 23960 joules/g de camarão (Pascual *et al.*, 2003). O valor em g/día obtido foi multiplicado por 30, considerando um período nominal por mês de 30 dias. Com fins de estimação assumiu-se que uma produção de biomassa similar foi obtida nos meses os

que não ocorreram dados de consumo de oxigênio e considerando-se que não houve diferenças marcantes de peso entre os tratamentos (capítulo 1). Finalmente, o peso dos camarões calculado para cada mês foi somado para assim se obter um valor de peso final associado ao período experimental de 118 dias, utilizado no presente estudo. É interessante destacar que o valor de peso final estimado e o peso final real obtido resultaram ser muito similares, demonstrando o valor preditivo que tem os valores de consumo de oxigênio obtidos neste trabalho. Isto permite estabelecer duas coisas: 1) que o sistema de medição utilizado para medir o consumo de oxigênio é confiável ainda com a sua alta sensibilidade (refletida na alta variabilidade registrada) e 2) que os camarões a pesar de ter sido cultivados em ambientes distintos contam com mecanismos fisiológicos que permite aos camarões compensar cada condição particular para ao final manejar em forma similar, a energia disponível para o crescimento.

O efeito da temperatura tem sido de grande interesse pelo efeito modulador que esta tem no metabolismo dos organismos acuáticos (Gillooly *et al.*, 2001; Pörtner, 2001; Clarke e Fraser, 2004). Mesmo assim o consumo de oxigênio mostrou a tendência de diminuir conforme houve uma diminuição na temperatura causada pelo inverno boreal, mostrando uma marcada influência da temperatura em ambos os tratamentos. Diversos autores indicam que variações na temperatura afetam de maneira direta a taxa respiratória de diversas espécies de camarões (Newell, 1969; Scelzo e Zuñiga, 1987; Kurmaly *et al.*, 1989; Villarreal e Ocampo, 1993; Villarreal e Rivera, 1993; Ocampo, *et al.* 2003). Ainda assim, com esta influencia da temperatura sobre o consumo de oxigênio, a resposta dos camarões foi diferente em quanto ao gasto energético.

O gasto energético dos camarões no tratamento BFT foi alto durante o início do cultivo, provavelmente em resposta ao aumento nas concentrações de amônia antes de ser agregado o melaço de cana. Os camarões precisaram um maior gasto energético para enfrentar as variações físicas e químicas da água. Uma vez passado esse estresse (diminuição da amônia e aumento dos bioflocos bacterianos) o consumo se reduz. Para os camarões do tratamento AC o maior consumo de oxigênio foi registrado no mês de dezembro quando as temperaturas foram menores (Tabela 2) e os camarões tiveram um maior gasto energético para manter a homeostase. Se relacionamos o índice hepatossomático, mais baixo durante dezembro, para camarões do tratamento AC pode-se pensar que diminuiram o consumo de alimento e que provavelmente os camarões

estavam destinando a maior quantidade de energia para sobreviver que para crescer, isso é ainda mais evidente ao revisar o gráfico de crescimento em peso que mostra até o mês de dezembro um crescimento similar, ligeiramente maior no tratamento AC, mais a partir deste momento, a taxa de crescimento diário foi maior no tratamento BFT. Provavelmente isto se deve ao fato de que o crescimento dos camarões do BFT não foi maior durante a maioria do experimento. Os camarões nunca deixaram de crescer, é dizer a eficiência de crescimento foi constante, já que no tratamento BFT a temperatura estaria controlando a quantidade de energia ingerida e não a eficiência com a que os camarões aproveitam os nutrientes para crescer (Rosas, 2003). Ao contrário aconteceu com os camarões do tratamento AC no mês de dezembro, quando esta eficiência foi limitada pela baixa de temperatura mostrando assim que a qualidade nutricional dos bioflocos proporciona um aumento que permite aos camarões enfrentar melhor as condições adversas.

Incremento de Calor Aparente

O gasto energético referente ao período de alimentação (ICA) diminuiu drasticamente no mês de dezembro no tratamento Agua clara, mostrando uma atividade de alimentação quase nula. Os camarões estavam destinando a maior quantidade de energia para se repor do período de estresse ambiental causado pela baixa temperatura. Pelo contrário no Tratamento BFT esta atividade se manteve constante durante todo o experimento, os camarões tinham uma melhor condição nutricional concordando com os níveis de metabolitos na hemolinfa (Capítulo II). Mesmo assim os indicadores imunológicos indicaram uma melhor condição para confrontar o estresse e continuar destinando uma grande quantidade de energia não só para se repor do estresse ambiental, mas também para se manter crescendo. Os dados indicam que em janeiro, aonde registrou se uma diminuição do ICA, esta atividade pode haver diminuído.

8.8.-CONCLUSÃO

No presente trabalho se observou que ainda com a alta sensibilidade do método utilizado para medir o consumo de oxigênio e a aparente variabilidade dos dados, os resultados tem alta preditabilidade e porém confiabilidade. A análise de variancia realizada para verificar as tendências demonstrou que os animais mantidos no sistema BFT tiveram uma taxa metabólicamenor que os mantidos na AC. Em ambos os tratamentos a temperatura afetou o consumo de oxigênio. Além disso, ainda com as

diferenças observadas entre os tratamentos, os resultados obtidos mostraram que os camarões foram capazes de compensar as diferenças ambientais para ao final do experimento dispor da quantidade de energia necessária para uma similar produção de biomassa.

8.9.-BIBLIOGRAFIA

- Andreatta, E. R. Rosas, V. C. 2006 Perspectivas en la Investigación en nutrición de camarones Peneidos En: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México,D.F. CYTED 322 p
- Brito, R., Chimal, and Rosas C. Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda; penaeidae). *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 244, 253-263. 2000.
- Chakraborty S.C., L.G. Ross, and B. Ross. 1992. Specific Dinamic action and feeding metabolism in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 103A: 809-815
- Chen, J. C. and Nan, F. H. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* (Osbeck, 1765) juveniles at different salinity levels (decapoda, Penaeidae). *Crustaceana* 68, 712-718. 1995.
- Clarke,A., 2004. Is the universal temperature dependence of metabolism? *Functional Ecology* 18, 252-256.
- Clarke,A., Fraser,K.P.P., 2004. Why does metabolism scale with temperature? *Functional Ecology* 18, 243-251.
- Clarke,A., Johnston,N.M., 1999. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Animal Ecology* 68, 893-905.
- Clifford, H. C. and brick, R. W. 1979. Oxygen consumption, nihydrin-positive N excretion and C dioxide production were monitored in juvenile *M. rosenbergii* fed a series of experimental diets containing variable levels of protein, lipid and carbohydrate. In. *Proceed. 10th annual meeting WAS, Honolulu, HI.* 22-26.
- Cuzón, G., Gaxiola, G. y Rosas, C. (2006) *Requerimientos Nutricionales* En: Rosas, C.;Carrillo, O.;Wilson, R. e Andreatta, E.R. Editores, Estado actual y

- perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, D.F. CYTED pp 197-227.
- Fraga, I., Galindo, J., Arazoza, M., Blanco, W., Díaz-Iglesias, E., Báez, M., y Bravet, E. (2002) Efecto de diferentes relaciones proteína/energía en el crecimiento de juveniles de Langosta Espinosa (*Panulirus argus*) CIVA 2002 (<http://www.civa2002.org>), 74-83
- Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M., Charnov, E.L., 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science* 293, 2248-2251.
- Gillooly, J.F., Charnov, E.L., West, G.B., Savage, V.M., Brown, J.H., 2002. Effect of size and temperature on developmental time. *Nature* 417, 70-73.
- Hill, R.W. 1997. Energy Metabolism y Thermal Relationship. P 7-57. En: *Comparative Physiology of Animals: An Environmental Approach*. Harper & Row, publishers. New York, USA. 656 pp.
- Kuhn, D.D.; Boardman, G.D.; Craig, S.R.; Flick Jr., G.J. & McLean, E. (2008) Use of Microbial Flocs Generated from Tilapia Effluent as a Nutritional supplement for Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of the World Aquaculture Society* Vol.39 No. 1 February 2008
- Kurmaly, K. Yule, A.B. and Jones, D.A. 1989. Effects of body size and temperature on the metabolic rate of *Penaeus monodon*. *Mar. Biol.* 103, 25-30.
- Lucas, A., 1993. *Bioenergétique des animaux aquatiques*. Masson éd., Paris, 171pp. Em Cuzon, 2006
- Newell, R.C. 1969. Effect of fluctuations in temperature on the metabolism of intertidal invertebrates. *Am. Zool.* 9, 293-307.
- Ocampo, V. L. 2000. Energía metabolizable y eficiencia neta de crecimiento bajo el efecto de variaciones medioambientales en el camarón. pp 187-201 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Ocampo. L., Rosas C., Villarreal-H., 2003. Effect of temperature on post-prandial metabolism of brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis*. *Journal-of-Shellfish-Research*, 22 (1):281-284.

- Pascual,C., 2000. Immunological and biochemical aspects of *Penaeus setiferus* adult males, during acclimation period. Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 250 pp.
- Pascual,C., Gaxiola,G., Rosas,C., 2003a. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Marine Biology* 142, 735-745.
- Pascual,C., Sánchez,A., Sánchez,A., Vargas-Albores,F., LeMoullac,G., Rosas,C., 2003b. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650.
- Pörtner,H.O., 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* 88, 137-146.
- Pörtner,H.O., Storch,D., Heilmayer,O., 2005. Constraints and trade-offs in climate-dependent adaptation: energy budgets and growth in a latitudinal cline. *Sci. Mar.* 69, 271-285.
- Rosas, C. (1996) Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. In: *Memorias Tercer Simposium de Nutrición Acuícola*, 11-13 de Noviembre, Nuevo León, México.
- Rosas, C. Sánchez, A. Diaz, E. Soto, L.A. Gaxiola, G. and Brito, R. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion on *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P.duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *J. World Aquac. Soc.*, 27, 92-102.
- Rosas, C., Cruz, H.,Sánchez, A., Sosa, V. y Pacual, C. (2008) Prácticas de Ecofisiología.UMDI-UNAM México 34 p.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soyey, C., Van Wormhoudt, A., 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 249, 181-198.

- Rosas, C., López, N., Mercado, P., and Martínez, E. Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal Crustacean Biology* 21[4], 279-292. 2001.
- Rosas, C., Martínez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sanchez, A., Soto, L. A., 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 234, 41-57.
- Rosas, C., Sanchez, A., Diaz-Iglesia, E., Brito, R., Martínez, E., Soto, L.A., (1997). Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *Penaeus schmitti* postlarvae (PL sub(10–18)) exposed to salinity changes. *Aquaculture* 152, 259–272.
- Rosas, C., Brito, R., Sánchez, A. y Gaxiola, G. (2003). Apuntes para el curso BIOENERGÉTICA DE CRUSTACEOS DECÁPODOS CON ÉNFASIS EN CAMARONES PENEIDOS. Grupo de Biología Marina Experimental. Fac. de Ciencias, UNAM 43 p.
- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola G., Van Wormhoudt, A., 2001c. Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus* juveniles (Crustacea, Decapoda ; Penaeidae). *Aquaculture Research* 32, 1-20.
- Rosas, C., Sanchez, A., Gallardo, P., Quiroz, J., Gaxiola, G., Diaz-Iglesia, E., Soto, L.A., 1995c. Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and artemia nauplii. *Aquaculture Nutrition* 1(1), 13-20.
- Rosas-C., Cuzon-G., Gaxiola-G., Pascual-C., Taboada-G., Arena-L., Van-Wormhoudt-A. (2002) An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 1; 268 (1):47-67.
- Rosas-C., Cuzon-G., Taboada-G., Pascual-C., Gaxiola-G., Van-Wormhoudt-A. (2001). Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic

- pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. -setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture-Research*, 32 (7):531-547.
- Rosas,C., Cuzon,G., Gaxiola,G., Pascual,C., Taboada,G., Arena,L., VanWormhoudt,A., 2002. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 268, 47-67.
- Rosas-C., Martinez-E., Gaxiola-G., Brito-R., Diaz-Iglesia-E., Soto-L. A.(1998). Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Marine-Ecology-Process-Series*. 174: 67-75.
- Rosas,C., Cooper,E.L., Pascual,C., Brito,R., Gelabert,R., Moreno,T., Miranda,G., Sánchez,A., 2004. Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). *Marine Biology* 145, 401-413.
- Rosas,C., Cooper,E.L., Pascual,C., Brito,R., Gelabert,R., Moreno,T., Sanchez,A., 2007. Physiological and immunological conditions of wild populations of *Farfantepenaeus duorarum* from the Campeche Sound (Crustacea Penaeidae). *Mar. Biol.* 152, 929-938.
- Rosas,C., Cuzon,G., Gaxiola,G., LePriol,Y., Pascual,C., Rossignol,J., Contreras,F., Sánchez,A., Van Wormhoudt,A., 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 259, 1-22.
- Ross L.G., R.W. McKinney, S.K. Cardwell, J.G. Fullarton, S.E. Roberts and B. Ross. (1992). The effect of dietary protein content, lipid content and ratio level on oxygen consumption and specific dynamic action in *Oreochromis niloticus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 103A: 573-578
- Scelso, A. M. y Zúñiga, O. (1987) Consumo de Oxígeno en el camarón *Penaeus brasiliensis* (Decápoda:Penaeidae) en relación a la salinidad y la temperatura.

- Fundación de Ciencias Naturales La Salle. Tomo XLVII No. 127-128 Puerto Madryn, Chubut, Argentina
- Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Villareal, H., Hernandez-Llamas, A. & Hewitt, R. 2003. Effect of salinity on growth survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). *Aquaculture Research* 34,187-193.
- Villareal, H., Hinojosa, P.&Naranjo, J. 1994.Effect of temperatura and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 108 A 331-336
- Villarreal, H. and Ocampo, L. 1993. Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). *Comp. Biochem. Physiol.* 106A, 197-101.
- Villarreal, H. and Rivera, J. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A(1), 103-107.
- Wasielesky, Jr. W.; Atwood, H.; Stokes, A.; Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396-40

9.-CONCLUSÕES GERAIS

O camarão-rosa do Golfo do México *F. duorarum* teve no Sistema BFT um crescimento em peso muito similar ao obtido no Tratamento Água Clara, mais se consideramos o grande gasto de energia para manter a troca permanente de água, o BFT se apresenta como mais uma boa possibilidade para o cultivo desta espécie. Em relação ao crescimento durante o período de inverno, os resultados indicam que *F. duorarum* cultivado em sistema BFT teve uma melhor condição fisiológica para se sobrepor baixa temperatura durante o inverno já que parece além de ser uma fonte importante de alimento complementar, também fornece melhores condições ambientais que geram uma melhor condição dos animais. A redução no consumo de ração no tratamento BFT

é uma excelente oportunidade para diminuir os custos do cultivo, sobre tudo considerando o elevado gasto de energia para manter uma elevada troca de água. A sobrevivência pareceu ser influenciada, pela temperatura baixa. Os parâmetros físicos e químicos, não tiveram diferenças significativas em ambos os tratamentos, somente a temperatura apresentou uma diminuição significativa durante o mês de dezembro, mais faz parte do inverno boreal, exceto isso tudo parece indicar que o Sistema BFT fornece condições estáveis de qualidade de água para o cultivo desta espécie.

O Tratamento BFT apresentou valores dos indicadores imunológicos que revelam uma excelente condição de saúde dos camarões neste médio e que eles estão mais bem preparados para resistir condições adversas como o estresse ambiental. Os indicadores nutricionais não mostraram diferenças, entre os tratamentos, revelando que os camarões de ambos os tratamentos se nutrem da ração e que os bioflocos bacterianos do sistema BFT funcionam possivelmente como um complemento que estimula fisiologicamente aos camarões, particularmente o sistema imunológico. Ainda com a grande variabilidade dos dados, os resultados dos indicadores bioenergéticos: consumo de oxigênio, metabolismo de rotina e índice de calor aparente mostraram uma tendência dos camarões do tratamento AC a aumentar o gasto energético para se manter vivos durante o período de estresse ambiental causado pela baixa da temperatura no inverno, enquanto os camarões do tratamento BFT mantiveram um gasto constante para além de se manter vivos, seguir crescendo. Ainda que os camarões em cada condição experimental compensassem de maneiras diferentes, o resultado final da predição da energia disponível para crescimento foi similar em ambos os tratamentos. Isto sugiere que, com o método apropriado, é possível realizar estimativas confiáveis da produção de biomassa a partir de avaliações do consumo de oxigênio. Para a avaliação do tipo dos sistemas de cultivo, foi boa a consideração destes indicadores já que deram uma idéia da forma em que se esta aproveitando a energia e do comportamento metabólico dos camarões nestes sistemas, o que permite valorizar a eficiência energética destes camarões em cultivo. Neste caso fazendo uma integração de todas as variáveis medidas nos tratamentos BFT e AC, estas indicam uma maior eficiência para o crescimento normal e, sobretudo em condições adversas, dos camarões mantidos no tratamento BFT.

Todas as avaliações feitas indicam que nutricionalmente os camarões aproveitaram a ração suministrada, mas os indicadores imunológicos e fisiológicos demonstraram que

a ingesta dos flocos microbianos melhora e estimula fisiologicamente aos camarões do BFT que enfrentaram muito melhor o teste de estresse de temperatura. Porém é preciso continuar avaliando a condição fisiológica dos camarões cultivados neste sistema, para poder confirmar a qualidade imunestimuladora destes flocos além das vantagens que ofereceu o BFT em consumo de ração e gasto de água. Adicionalmente a estimulação imunológica do sistema BFT mostrou que o sistema imune não se satura, ainda com que os animais estão expostos a presença constante de agentes potencialmente patogênicos. Isto é particularmente importante se consideramos que esta imuno-estimulação permanente pode resultar em grandes vantagens quando se apresentem organismos patogênicos no sistema de cultivo.