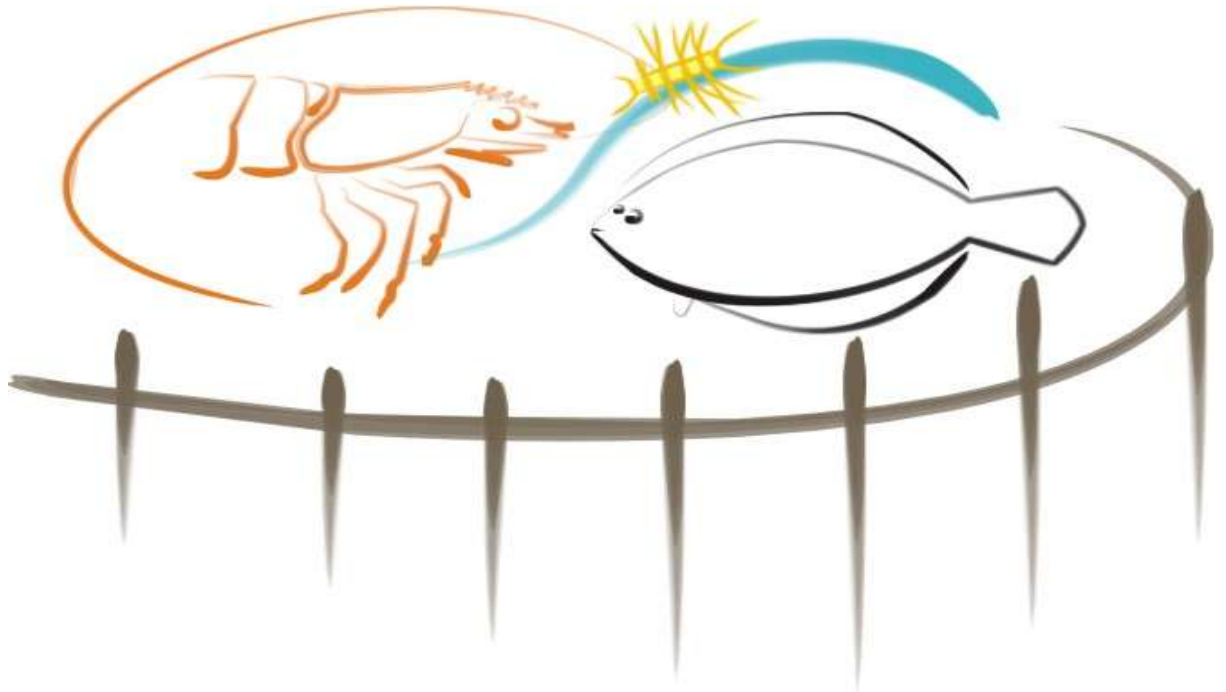


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUICULTURA**



**Avaliação reprodutiva de machos de camarão  
rosa *Farfantepenaeus duorarum* cultivados em  
sistema BFT “Bio-Floc Technology”**

**MIGUEL ARÉVALO LÓPEZ**

FURG  
RIO GRANDE-RS.  
2010.

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

**Avaliação reprodutiva de machos de camarão  
rosa *Farfantepenaeus duorarum* cultivados em  
sistema BFT “Bio-Floc Technology”**

**MIGUEL ARÉVALO LÓPEZ**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do grau de mestre em aquicultura no Programa de Pós-Graduação em aquicultura de Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Dr. Wilson Wasielesky (FURG).

Co-Orientadora: Dra. Martha Gabriela Gaxiola (UNAM).

Rio Grande-RS- Brasil

Dezembro 2010.

## Sumario:

<b>Resumo</b> .....	<b>ix</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>x</b>
<b>1.-INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2.- OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1.- Objetivos específicos</b> .....	<b>14</b>
<b>3.-MATERIAL E METODOS</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1.- Local do experimento</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2.- Desenho experimental</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3.- Animais experimentais e infra-estrutura na fase de terminação</b> .....	<b>15</b>
<b>3.4.-Fase de pré-maturação</b> .....	<b>17</b>
<b>3.5.-Fase de desempenho reprodutivo</b> .....	<b>18</b>
<b>3.6 - Parâmetros físico-químicos da Água</b> .....	<b>20</b>
<b>3.7- Condição nutricional</b> .....	<b>20</b>
<b>3.7.1.-Amostragem de organismos e obtenção das amostras de hepatopâncreas e gônada</b> .....	<b>20</b>
<b>3.7.2.-Análises bioquímicas</b> .....	<b>21</b>
<b>3.8.-Estudo da qualidade reprodutiva dos machos adultos de <i>F. duorarum</i></b> .....	<b>22</b>
<b>3.8.1.-Cálculo do índice espermatozossomático IES</b> .....	<b>23</b>
<b>3.9.- Análises estatísticas</b> .....	<b>23</b>
<b>4.-RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
<b>4.1.- Fase de terminação e pré-maturação</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2.- Fase de desempenho reprodutivo</b> .....	<b>26</b>
<b>4.3.-Parâmetros reprodutivos durante a fase de desempenho reprodutivo</b> .....	<b>28</b>
<b>4.4.-Análises de metabólitos em tecido na fase de desempenho reprodutivo</b> .....	<b>30</b>
<b>5.- DISCUSSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>5.1.-Parâmetros físico-químicos da água</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2.-Desempenho durante a fase de terminação e a fase de pré-maturação</b> .....	<b>36</b>
<b>5.3.- Fase de desempenho reprodutivo</b> .....	<b>37</b>
<b>5.3.1.-Qualidade de água e crescimento dos organismos</b> .....	<b>37</b>
<b>5.3.2.-Efeito da alimentação na qualidade espermática</b> .....	<b>38</b>
<b>5.4.- Análises da condição nutricional</b> .....	<b>40</b>
<b>6.- CONCLUSÃO</b> .....	<b>45</b>

**7.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ..... 46**

## Lista de tabelas

<b>No.</b>	<b>Título da tabela</b>	<b>Pag.</b>
1	Esquema utilizado durante a fase experimental com machos reprodutores de <i>F. duorarum</i> .....	15
2	Alimento semi-úmido produzido na UMDI-UNAM para reprodutores de camarões peneídeos (percentagem de alimento).....	19
3	Protocolo utilizado para análise bioquímica em hepatopâncreas e gônadas dos machos de <i>F. duorarum</i> .....	21
4	Composição da solução salina livre de cálcio utilizada para a preservação dos espermatóforos de <i>Farfantepenaeus duorarum</i> .....	22
5	Parâmetros de qualidade de água durante as fases de terminação (60 dias) e pré-maturação (30 dias) realizada no setor de engorda.....	24
6	Dados do número de organismos, peso e sobrevivência durante as três fases do experimento.....	26
7	Parâmetros de qualidade de água durante a fase de desempenho reprodutivo (45 dias) no setor de maturação de camarões.....	27
8	Contagem e caracterização de células espermáticas durante o início e final da fase de desempenho reprodutivo de machos de <i>F. duorarum</i> .....	28
9	Concentração média de Triglicérides, Colesterol e Proteínas Totais encontrados em gônada e hepatopâncreas de camarões adultos de <i>Farfantepenaeus duorarum</i> .....	31

## Lista de figuras

<b>No.</b>	<b>Título da figura</b>	<b>Pag.</b>
1	Tanques cobertos com malha tipo sombrite (a); Substrato utilizado nos tanques para aumentar a área, a figura corresponde a um tanque com água clara (b).....	16
2	Reservatório de água da UMDI-UNAM.....	17
3	Colocação dos elastômeros no músculo do camarão.....	18
4	Tanques do setor de maturação na UNAM.....	19
5	Valores médios com desvio padrão do volume de floco medido durante a fase de Terminação e a fase de Pré-maturação.....	25
6	Peso médio dos machos reprodutores de <i>F. duorarum</i> durante a fase de desempenho reprodutivo.....	27
7	Valores com desvio padrão (A) Peso do espermatóforo em (mg) (B) Índice de normalidade IN em %, (C) Índice espermatossomatico IES em %, (D) Índice gonadossomático IGS em %, de machos reprodutores de <i>F. duorarum</i> durante a fase de desempenho reprodutivo.....	29
8	Variação do índice hepatossomático, durante a amostragem inicial e final da fase de desempenho reprodutivo de machos de <i>F. duorarum</i> .....	32

## **Dedicatória**

Dedico esta dissertação a minha esposa Rosa del Carmen, minha filhinha Ana Cristel, a meus Pais Paula e Miguel e a meus irmãos Santiago†, Ninfa, Cornélio, Hilda, Lorenzo, Pilar, Ambrosio e Verónica.

## **Agradecimentos.**

- À UNAM, pelo apoio para realização dos estudos no exterior, mediante a faculdade de ciências.
- Ao Dr. Wilson Wasielesky Jr. Por ter aceitado ser meu orientador e pelo apoio que recebi desde minha primera entrevista, e suas sugestões no trabalho de dissertação.
- À Dra. Martha Gabriela Gaxiola, que foi minha co-orientadora, por sua colaboração desenho experimental, sugestões no trabalho de dissertação e financiamento do experimento.
- Dr. Carlos Rosas por seu apoio pessoal e profissional durante estes anos.
  - Aos profesores Dr. Walter Quadros Seiffert e Dr. Luis Henrique da Silva Poersch pelo aceite de participação na banca examinadora.
- À Dra Cristina Pascual pela capacitação que recebi na técnica de qualidade espermática de camarões peneidos.
- Ao Programa de pós-graduação em aquicultura da FURG pelo aceite da realização da parte experimental no México. A todo pessoal que compõe este programa (profesores, funcionários e alunos).
- Cintia Nakayama pela revisão e correção da gramática do texto, André Braga e Sabrina Suita pelo apoio no manejo do programa para o análises estadístico.
- A Dariano Krummenauer, pelo apoio recebido antes e durante minha estadia no Brasil.
- Ao pessoal do programa camarão da UMDI-UNAM: M.Sc. Manuel Valenzuela, M.Sc. Gabriela Palomino, Eng. Adriana Paredes e Patricia Balam pela larvicultura e engorda de *F. duorarum*
- A M.Sc. Ariadna Sanchez, Dra. Elsa Noreña, Mauricio Emerenciano e Moises Cab pelo apoio nas análises bioquímicas e manejo de reprodutores.



## Resumo

O camarão-rosa *Farfantepenaeus duorarum* é um importante recurso pesqueiro que apresenta distribuição no Oceano Atlântico desde o estado de Maryland nos EUA até a Bahia de Ascensión, no estado de Quintana Roo no México. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade reprodutiva e nutricional de machos mediante a contagem e caracterização de células espermáticas originados de camarões mantidos em sistemas convencionais com água clara e sistema de bioflocos. O experimento foi desenvolvido em uma fase de terminação (60 dias), pré-maturação (30 dias) e de desempenho reprodutivo (45 dias). Os machos foram submetidos a três tratamentos: BF+P bioflocos com ração comercial 35 % PB ; BF+PF bioflocos com alimento fresco e ração e CR+PF água clara com alimento fresco e ração. Na fase de desempenho reprodutivo os camarões de todos os tratamentos seguiram para a sala de maturação onde foram alimentados com alimento fresco. Os parâmetros de qualidade de água durante as três fases do experimento não mostraram diferença significativa entre tratamentos ( $P>0,05$ ) e estiveram nos níveis adequados para o cultivo de camarões. Durante a fase de desempenho reprodutivo, não foram encontradas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) no número de células espermáticas totais entre tratamentos, sendo que o tratamento CR+PF apresentou  $8,9\pm 5,83 \times 10^6$  células e os tratamentos BF+P e BF+PF apresentaram  $12,35\pm 10,2$  e  $12,96\pm 5,2 \times 10^6$  células respectivamente, com uma percentagem maior que 96% em todos os tratamentos, após um período de 45 dias de desempenho reprodutivo. Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) nos dados de Índice Gonadosomático, entre tratamentos, na monstagem inicial nem na amostragem final. Os dados de metabólitos na gônada dos machos não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre tratamentos. Os dados de Triglicérides e Colesterol na gônada não apresentaram diferença significativa. Já os dados de proteínas totais no tratamento CR+RF foram diferentes estatisticamente dos tratamentos BF+R e BF+RF. O Tratamento BF+P demonstrou ser uma opção para preparar machos reprodutores de *F. duorarum*.

Palavras-chave: bioflocos, machos, espermatozoides, alimento fresco, metabólitos.

## Abstract

The pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* it is an important fishery resource in Mexican Gulf. Its distribution in the Atlantic Ocean ranges from Maryland state (USA) to the Bay of Ascencion in the Quintana Roo state (Mexico). The objective of this study was to evaluate the reproductive and nutritional quality of males by counting and characterization of sperm cells originating from clear water and biofloc water system. The experiment was conducted in a final period (60 days), pre-maturity (30 days) and reproductive performance (45 days). The males were assigned to three treatments: BF+P, Bioflocs with commercial feed 35%CP ; BF+PF biofloc with fresh food and commercial feed and CR+PF clear water with fresh food and commercial feed. The water quality parameters during the three phases of the experiment showed no significant differences among treatments ( $P > 0.05$ ) and were at the levels appropriate for shrimp farming. During the reproductive performance, there were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in the total number of sperm cells between treatments. The CR+FP treatment showed  $8.9 \pm 5.83 \times 10^6$  cells and treatments BF+P and BF+PF showed  $12.35 \pm 12.96$  and  $10.2 \pm 5.2 \times 10^6$  cells respectively, with a greater percentage to 96% in all treatments even after a period of 45 days of reproductive performance. There was no significant difference ( $P > 0.05$ ) in the Gonadosomatic Index between treatments in initial sample and final sample. Data of metabolites of male gonad showed no significant difference ( $P > 0.05$ ) between treatments. Levels of Triglycerides and Cholesterol in the gonad showed no difference, since the data of total protein treatment CR+PF was statistically different ( $P < 0.05$ ) treatments BF+R and BF+R F. The BF+P treatment demonstrated in this work is an option for preparing *F. duorarum* males.

Keywords: biofloc, male sperm, fresh food, metabolites.

## 1.- INTRODUÇÃO

O aproveitamento dos recursos pesqueiros constitui uma atividade econômica de importância fundamental para a região costeira do Golfo do México (México), pois gera empregos diretos e indiretos em três zonas de relevância: Tamaulipas-Veracruz, Sonda de Campeche e o Mar Caribe mexicano. No litoral do estado de Campeche a espécie de maior importância em captura é o camarão-rosa *Farfantepenaeus duorarum* (Cárdenas, 2008). A distribuição natural do camarão-rosa *Farfantepenaeus duorarum* no Oceano Atlântico é desde o estado de Maryland (EUA) passando pelo Golfo do México, Mar do Caribe até a Bahia de Ascensión, estado de Quintana Rôo no México (Perez-Farfante, 1969). No início da década de 70, a captura alcançou 27.000 toneladas por ano, na qual *F. duorarum* representou aproximadamente 90 % do total capturado. Atualmente, a captura situa-se ao redor de 3.000 toneladas e esta espécie contribuiu com menos de 1.000 (Arreguin-Sanchez *et al.* 2008). Com aumento no esforço de captura Existe uma tendência a baixar a captura desta espécie no Golfo de México (Ramos *et al.* 2003).

Uma das alternativas para aumentar os volumes de produção desta espécie de camarão, é que seja produzido mediante a aquicultura. A expansão da produção aquícola está vinculada a os impactos causados ao meio ambiente, ao elevado custo de aquisição de terras e pela dependência de óleo e farinha de peixe presentes na composição das rações (Browdy *et al.* 2001). Neste contexto, o uso do sistema BFT pode ser uma alternativa de produção, já que não renova água, tem grande aproveitamento do alimento natural (flocos microbianos) e minimiza o uso de rações, (Wasielesky *et al.* 2006; Kuhn *et al.* 2009).

Os flocos microbianos são constituídos por uma ampla variedade de organismos, tais como bactérias, protozoários, metazoários, rotíferos e microalgas que são agregados á matéria orgânica suspensa mediante fatores físicos e químicos (Schryver, *et al.* 2008). A aplicação deste sistema proporciona a conversão dos compostos nitrogenados presentes na água em biomassa microbiana *in situ* (Schryver *et al.* 2008; Ju *et al.* 2008; Wasielesky *et al.* 2006; Maicá, 2009). Esta conversão é feita pelas bactérias presentes nos bioflocos que absorvem o N-inorgânico, convertendo-os em proteína microbiana, o que ajuda a manter as concentrações de amônia em valores adequados para a espécie (Avnimelech e Kochba 2009). Os bioflocos proporcionam uma fonte alimentícia barata e uma maior eficiência na conversão alimentar nos

camarões (Crab *et al.* 2007). Outro ponto importante é a biossegurança desses sistemas, pois promove a queda nos riscos de introdução e disseminação de enfermidades devido à troca de água limitada ou até mesmo nula (McIntosh *et al.* 2000; Bratvold e Browdy 2001; Samocha *et al.* 2001; Burford *et al.* 2003 e Weirich *et al.* 2002).

A tecnologia de cultivo de camarões encontra-se diretamente relacionada com o domínio e conhecimento do ciclo de vida das espécies. Para alcançar produções economicamente viáveis, sobretudo na produção de pós-larvas de qualidade, a condição nutricional e o manejo dos reprodutores desempenham um papel muito importante. Esses fatores determinam a quantidade e a qualidade das progênies nas larviculturas comerciais, predizendo a rentabilidade das mesmas (Racotta *et al.* 2003). Isto se alcança com uma alimentação de qualidade, principalmente rica em ácidos graxos que tem um papel muito importante na reprodução (Peixoto *et al.* 2008).

A proteína oriunda dos alimentos é apontada como responsável pela qualidade dos espermatóforos e dos espermatozoides em espécies como *L. vannamei* e *L. setiferus* (Sánchez *et al.*, 2001; Cevallos-Vazquez *et al.* 2003; Perez-Velazquez *et al.* 2003). As proteínas têm ainda um papel importante na formação do espinho, estrutura que compõe parte do espermatozoide. O espinho dos espermatozoides tem uma função importante durante a fecundação do óvulo. As células espermáticas sem espinho são consideradas uma anomalia e o resultado final são ovos não fertilizados (Goimier *et al.* 2006).

Uma alternativa para ter respostas quase imediatas aos problemas nutricionais de camarões em cativeiro é fazer a análise de metabolitos presentes na hemolinfa (Rosas *et al.* 2002), ou no hepatopâncreas (Sanchez *et al.* 2001; Racotta *et al.* 2003; Braga, 2009). Entre os metabolitos de maior importância para se analisar em reprodutores de camarões estão o Colesterol, Proteína Totais e Triglicerídeos (Braga, 2009; Wouters *et al.* 2001; Rosas *et al.* 2002). Uma maior concentração de Colesterol nos metabolitos metabólico indica uma maior necessidade deste para a produção do hormônio da muda. Os Triglicerídeos são a maior fonte de energia no metabolismo dos camarões (molécula de armazenamento de energia) devido a que a glândula digestiva não tem a capacidade de armazenamento de energia (Braga 2009). Se tratando do aparato reprodutivo masculino, mais precisamente nas gônadas dos machos é preciso que existam nutrientes suficientes, já que é nos testículos é que são formadas as células espermáticas (Medina 1994), E que por sua vez recebem o aporte destes nutrientes do hepatopâncreas, transportados pelo plasma sanguíneo (Perez-Jar 2005).

As Proteínas são necessário em altas concentrações durante o processo de maturação e reprodução. As dietas artificiais utilizadas para reprodutores são geralmente 10-20 % mais ricas em Proteínas que as rações de engorda, entretanto possuem conteúdo de proteína mais baixa, quando comparadas com alimento fresco (Harrison 1990). Estudos nutricionais com reprodutores recomendam 40-50% de proteína na dieta já que um excesso desta pode resultar em prejuízo para a qualidade espermática (Roeland *et al.* 2001; Goimier *et al.* 2006).

Um dos fatores que mais afetam a quantidade de espermatozóides nos reprodutores é a condição de cultivo na qual os animais foram submetidos (Cevallos-Vazquez *et al.* 2003). De acordo com Alfaro (1990), a taxa de fertilidade dos ovos, esta diretamente relacionada com a qualidade espermática sendo uma ferramenta *in vivo* para avaliar qualidade reprodutiva geral dos machos adultos de camarões peneídeos (Arévalo, 2008).

A maior parte dos estudos com reprodutores de camarões peneídeos são focados no desempenho reprodutivo expressados em parâmetros como a qualidade dos ovos (composição bioquímica), número de ovos, taxa de fertilização e eclosão, tamanho do ovo (Peixoto *et al.* 2004a; Peixoto *et al.* 2004b; Palacios *et al.* 1999). No entanto é possível encontrar trabalhos de desempenho reprodutivo relacionados à qualidade espermática, em *Farfantepenaeus paulensis* (Peixoto *et al.* 2004a; Nakayama 2008; Braga *et al.* 2010), *Litopenaeus setiferus* (Arévalo, 2003; Alfaro, 1990; Rosas *et al.* 1995; Sánchez, 2001) e *Litopenaeus vannamei* (Perez-Velazquez *et al.* 2001; Cevallos-Vazquez *et al.* 2003). Por outro lado, dados de qualidade reprodutiva de machos de *Farfantepenaeus duorarum* são inexistentes. Além disso, estudos sobre os efeitos da qualidade espermática de animais cultivados em meio de cultivo em bioflocos também são desconhecidos, já que esta é uma forma relativamente nova de cultivo.

## **2.- OBJETIVO GERAL**

O objetivo do presente trabalho é avaliar a qualidade reprodutiva e nutricional de machos de *Farfantepenaeus duorarum* mantidos em sistema de BFT (Bioflocos) com adição de alimento fresco e ração comercial.

### **2.1.- Objetivos Específicos**

1. Avaliar os aspectos quantitativos e qualitativos das células espermáticas dos organismos, mediante sua a contagem e caracterização.
2. Avaliar o índice de normalidade das células espermáticas dos machos, mantidos em diferentes condições de cultivo.
3. Analisar a condição nutricional mediante a análise de Triglicerídeos, Colesterol e Proteínas Totais solúveis no hepatopâncreas e na gônada de machos em diferentes sistemas de cultivo.

### 3.- MATERIAL E MÉTODOS.

#### 4.1 - Local do Experimento:

O experimento foi realizado nos setores de engorda e maturação da “*Unidade Multidisciplinar de Docência e Pesquisa – UMDI* (por suas siglas em espanhol)”, da *Universidade Nacional Autônoma do México - UNAM*, localizada no porto de Sisal, município de Hunucmá, Estado de Yucatán, no México. (21°9’55.22 N, 90°1’54. 93 W).

#### .2- Desenho experimental

O experimento foi dividido em 3 fases, com 3 tratamentos cada uma (*tabela 1*).

Tabela 1. - Esquema utilizado durante a fase experimental com machos reprodutores de *F. duorarum*.

Fase	Densidade Org(m <sup>2</sup> )	Peso inical(g)	Sistema de cultivo	Tipo de alimento	Siglas do tratamento
Terminação (60 dias)	15	14,4±1,9	Água clara	Ração e Fresco	CR+PF
	15	13,9±2,3	Biofoco	Ração	BF+P
	15	13,4±2,0	Biofoco	Ração e Fresco	BF+PF
Pré-maturação (30 dias)	15		Água clara	Ração e Fresco	CR+PF
	15		Biofoco	Ração	BF+P
	15		Biofoco	Ração e Fresco	BF+PF
Desempenho Reprodutivo (45 dias)	3,8	16,03±4	Água clara	Fresco e semi-humido	CR+PF
	3,8	16,02±4	Água clara	Fresco e semi-humido	BF+P
	3,8	17,39±1,	Água clara	Fresco e semi-humido	BF+PF

#### 3.3 – Animais Experimentais e infra-estrutura na fase de terminação

Os animais experimentais foram adultos de *F. duorarum* geração F1, produzidos no setor de maturação da *UMDI-UNAM*. Nesta etapa foram mantidos organismos de 13 gramas, durante um período de 60 dias, a uma densidade de 15 organismos m<sup>2</sup> em tanques de 5 metros de diâmetro com base de fibra de vidro e o fundo coberto de geomembrana (PVC) de 1 mm de espessura. A coluna de água foi mantida em 85 cm. Os tanques foram cobertos com uma malha tipo sombrite (50%) para reduzir a intensidade luminosa, e evitar a predação por aves (*Figura 1a*).

Em cada tanque foram colocadas 3 “conjuntos” de substratos artificiais (tela de nylon comercialmente chamada de “feltro” e base de tubo de PVC), correspondendo a um acréscimo de 150% da área dos tanques (*Figura 1b*).

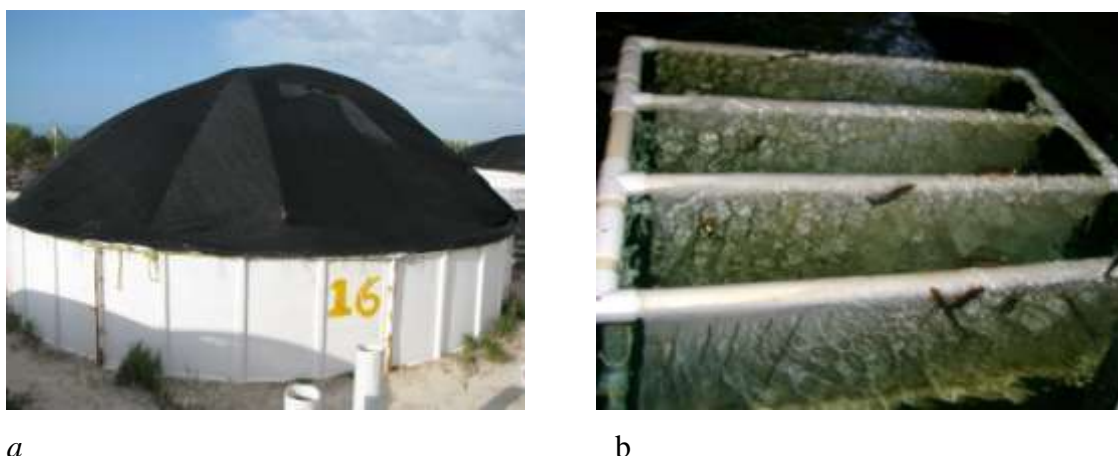


Figura 1. Tanques cobertos com malha tipo sombrite (a); Substrato utilizado nos tanques para aumentar a área, a figura corresponde a um tanque com água clara (b).

A alimentação consistiu em lula fresca 1 vez ao dia (09:00 h), no tanque com água clara (**CR+RF**) e no tratamento com sistema de biofoco (**BF+RF**), a quantidade de alimento fresco fornecida em quantidade equivalente a 5% da biomassa por dia. As outras quatro alimentações (14:00, 20:00, 00:00 e 04:00 h) foram realizadas com alimento comercial.

Em outro tanque com sistema de biofoco (**BF+R**) os camarões foram alimentados com ração comercial exclusivamente (35% proteína) oferecida 5 vezes ao dia (09:00, 14:00, 20:00, 00:00 e 04:00 h).

A aeração foi suprida por meio de um anel central furado tipo “moulinette” ligado a um soprador, descrito por Cuzon *et al.* (2004). O objetivo de usar este desenho de aeração foi para fazer um padrão de circulação em forma de cogumelo, já que este padrão de circulação faz que uma quantidade considerável dos sólidos se concentre perto da estrutura central de drenagem. Todos os dias era efetuada uma retirada do excesso de matéria orgânica mediante a drenagem (por um tempo aproximado de 5 segundos) do cano que controlava a saída de água do tanque de cultivo. A fonte de aeração foi de um soprador (Sweetwater® de 5 HP de potencia).

O abastecimento de água para o setor de Engorda e Maturação da UMDI-UNAM foi efetuado mediante bombeamento de poços profundos de água marinha, com bomba de 5 HP. A água foi transportada e estocada num reservatório com



capacidade de 150m<sup>3</sup> (Figura 2). Com auxílio de uma bomba de 3 HP, a água seguia deste reservatório para os diferentes setores do laboratório.



Figura 2.- Reservatório de água da UMDI-UNAM.

Para o início do cultivo com bioflocos nos tanques experimentais dos tratamentos em sistema de bioflocos, foram inoculados 5.000 litros de água proveniente de outros tanques que já possuíam cultivo em bioflocos. A seguir os tanques foram preenchidos com do mar até atingirem a coluna de água de 85 cm. Durante todo o período experimental os níveis de amônia (nos tratamentos BF+R e BF+RF) foram controlados através da adição de melão de cana, procurando-se manter uma relação C:N de 20:1 conforme o recomendado por Avnimelech (1999). Duas vezes por semana, durante a fase de terminação e durante a fase de desempenho reprodutivo nos tratamentos (BF+R e BF+RF) foi medido o volume de flocos, segundo o protocolo proposto por Schryver *et al.* (2008).

### **3.4.- Fase de pré-maturação**

Nesta fase os organismos continuaram no mesmo setor de engorda da UMDI-UNAM por mais 30 dias e para alimentação dos animais que recebiam alimento fresco (CR+RF e BF+RF), foi fornecido (lula e mexilhão) duas vezes por dia (09:00 e 00:00 h) e complementado com ração comercial com 35% de proteína (14:00, 20:00 e 04:00 h). No tanque com sistema de bioflocos (BF+R) o alimento fornecido foi exclusivamente ração comercial. A ração foi fornecida cinco vezes ao dia (09:00, 14:00, 20:00, 00:00 e 04:00 h).

### 3.5.- Fase de Desempenho reprodutivo

No final da fase de pré-maturação, os organismos de todos os tratamentos foram transferidos para o setor de Maturação da UMDI-UNAM e mantidos por um período de 3 dias de adaptação para, posteriormente serem pesados. Todos os organismos foram identificados no início da fase de desempenho reprodutivo, com marcas de silicones fluorescentes (tipo elastômeros marca Northwest Marine Technology®). Estes elastômeros foram inseridos no músculo da parte posterior do corpo e sua função foi de identificar e facilitar o manejo dos machos de diferentes tratamentos no laboratório e também para controle de mortalidade (figura 3). Para as observações das marcas foi utilizada uma lanterna especial de luz azul (Arévalo, 2003).



Figura 3. - Colocação dos elastômeros no músculo do camarão (foto Miguel Arévalo)

O abastecimento de água de mar no setor de maturação foi por bombeamento do reservatório da UMD-UNAM. Antes da água entrar no setor de maturação foi filtrada por filtro de areia e de cartucho (30  $\mu\text{m}$ ).

Foram utilizados dois tanques circulares sem substrato artificial, sendo um deles povoado com organismos provenientes de água clara (CR+RF) e o outro tanque com organismos de sistema de floco (BF+R e BF+RF). Ambos tanques foram mantidos em sistema de água clara (tabela1). O diâmetro destes tanques é de 4 m e coluna de água de 50 cm, perfazendo um total de 12 000 litros. Esses tanques possuem o perímetro de fibra de vidro e fundo de areia, coberto com geomembrana de PVC de 1 mm. A parte superior dos tanques foi coberta com sombrite 70% para controlar a entrada de luz ao interior dos tanques (Figura 4). Todos os tanques estiveram ligados a um sistema de

recirculação e controladores de temperatura da água para manter a temperatura na faixa dos 28 °C.



Figura 4.- Tanques do setor de maturação, UNAM (foto. Miguel Arévalo)

A alimentação nos três tratamentos foi realizada três vezes por dia (09:00, 14:00 e 20:00 h), com alimento fresco (lula, mexilhão, biomassa de artemia adulta e poliqueta) e na proporção de 20% da biomassa de camarões. Além disso, foram alimentados 1 vez por dia (00:00 h) com um alimento semi-úmido para camarões peneídeos (tabela 2) formulado e elaborado no setor de nutrição de organismos marinhos da UMDI-UNAM.

Tabela 2 – Alimento semi-úmido produzido na UMDI-UNAM para reprodutores de camarões peneídeos (percentagem de alimento)

<b>INGREDIENTES</b>	<b>(%)</b>
Farinha de peixe	35
Farelo de soja	18
Farinha de lula	15
Soro de leite (silagem)	8
Óleo de peixe	5,3
*C.P.S.P. 70	5
Concentrado de soja	5
Lecitina de soja	2
Colesterol	0,5
Premix Mineral e vitamínico	0,6
Inerte	5,6
<b>Total</b>	<b>100</b>

\*Concentrado Protéico Solúvel de Peixe

Foram realizadas biometrias no início e no final da fase de desempenho reprodutivo para avaliação de crescimento e biomassa do tanque ( $\text{kg/m}^2$ ). Assim foi possível calcular o ganho de peso (peso final – peso inicial). A sobrevivência foi analisada no final desta fase experimental.

A densidade estocada durante a fase de desempenho reprodutivo foi aquela recomendada para peneídeos (Peixoto *et al.*, 2005) na qual recomenda-se até  $7 \text{ ind/m}^2$ . No presente estudo a densidade de estocagem dos machos foi de  $3,8 \text{ m}^2$ , o restante correspondia ao número de fêmeas.

### **3.6 - Parâmetros físico-químicos da Água**

Durante todas as fases experimentais foram monitorados diariamente os parâmetros físico e químicos de água (temperatura, pH, salinidade e oxigênio dissolvido) com um medidor multiparâmetro HACH HQ40d®. também foram coletadas amostras de água cada dois dias, para quantificar amônia, nitrito e nitrato (kit HACH Cat. 20686-00®). A concentração de sólidos suspensos totais (SST) foi medida uma vez por semana com um Cone Imhoff.

### **3.7-. Condição Nutricional**

#### **3.7.1.-Amostragem de organismos e obtenção das amostras de hepatopâncreas e gônada.**

No início e no fim da fase de desempenho reprodutivo, com objetivo de conhecer o estado nutricional dos organismos, foi avaliada a concentração de Colesterol (mg/ml), Triglicérides (mg/ml), Proteínas Totais (mg/ml) na gônada e no hepatopâncreas dos animais em estudo.

Antes de realizar esta análise os camarões de cada tratamento foram mantidos em jejum por um período de 12 horas. Posteriormente os camarões foram transportados em água de mar a  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  até o laboratório de bioquímica da UMDI-UNAM para extração dos órgãos. As amostras de hepatopâncreas e gônadas foram obtidas, usando instrumentação de dessecação mediante uma incisão no cefalotórax e após a pesagem, do hepatopâncreas e a gônada foi obtido um corte de  $0,15 \pm 0,01$  gramas do hepatopâncreas, e  $0,040 \pm 0,01$ g. da gônada. Ambas amostras foram individualizadas em

tubos Eppendorf de 2 ml. para serem congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em um freezer a - 80°C para análises bioquímicas.

### 3.7.2.- Análises bioquímicas

O hepatopâncreas foi homogeneizado em 500 µl (uma relação de 10mg de amostra x 500 µl de água destilada) de água destilada por um tempo de 2 minutos. Foram tomadas alíquotas de 20 µl para determinar Colesterol e Triglicérides com 200 µl de solução reativa (Kits ELI Tech CHSL-0507; ELITech TGML-0427 respectivamente). O restante da amostra foi centrifugado a 2500 RPM por 3 minutos a 4 °C. Após processo de centrifugação foi coletado o sobrenadante em tubos Eppendorf para determinar Proteína Total de acordo com Bradford (1976) e Galindo *et al.* (2009) com 200 µl de solução reativa BioRad cat. 500-0006, sendo o branco determinado com água destilada. As amostras e o Branco foram colocados em micro placas e estas foram analisadas em um espectrofotômetro (BioRad Benchmark®) conforme a tabela 3.

Tabela 3.- Protocolo utilizado para análise bioquímica em hepatopâncreas e gônadas dos machos de *F. duorarum*.

<b>METABOLITO</b>	<b>KIT USADO</b>	<b>ABSORBÂNCIA (nm)</b>	<b>TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO (°C)</b>	<b>TEMPO DE INCUBAÇÃO (minutos)</b>
<b>Triglicérides</b>	ELITech TGML-0427	500	37	7
<b>Colesterol</b>	Kits ELI Tech CHSL-0507	500	37	6
<b>Proteína Total</b>	BioRad cat. 500-0006	595	20-25	5

A concentração dos metabolitos (mg/g) foi calculada a partir de uma curva de calibração com soluções padrão incluídas no kit. O mesmo procedimento foi desenvolvido para analisar os metabolitos na gônada dos machos.

### 3.8.- Estudo da qualidade reprodutiva dos machos adultos de *F. duorarum*.

A quantidade de organismos amostrados foi de 60 machos, dos quais se avaliou qualidade espermática no início e final da fase de desempenho reprodutivo (10 organismos de cada tratamento no início e 10 no final).

Para a avaliação da qualidade espermática foram feitas observações do conteúdo do espermátóforo dos machos. Os espermátóforos foram colocados em uma solução salina livre de cálcio (Tabela 4) (Leung-Trujillo e Lawrence, 1987) que permite que as células espermáticas se mantenham sem alterações estruturais durante um período de aproximadamente 4 horas.

Para realizar a contagem e caracterização das células espermáticas, os espermátóforos foram homogeneizados em 1 ml de solução livre de cálcio em um homogeneizador a 800 RPM/min. Posteriormente foram adicionados 0,1 ml de azul de Tripán a 1,0% (Leung-Trujillo e Lawrence, 1987). A mistura de espermatozóides ficou em repouso por um período de 10 minutos para que o azul de Tripán atuasse sobre as células. Assim, os espermatozóides mortos se identificaram como aquelas células que ficam de cor azul intenso, ou espermatozóides de um tamanho maior que os normais, o que então indica a entrada de água na célula. As células anormais foram reconhecidas pela presença de malformações da cabeça ou falta do “espinho”.

A contagem de espermatozóides foi realizada em duplicata em um microscópio óptico por meio de um hematocitômetro (câmara Neubauer marca Loptíc Labor® e com capacidade de 0,1 mm<sup>3</sup>).

Tabela 4 - Composição da solução salina livre de Ca<sup>+</sup> (pH ajustado a 7,4 com HCl 1 N para um litro de solução) utilizada para a preservação dos espermátóforos de *Farfantepenaeus duorarum* (Leung-Trujillo e Lawrence, 1987).

COMPONENTE	CANTIDAD (g)
NaCl	21,63
KCl	1,12
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,53
NaOH	0,19
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4,93

Para obter o número de células por espermatozóide foi realizado da seguinte cálculo:

$$\text{Cel/ml} = (P \times 16) \times \text{FD} \times 10\,000$$

onde:

*P* = Número médio de células por quadrante (nos 10 quadrantes contados)

*16* = Quadrantes da câmara

(*FD*)= Fator de diluição (1,1)

*Neste caso o resultado obtido (cel/ml) é igual as células por espermatozóide já que se esta multiplicando pelo fator de diluição. Este cálculo é feito em separado para as células normais, anormais, mortas e totais e o resultado é expressará como células x 10<sup>6</sup> por espermatozóide (Pascual et al., 1998).*

### **3.8.1.-Cálculo do índice espermatozóide IES.**

Para o cálculo de índice espermatozóide (IES) foi utilizada a fórmula:  $\text{IES} = (\text{Peso espermatozóide em g} / \text{Peso do organismo em g}) \times 100$  (Braga 2009).

### **3.9 - Análises Estatísticas**

Os dados de qualidade de água, contagem de células espermáticas e peso dos organismos foram submetidos à análise de variância (ANOVA, uma via) levando em consideração as premissas necessárias. Quando detectada diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as médias dos diferentes tratamentos foi aplicado teste de Tukey (Sokal e Rohlf, 1969). Os valores em percentagem sofreram transformação arco-seno da raiz quadrada antes de serem analisados. Para os dados de metabolitos sanguíneos foi aplicada uma ANOVA de 2 vias (bifatorial).

## 4.-RESULTADOS

### 4.1.- Fase de terminação e pré-maturação.

Os dados de qualidade de água durante a fase de terminação, não mostraram diferenças significativas ( $P>0,05$ ) em todos os parâmetros. A temperatura em todos os tratamentos se manteve na faixa dos 26 °C, a salinidade no tratamento CR+RF foi de  $37,53\pm 1,41$  ‰ e nos tratamentos BF+R e BF+RF foi de  $35,89\pm 1,29$  ‰ e  $35,33\pm 1,2$  ‰, respectivamente. O nível de oxigênio dissolvido se manteve acima de 7 mg/l nos três tratamentos. Os valores de compostos nitrogenados mantiveram-se dentro de valores adequados para o cultivo de camarões (Tabela 5).

Tabela 5.- Parâmetros de qualidade de água durante as fases de terminação (60 dias) e pré-maturação (30 dias) realizada no setor de engorda.

Fase/Parâmetro	Tratamento		
	CR+RF	BF+R	BF+RF
<b>Fase de terminação</b>			
Temperatura (°C)	26,59±1,32 <sup>a</sup>	26,24±1,12 <sup>a</sup>	26,19±1,1 <sup>a</sup>
Salinidade (‰)	37,53±1,41 <sup>a</sup>	35,89±1,29 <sup>a</sup>	35,33±1,2 <sup>a</sup>
Oxigênio dissolvido mg/l	7,26±0,70 <sup>a</sup>	7,34±0,91 <sup>a</sup>	7,5±0,95 <sup>a</sup>
pH	8,23±0,16 <sup>a</sup>	7,92±0,27 <sup>a</sup>	8,31±0,20 <sup>a</sup>
N-Amônia (mg/l)	0,60 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>
N-Nitrito (mg/l)	0,32±0,27 <sup>a</sup>	0,23±0,20 <sup>a</sup>	0,25±0,19 <sup>a</sup>
N-Nitrato (mg/l)	9,10±2,88 <sup>a</sup>	8,3±3,88 <sup>a</sup>	9,10±2,89 <sup>a</sup>
<b>Fase de Pre-maturação</b>			
Temperatura (°C)	24,04±1,64 <sup>a</sup>	23,55±1,75 <sup>a</sup>	23,33±1,73 <sup>a</sup>
Salinidade (‰)	37,85±0,56 <sup>a</sup>	35,89±1,25 <sup>a</sup>	35,33±1,43 <sup>a</sup>
Oxigênio mg/l	7,42±1,18 <sup>a</sup>	7,34±1,45 <sup>a</sup>	7,56±1,44 <sup>a</sup>
pH	8,55±0,24 <sup>a</sup>	8,25±0,21 <sup>a</sup>	8,50±0,23 <sup>a</sup>
N-Amônia (mg/l)	0,60 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>
N-Nitrito (mg/l)	0,22±0,19 <sup>a</sup>	0,33±0,26 <sup>a</sup>	0,43±0,30 <sup>a</sup>
N-Nitrato (mg/l)	10±0 <sup>a</sup>	11±3,8 <sup>a</sup>	13±4,1 <sup>a</sup>

Obs.: Medias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente, ( $P>0,05$ ).

Na fase de pré-maturação não houve diferença significativa entre os parâmetros de temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido ( $P>0,05$ ). A temperatura maior nesta fase foi observada nos tanques com tratamento CR+RF (24,04±1,64), além de ter uma maior concentração de salinidade (37,85±0,56). A variação na concentração de



oxigênio foi mínima entre os tratamentos desta fase mantendo se na faixa dos 7 mg/l. O menor pH entre os três tratamentos foi no tratamento (BF+R), mostrando o mesmo comportamento que a fase de terminação onde os valores maiores de pH foram observados nos tratamentos (CR+RF e BF+RF). Quanto aos valores de compostos nitrogenados, os níveis de amônia não apresentaram variações entre tratamentos, segundo o descrito por Jiang *et al.* (1999) e Dong-Huo *et al.* (2000) (Tabela 5).

O volume de flocos apresentado durante a fase de terminação e pré-maturação, não apresentou diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos que tiveram este sistema (BF+R e BF+RF), porém foi observada uma maior concentração no tratamento BF+RF de  $5,25\pm 2,7$  ml/l em comparação com  $4,31\pm 2,55$ ml/l mostrado no tratamento BF+R durante a fase de terminação (Figura 5). Durante a fase de pré-maturação esta diferença foi menor entre tratamentos apresentando  $2,47\pm 0,98$  e  $2,92\pm 1,92$  nos tratamentos BF+R e BF+RF respectivamente (figura 5).

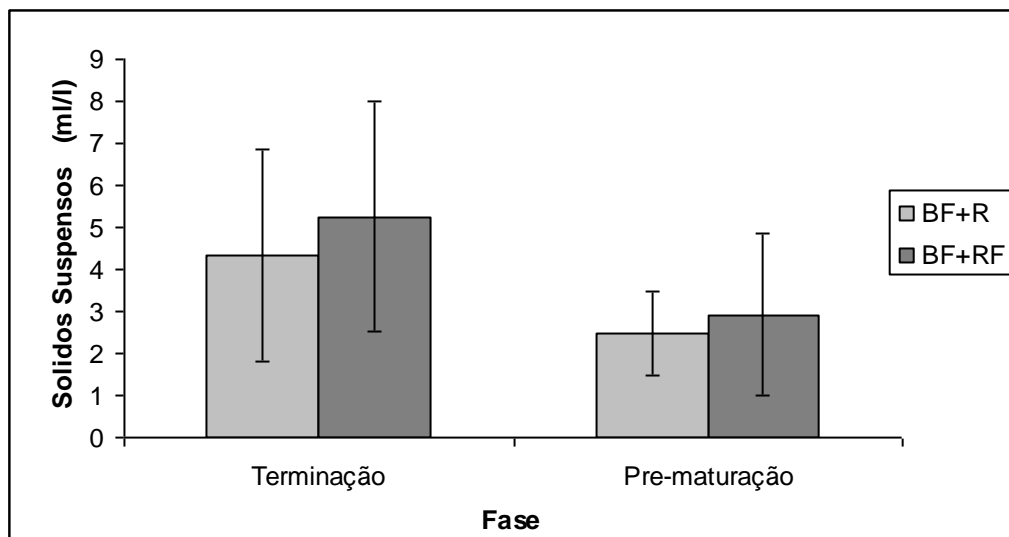


Figura 5. Valores médios com desvio padrão do volume de floco medido durante a fase de Terminação e a fase de Pré-maturação.

Os resultados do peso dos organismos ao final da fase de terminação e pré-maturação não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos ( $P>0,05$ ). O peso final durante estas duas fases no tratamento CR+RF foi de  $16,08\pm 4$  g e nos tratamentos BF+R e BF+RF foi de  $16,0\pm 4$  e  $17,3\pm 1,7$  g, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. - Dados do número de organismos, peso  $\pm$  desvio padrão e sobrevivência durante a as três fases do experimento.

<i>Fase/Parâmetro</i>	<b>Tratamento</b>		
	<b>CR+RF</b>	<b>BF+R</b>	<b>BF+RF</b>
<i>F. de terminação e (60 dias)</i>			
<b>Peso inicial (g)</b>	14,4 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	13,9 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	13,4 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>
<i>F. de Pre-maturação (30 dias)</i>			
<b>Peso final (g)</b>	16,08 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	16.0 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	17.3 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>
<b>Ganho de peso em (g)</b>	1.68	2,1	3,9
<b>Sobrevivência %</b>	82,5	87	98,2
<i>F. de desempenho reprodutivo (45 dias)</i>			
<b>Peso inicial (g)</b>	16,03 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	16.02 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	17.39 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>
<b>Peso final (g)</b>	19,07 $\pm$ 4.05 <sup>a</sup>	18.17 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>	21.22 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>
<b>Ganho de peso (g)</b>	3.69	2.15	3.82
<b>Sobrevivência%</b>	82,6	87,5	81,8

\*Foram colocados numa tina marcados individualmente

\*\* densidade após a primeira amostragem na fase de desempenho reprodutivo

Obs.: Medias seguida de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente, (P>0,05).

A sobrevivência na fase de Terminação e de Pré-maturação foi calculada no final desta última fase, devido ao fato de que os organismos não foram transferidos para outro tanque, mostrando no tratamento **CR+RF** 82,5% e nos tratamentos **BF+R** e **BF+RF** valores de 87 e 98,2 %, respectivamente. Na fase de desempenho reprodutivo a sobrevivência no tratamento **CR+RF** foi de 82,6% e nos tratamentos **BF+R** e **BF+RF** valores foram de 87,5 e 81,8 %, respectivamente (Tabela 4). A sobrevivência em todos os tratamentos e nos dos períodos avaliados foi sempre superior a 80%.

#### **4.2.- Fase de desempenho reprodutivo.**

Durante a fase de desempenho reprodutivo não houve diferença significativa (P>0,05) entre os parâmetros de qualidade de água. A temperatura da água das unidades experimentais dos tratamentos foram de 27,80 $\pm$ 0,57 no tratamento CR+RF e 27,67 $\pm$ 0,57 °C nos tratamentos BF+R e BF+RF. A salinidade no tratamento CR+RF foi de 36,18 $\pm$ 0,84 e nos tratamentos BF+R e BF+RF foi de 36,21 $\pm$ 0,85 ‰. O oxigênio dissolvido no tratamento CR+RF foi de 7,04 $\pm$ 1,03 e nos tratamentos BF+R e BF+RF

foi de  $7,14 \pm 0,99$  mg/l. Os compostos nitrogenados estiveram dentro dos valores adequados para o cultivo (Tabela 7).

Tabela 7.- Parâmetros de qualidade de água durante a fase de desempenho reprodutivo (45 dias) realizada na setor de maturação de camarões.

Parâmetro	CR+RF	BF+R e BF+RF
Temperatura (°C)	$27,80 \pm 0,57^a$	$27,67 \pm 0,57^a$
Salinidade (‰)	$36,18 \pm 0,84^a$	$36,21 \pm 0,85^a$
Oxigênio dissolvido mg/l	$7,04 \pm 1,03^a$	$7,14 \pm 0,99^a$
pH	$7,83 \pm 0,13^a$	$7,82 \pm 0,15^a$
N-Amônia (mg/l)	$0,54 \pm 0,09^a$	$0,53 \pm 0,10^a$
N-Nitrito (mg/l)	$0,21 \pm 0,13^a$	$0,22 \pm 0,14^a$
N-Nitrato (mg/l)	$9,35 \pm 1,72^a$	$9,13 \pm 1,94^a$

Obs.: Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ( $P > 0,05$ ).

Os resultados do peso dos organismos durante o início e o final da fase de desempenho reprodutivo, não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos ( $P > 0,05$ ). O peso inicial durante esta fase no tratamento **CR+RF** foi de  $16,03 \pm 4$  g e nos tratamentos **BF+R** e **BF+RF** foi de  $16,02 \pm 4$  e  $17,39 \pm 1,7$ g, respectivamente. O peso final dos organismos no final desta fase no tratamento **CR+RF** foi de  $19,07 \pm 4,05$  g e nos tratamentos **BF+R** e **BF+RF** foi de  $18,17 \pm 3,2$  e  $21,22 \pm 2,3$ g respectivamente (Figura 6).

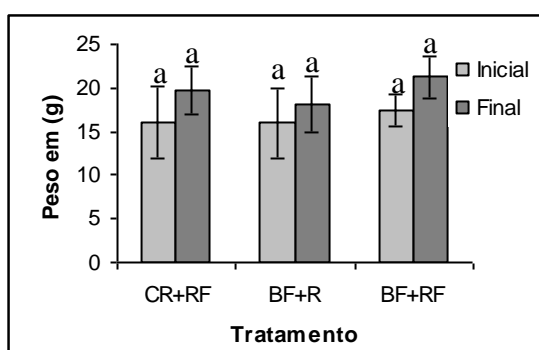


Figura 6. Peso médio dos machos reprodutores de *F. duorarum* durante a fase de desempenho reprodutivo.

A sobrevivência foi superior a 80% em todos os tratamentos durante a fase de desempenho reprodutivo.

### 4.3.- Parâmetros reprodutivos durante a fase de desempenho reprodutivo.

O número de células espermáticas normais e totais, encontradas nos diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre tratamentos e ao longo do tempo. O número de células anormais e mortas não foi possível comparar estatisticamente, porque em alguns tratamentos não foram encontradas ou apenas detectadas em poucas quantidades. Durante o início da fase de desempenho reprodutivo o número de células espermáticas normais no tratamento CR+RF foi de  $8,81\pm 5,85$  células  $\times 10^6$  e nos tratamentos BF+RF e BF+R foi de  $12,93\pm 5,35$  e  $12,21\pm 5,96$  células  $\times 10^6$  respectivamente (Tabela 8). A quantidade de células espermáticas totais no início da fase de desempenho reprodutivo no tratamento CR+RF foi de  $8,9\pm 5,83$  e nos tratamentos BF+RF e BF+R foi de  $12,35\pm 10,2$  e  $12,96\pm 5,2$ , respectivamente.

Tabela 8.- Contagem e caracterização de células espermáticas durante o início e final de fase de desempenho reprodutivo de machos de *F. duorarum*.

Tipo de Células	Início da fase de desempenho reprodutivo			Final da fase de desempenho reprodutivo		
	CR+RF	BF+R	BF+RF	CR+RF	BF+R	BF+RF
Normal	$8,81\pm 5,85^a$	$12,21\pm 5,96^a$	$12,93\pm 5,35^a$	$16,27\pm 1,51^a$	$18,9\pm 9,04^a$	$19,19\pm 7,97^a$
Anormal	0	$0,10\pm 0,026$	0	$0,007\pm 0,02$	$0,32\pm 0,04$	0
Mortas	$0,09\pm 0,20$	$0,04\pm 0,08$	$0,03\pm 0,008$	$0,1\pm 0,24$	$0,29\pm 0,18$	$0,04\pm 0,007$
Totais	$8,9\pm 5,83^a$	$12,35\pm 10,2^a$	$12,96\pm 5,2^a$	$16,37\pm 1,4^a$	$19,51\pm 9,4^a$	$19,23\pm 7,27^a$

Obs.: Medias seguida de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente, ( $P>0,05$ ).

Durante o final da fase de desempenho reprodutivo, no tratamento CR+RF foi observado valor de  $16,27\pm 1,51$  células  $\times 10^6$ . Nos tratamentos em sistema de bioflocos BF+RF e BF+R apresentaram valores de  $19,19\pm 7,97$  e  $18,9\pm 9,04$  células  $\times 10^6$ , respectivamente. A quantidade de células totais encontradas no tratamento CR+RF foi observado valor de  $16,37\pm 1,4$  células  $\times 10^6$ . Nos tratamentos em sistema de bioflocos (BF+RF e BF+R) apresentaram valores de  $19,23\pm 7,27$  e  $19,51\pm 9,4$  células  $\times 10^6$  respectivamente.

Com relação ao peso do espermatóforo não houve diferença significativa entre os tratamentos e ao longo do tempo na fase de desempenho reprodutivo. O peso no início da fase de desempenho reprodutivo no tratamento CR+RF foi de  $20,19\pm 3,2$  mg e no tratamento BF+R e BF+RF  $18,97\pm 6$  e  $24,61\pm 6,1$  mg, respectivamente. Já no final da

fase no tratamento CR+RF foi de  $20,10 \pm 6$  mg e no tratamento BF+R e BF+RF  $20,92 \pm 5$  e  $26,15 \pm 9$  mg, respectivamente (Figura 7A).

Os índices relacionados com o aparelho reprodutivo dos organismos (índice gonadossomático (IGS), índice espermatossomático (IES) e índice de normalidade (IN) não mostraram diferença significativa ( $P > 0,05$ ). No Índice de Normalidade (IN) foi observado o maior valor no tratamento BF+RF com  $99,7 \pm 0,31\%$  e o IN entre os tratamentos BF+R com  $98,70 \pm 1,0\%$  e BF+RF com  $98,99 \pm 0,84\%$  foram bastante similares durante a amostragem inicial da fase de desempenho reprodutivo. Já durante a fase final, o tratamento que apresentou o melhor IN foi o BF+RF com  $99,8 \pm 0,36\%$  e o que mostrou menor IN foi BF+R com  $96,88 \pm 2\%$  (Figura 7B)

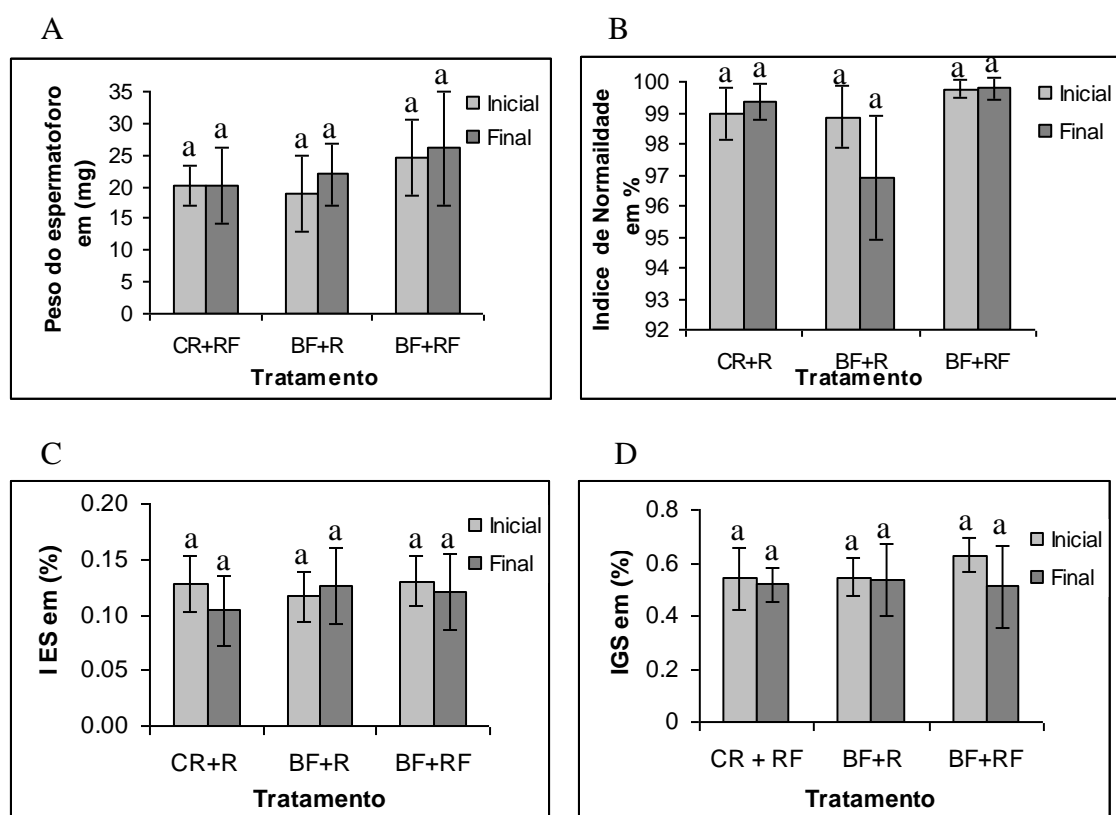


Figura 7.- Valores com desvio padrão (A) Peso do espermatozoário em (mg,) (B) Índice de normalidade IN em %, (C) Índice espermatossomático IES em %, (D) Índice gonadossomático IGS em %, de machos reprodutores de *F. duorarum* durante a fase de desempenho reprodutivo. Obs.: Dados em porcentagem foram transformados arco-seno da raiz quadrada antes de serem analisados.

O índice espermatossomático no início da fase de desempenho reprodutivo foi maior nos tratamentos alimentados com alimento fresco CR+RF  $0,12 \pm 0,02\%$  e BF+RF  $0,13 \pm 0,02\%$  quando comparado com  $0,11 \pm 0,02\%$  que apresentou o tratamento de

BF+R. Na amostragem final da fase de desempenho reprodutivo os melhores índices espermatozoides foram apresentados pelos tratamentos com sistema de bioflocos BF+R e BF+RF ambos com valores de  $0,12 \pm 0,034\%$  quando comparado com CR+RF que foi de  $0,10 \pm 0,031\%$  (Figura 7C).

No início da fase de desempenho reprodutivo o tratamento que mostrou maior IGS foi BF+RF com  $0,62 \pm 0,51\%$ , no fim da fase de desempenho reprodutivo a variação foi muito pequena apresentando o maior IGS o tratamento BF+R com  $0,53 \pm 0,13\%$  (figura 7D).

#### **4.4.- Análises de metabolitos em tecido na fase de desempenho reprodutivo**

As concentrações de Triglicerídeos e Colesterol medido na gônada e no hepatopâncreas dos machos, não apresentaram diferença estatística ( $P > 0,05$ ) durante o início e o final da fase de desempenho reprodutivo. A concentração de Triglicerídeos na gônada dos machos foram maiores no tratamento CR+RF ( $7,33 \pm 2,42$  mg/g) em comparação com os tratamentos mantidos previamente em sistema de bioflocos BF+R e BF+RF com valores de ( $5,85 \pm 3,01$  e  $5,05 \pm 3,15$ ) mg /g respectivamente. A concentração de Colesterol na gônada dos machos foi maior no tratamento CR+RF ( $3,98 \pm 1,43$  mg/g) e a menor foi no tratamento BF+RF com  $2,94 \pm 1,54$  mg /g . A concentração de Proteínas Totais na gônada dos machos apresentou maior concentração nos tratamentos alimentados com ração mais alimento fresco, CR+RF ( $66,27 \pm 6,55$  mg /g) e BF+RF ( $66 \pm 11,52$  mg/g), quando comparados com o tratamento BF+R que teve uma concentração de ( $62,34 \pm 22,1$  mg /g) (Tabela 9).

Na amostragem inicial no tratamento BF+R mostrou o maior peso da gônada evidenciando diferença significativa ( $P < 0,05$ ) com ralação ao tratamento BF+RF. Na amostragem final não houve diferença significativa entre tratamentos. O peso da gônada no tratamento CR+RF foi de  $71 \pm 11$ mg e nos tratamentos BF+R e BF+RF foi de  $76 \pm 12$  e  $75 \pm 12$ mg, respectivamente (Tabela 9). A concentração de metabolitos na gônada durante o final da fase de desempenho reprodutivo a variação na concentração de Triglicerídeos foi mínima entre os tratamentos, por tanto a maior concentração deste metabolito foi observado no tratamento BF+RF ( $6,71 \pm 4,25$  mg /g). A concentração de Colesterol foi maior nos tratamentos BF+R ( $4,33 \pm 1,95$  mg /g) e BF+RF ( $4,05 \pm 2,21$  mg /g). Os valores de Proteínas Totais na gônada durante o fim desta fase no tratamento

BF+RF apresentou maior concentração ( $68,14 \pm 0,08$  mg /g) em comparação com CR+RF e BF+R (Tabela 9).

Tabela 9.- Valores médios em (mg/g) com desvio padrão de concentração de Triglicerídeos, Colesterol, e Proteínas Totais encontrados em gônada e hepatopâncreas de camarões adultos de *Farfantepenaeus duorarum*.

Metabolitos [ ] (mg /g)	Início da f. de desempenho reprodutivo			Final da f. de desempenho reprodutivo		
	CR+RF	BF+R	BF+RF	CR+RF	BF+R	BF+RF
<b>Gônada</b>						
Peso em (mg)	$71 \pm 19^{ab}$	$89 \pm 18^a$	$67 \pm 13^b$	$71 \pm 11^a$	$76 \pm 12^a$	$75 \pm 12^a$
Triglicerídeos	$7,33 \pm 2,42^a$	$5,85 \pm 3,01^a$	$5,05 \pm 3,15^a$	$6,56 \pm 3,88^a$	$6,57 \pm 3,05^a$	$6,71 \pm 4,25^a$
Colesterol	$3,98 \pm 1,43^a$	$3,60 \pm 1,87^a$	$2,94 \pm 1,54^a$	$3,95 \pm 2,45^a$	$4,33 \pm 1,95^a$	$4,05 \pm 2,21^a$
Proteínas Totais	$66,27 \pm 6,55^a$	$62,34 \pm 22,1^a$	$66 \pm 11,52^a$	$67,5 \pm 13,67^a$	$72,92 \pm 19,7^a$	$68,14 \pm 0,08^a$
<b>Hepatopâncreas</b>						
Peso em (mg)	$332 \pm 62^b$	$448 \pm 100^a$	$407 \pm 70^{ab}$	$357 \pm 58^a$	$389 \pm 89^a$	$429 \pm 79^a$
Triglicerídeos	$51,10 \pm 8,29^a$	$52,52 \pm 23,7^a$	$37,75 \pm 9,6^a$	$43,56 \pm 16,5^a$	$48,58 \pm 24,0^a$	$35,26 \pm 10,7^a$
Colesterol	$4,03 \pm 2,18^a$	$5,06 \pm 2,46^a$	$6,46 \pm 1,83^a$	$5,30 \pm 2,87^a$	$6,10 \pm 2,4^a$	$5,3 \pm 1,63^a$
Proteínas Totais	$44,08 \pm 5,0^a$	$37,35 \pm 5,08^b$	$37,69 \pm 2,45^b$	$38,60 \pm 4,05^a$	$38,93 \pm 2,42^a$	$40,28 \pm 3,2^b$

Obs.: Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente, ( $P > 0,05$ ).

Durante a amostragem inicial foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no peso do hepatopâncreas entre os tratamentos BF+R e CR+RF. Os tratamentos mantidos em sistema de bioflocos mostraram um maior peso no hepatopâncreas de machos de *F. duorarum* durante a amostragem inicial. Durante a amostragem final não foi observado diferença significativa entre o peso do hepatopâncreas ( $P > 0,05$ ). O tratamento CR+RF apresentou um peso de  $357 \pm 58$  mg e os tratamentos BF+R e BF+RF apresentaram peso de  $389 \pm 89$  e  $429 \pm 79$  mg, respectivamente.

Os dados de metabolitos medidos no início da fase de desempenho reprodutivo no hepatopâncreas, mostram que a maior concentração de Triglicerídeos foi apresentada pelo tratamento BF+R com ( $52,52 \pm 23,7$  mg /g) e a menor concentração no tratamento BF+RF ( $37,75 \pm 9,6$  mg /g). As concentrações de Triglicerídeos e Colesterol não mostraram diferença significativa ( $P > 0,05$ ). A concentração de Colesterol foi maior no tratamento BF+RF com ( $6,46 \pm 1,83$  mg /g) e a menor concentração de este metabolito no hepatopâncreas foi do tratamento CR+RF com ( $4,03 \pm 2,18$  mg /g). A concentração de Proteínas Totais foi maior no tratamento CR+RF com ( $44,08 \pm 5,0$

mg/g). Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (CR+RF) e (BF+R e BF+RF) (tabela 9).

Os dados coletados no final da fase de desempenho reprodutivo no hepatopâncreas mostraram uma maior concentração de Triglicerídeos no tratamento BF+R ( $48,58 \pm 24,0$  mg /g) e uma menor concentração no tratamento BF+RF ( $35,26 \pm 10,7$  mg/g). A concentração de Colesterol foi maior no tratamento BF+R ( $6,10 \pm 2,4$  mg/g) comparado com CR+RF e BF+RF que apresentaram valores similares ( $5,30 \pm 2,8$  mg/g e  $5,30 \pm 1,6$  mg/g). A concentração de Triglicerídeos e Colesterol não mostraram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ). A maior concentração de Proteínas Totais foi encontrada no tratamento BF+RF ( $40,28 \pm 3,2$  mg /g), e a menor concentração no tratamento CR+RF com ( $38,60 \pm 4,05$  mg/g). Foi encontrada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (CR+R, F+R) e BF+RF.

O tratamento CR+RF mostrou os maiores níveis de Triglicerídeos e Proteínas Totais na fase de desempenho reprodutivo. No final da fase o tratamento BF+R apresentou os maiores níveis de Triglicerídeos e Colesterol.

O índice hepatossomático (IHS) não teve diferença significativa entre tratamentos durante o início e o final da fase de desempenho reprodutivo (Figura 8). No início da fase o tratamento CR+RF apresentou um IGS de  $2,07 \pm 1,83$  % nos tratamentos BF+R e BF+RF foi de  $2,44 \pm 0,87$  e  $2,81 \pm 0,26$  %, respectivamente.

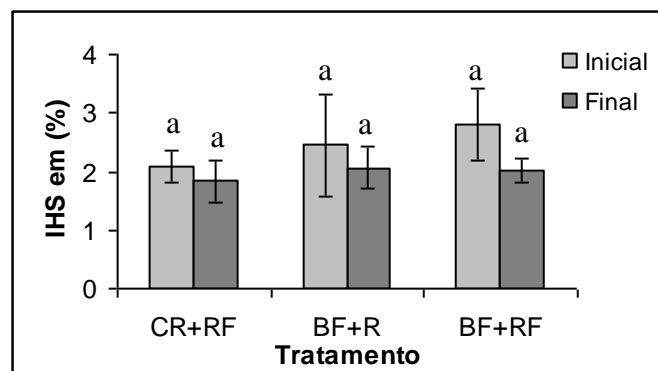


Figura 8. - Valor médio em % com desvio padrão do índice hepatossomático, durante a amostragem inicial e final da fase de desempenho reprodutivo de machos de *F. duorarum*. Obs.: Dados em percentagem foram transformados arco-seno da raiz quadrada antes de serem analisados.



Já no final de fase de desempenho reprodutivo o IGS no tratamento CR+RF foi de  $1,83 \pm 0,35\%$  e nos tratamentos BF+R e BF+RF apresentaram valores de  $2,06 \pm 0,37$  e  $2,02 \pm 0,21$ , respectivamente (Figura 8).

## 5.- DISCUSSÃO.

### 5.1.-Parâmetros físico-químicos da água.

A temperatura na água é considerada como um dos fatores físicos que afetam metabolismo dos camarões marinhos (Dong-Huo *et al.* 2000). De maneira geral temperaturas nos cultivos devem ser mantidas acima de 20 °C, já que abaixo disto os camarões estão inativos e apresentam pequeno crescimento. Em temperaturas elevadas entre 32 °C e 35 °C os camarões apresentam uma hiperatividade, com um alto consumo de oxigênio (Ponce-Palafox *et al.* 1997; Ocampo *et al.* 2000; Vazquez-Dominguez *et al.*, 2008). A temperatura ideal para o cultivo deve estar entre 24°C e 32°C , principalmente para se ter um crescimento satisfatório (Wyban *et al.* 1995; Ponce-Palafox *et al.* 1997; Van Wyk e Scarpa 1999). No presente estudo durante a fase de terminação dos organismos as temperaturas estiveram ligeiramente acima de 24°C em todos os tratamentos. Já na fase de pré-maturação a temperatura no tratamento CR+RF se manteve ligeiramente acima dos 24 °C, diferentemente do que ocorreu nos tratamentos mantidos em sistema de bioflocos (BF+R e BF+RF), que se mantiveram ligeiramente de baixo dos 24°C.. A origem desta variação entre tratamentos é atribuída principalmente ao fato que no tratamento CR+RF ocorreram trocas de água, fato que não aconteceu nos tratamentos com bioflocos. Apesar desta pequena variação, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos durante a fase de pré-maturação. A variação de temperatura entre a fase de terminação e a fase de pré-maturação foi devida aa variação sazonal, já que esta fase foi desenvolvida no início do inverno.

A salinidade, assim como a temperatura, é um dos parâmetros mais importantes na água de cultivo, afetando principalmente a sobrevivência e o desempenho zootécnico de camarões (Dong-Huo *et al.* 2000; Maicá 2009). O camarão marinho tem uma ampla tolerância a salinidades principalmente quando são pós-larvas. Gullian *et al.* (2010) demonstraram que *F. duorarum* pode crescer em salinidades de até 5‰.No

entanto conforme os organismos vão crescendo o ponto isosmótico vai sendo maior (Arana 2002). No presente estudo os valores médios de salinidade na fase de terminação não apresentaram diferença significativa entre tratamentos, embora tenha sido observada uma variação de aproximadamente de 2 ‰ entre os tratamentos CR+RF e entre BF+R e BF+RF. Esta diferença foi originada devido ao fato de que a salinidade da água do poço profundo que fornece água no sistema era de 37 ‰ e a água do tratamento BF+RF esteve diretamente relacionada com a salinidade deste poço. Nos tratamentos com troca de água limitada (BF+R e BF+RF) quando ocorria à presença de chuva (fim do outono e início do inverno) a água aportada pela chuva influenciava a salinidade destes tratamentos. Segundo Boyd (1990) quando a salinidade da água é alterada para mais de 10 ‰ em poucos minutos ou horas os camarões podem ser incapazes de compensar a mudança. Estes animais podem aclimatar-se a salinidades muito mais altas ou baixas, mas dentro de suas respectivas faixas de tolerância. No presente estudo a chuva agregou de forma gradual água doce aos tanques de cultivo, portanto os organismos não tiveram problemas de adaptação.

O oxigênio dissolvido na água do cultivo é vital para a vida dos organismos, ainda que este seja aportado por troca de água, microalgas ou aeradores, o consumo oxigênio pode ser maior devido à quantidade de organismos presentes no viveiro, sendo recomendado valores acima de 5 mg/l como nível de segurança (Arana 2002). Em sistemas fechados com bioflocos existe demanda adicionadas pela respiração bacteriana que precisa ser suprida com uma aeração mais intensa (Burford *et al.* 2003; Emerenciano *et al.* 2007). Segundo Van Wyk e Scarpa (1999). Uma concentração reduzida de oxigênio no ambiente de cultivo dos camarões pode limitar a capacidade dos camarões de metabolizar o alimento afetando a taxa de crescimento. Os resultados obtidos na concentração de oxigênio no presente trabalho durante a fase de terminação e pré-maturação, mantiveram-se na faixa dos 7 mg/l, similares aos reportados por Valenzuela (2009) em juvenis de *F. duorarum*. É importante destacar que não houve diferença significativa entre tratamentos durante as duas fases.

O pH é um parâmetro muito importante nos ambientes aquáticos já que pode influenciar na concentração de amônia não ionizada no viveiro. Os níveis considerados ideais para a maioria dos organismos em cultivo variam entre de 6,5 a 8,5. Valores inferiores a 6,5 e superiores de 10 podem ser nocivos para as brânquias dos camarões ocasionando supressão do crescimento (Van Wyk e Scarpa 1999; Arana 2002). Os valores médios de pH nos tratamentos na fase de terminação não tiveram diferença

significativa, e a variação entre tratamentos foi menor a 0,4. Esta pequena variação foi observada em ambas fases com um valor ligeiramente maior nos tratamentos onde era fornecido alimento fresco. Os valores de pH no sistema de bioflocos geralmente são menores ou iguais a 8 em salinidades acima de 35 ‰, Valenzuela (2009) e Decamp *et al.* (2003). Isto poderia justificar o fato que a adição de alimento fresco contribuiu ligeiramente nos tratamentos para ter um valor mais alto.

Em função de causar problemas na respiração, osmoregulação e excreção, a exposição de camarões durante longo tempo a altas concentrações de amônia na água de cultivo pode inibir o crescimento nos camarões, (Arana 2002; Miranda *et al.* 2009). Segundo Jiang *et al.*, (1999) e Dong-Huo *et al.* (2000), o nível de segurança para juvenis de *L. vannamei* é de 2,6 mg/l. Ostrensky e Wasielesky (1995) descrevem que a LC<sub>50</sub> 24h em juvenis *F. paulensis* (uma espécie com muito parecida a *F. duorarum*) é de 1,47 mg/l para juvenis e de 1,59 para adultos. No presente trabalho não se teve aumento na concentração de amônia, nitrito e nitrato durante o cultivo. Possivelmente isto ocorreu pelas baixas densidades de estocagem usadas durante a fase de terminação e de pré-maturação (15 ind/m<sup>2</sup>), nos tanques com sistema de floco (BF+R e BF+RF) e nos tanques com sistema de água clara (CR+RF). Os valores apresentados em ambas a fases se estiveram em torno de 0,60 mg/l, sendo este um valor baixo, em comparação com os dados letais obtidos por Ostrensky e Wasielesky (1995). Os valores médios apresentados no presente trabalho coincidem com os obtidos por Valenzuela (2009) na engorda de *F. duorarum* em sistema de água clara e de bioflocos.

O nitrito em altas concentrações pode provocar uma oxidação no átomo de cobre (oxihemocianina) o que impossibilita o transporte de oxigênio na hemolinfa dos camarões e conseqüentemente, o transporte de nutrientes para os tecidos (Arana 2002; Sha-Yen e Jiann-Chu 1998). Os resultados do presente trabalho mostram que não houve diferença significativa entre tratamentos durante a fase de terminação onde o valor maior na concentração de nitrito foi observado no tratamento CR+RF, de 0,32±0,27 mg/l; e a maior concentração encontrada durante a fase de pré-maturação foi de 0,43±0,30 mg/l, no tratamento BF+RF, o que pode ser considerado um nível baixo comparado com os apresentados em juvenis de *F. duorarum* por Valenzuela (2009). As concentrações de nitrato registradas nos diferentes tratamentos estiveram dentro dos valores aceitáveis segundo Van Wyk e Scarpa (1999) que recomendam valores menores que 60 mg/l. O valor de LC<sub>50</sub> nitrato na maioria dos organismos aquáticos variam entre 1000 e 3000 mg/l (Arana 2002). Estes valores estão muito acima dos

valores encontrados no presente trabalho durante a fase de terminação e a fase de pré-maturação, onde o maior valor registrado foi no tratamento BF+RF alcançando 13±4,1 mg/l de nitrato.

O volume de floco nos sistemas de cultivo deve ser menor a 200 ml/g segundo Schryver *et al.* (2008). O volume de floco detectado no presente trabalho foi considerado baixo. Provavelmente devido ao fato da utilização de baixas densidades de estocagem. Quando isto acontece o aporte de nitrogênio obtido da excreção organismos é baixo, e, portanto ocorre menor formação das bactérias heterotróficas e consequentemente bioflocos (Schryver *et al.* 2008). Possivelmente as baixas concentrações de nitrogenados foi um fator limitante para um maior desenvolvimento das bactérias, e maior formação de bioflocos. O volume de bioflocos foi maior na fase de terminação, comparada com a fase de pré-maturação, isto possivelmente pela diminuição das densidades devido à mortalidade. Ao comparar o volume de floco registrado por fases, foi observado que no tratamento BF+RF foi obtida a maior concentração, isto possivelmente pelo aporte adicional de nitrogênio mediante o alimento fresco neste tratamento.

## **5.2.- Desempenho dos camarões durante a fase de terminação e a fase de pré-maturação**

Para não provocar estresse a os organismos, a sobrevivência foi avaliada no final da fase de pré-maturação. Os valores observados foram acima de 80%, sendo estes maiores dos registrados por Valenzuela (2009) para *F. duorarum*. No presente experimento a melhor sobrevivência foi detectada nos tratamentos mantidos em sistema de bioflocos. Segundo Valenzuela (2009) organismos mantidos em sistema de bioflocos têm uma melhor condição fisiológica para suportar períodos de estresse, por exemplo, as baixas temperaturas. Ainda que a temperaturas não tivesse sido baixas, na fase de pré-maturação os animais estiveram expostos a temperaturas ligeiramente abaixo dos 24°C. Segundo Otoshi *et al.* (2003) os machos apresentam um menor crescimento que as fêmeas de *L. vannamei*. Os dados de ganho de peso no presente trabalho durante a fase de terminação e pré-maturação foram superiores nos tratamentos com bioflocos, o que confirma o aporte nutricional dos bioflocos (Ju *et al.* 2008, Valenzuela 2009), já que os camarões do tratamento BF+RF cresceram mais que o dobro dos camarões do tratamento CR+RF. Segundo Andreatta e Rosas (2006) e

Valenzuela (2009) os bioflocos funcionam como um complemento que estimula o sistema imunológico para enfrentar condições adversas.

### **5.3.- Fase de desempenho reprodutivo**

#### **5.3.1.-Qualidade de água e crescimento dos organismos.**

Durante esta fase foi observado o maior crescimento em todos os tratamentos, comparado com as fases anteriores, isto possivelmente ocorreu em função das temperaturas mantidas em torno de 28°C no setor de reprodução. Este maior crescimento influenciado pela temperatura elevada confirma os dados obtidos por Ponce-Palafox *et al.* (1997), Vazquez-Dominguez *et al.* (2008) e Ocampo *et al.* (2000). Porém a temperatura não deve ultrapassar os 29°C nas salas de maturação de camarões, pois segundo Sánchez *et al.* (2001), Pascual *et al.* (1998), Perez-Velazquez *et al.* (2001) e Alfaro *et al.* (2004 e 2007) pode ocorrer problemas de deterioração do sistema reprodutivo dos machos ocasionados pelo estresse. Os sistemas de recirculação podem ter grandes vantagens como controle de temperatura na água, serem biosseguros, e com maiores taxas de sobrevivência (Otohi *et al.* 2003) Durante a fase de desempenho reprodutivo os parâmetros de qualidade de água estiveram perto da faixa dos 28 °C, observando se uma variação mínima entre a temperatura da água dos tratamentos. As concentrações de oxigênio dissolvido, salinidade, e pH de igual forma se mantiveram com variações mínimas entre tratamentos, isto foi possível devido a que os organismos estiveram em sistema de recirculação onde, com o uso de filtro biológico foi possível manter controlado os níveis de compostos nitrogenados. A sobrevivência foi maior que 80% em todos os tratamentos. Braga *et al.* (2010), obtiveram sobrevivência de 86% com *F. paulensis*, alimentados com alimento fresco durante um período de 40 dias. Os organismos avaliados durante o desempenho reprodutivo possuíam peso médio de 16.7±0.68 gramas, com o espermátóforo desenvolvido.

Segundo Cavalli *et al.* (1997), machos de *Farfantepenaeus paulensis* são sexualmente maduros desde as 16 g com aproximadamente 6 meses de idade. A idade para ser considerado um adulto em *F. duorarum* é de 7 meses (Ramirez-Rodriguez e Arreguin-Sanchez 2003). Em contraste, Ceballos-Vazquez *et al.* (2010) descreveu que machos de *L. vannamei* tem o desenvolvimento sexual maduro entre 8 e 10 meses, com peso variando entre 24 e 30 g. O presente trabalho apresenta dados similares aos obtidos por Cavalli *et al.* (1997).

### 5.3.2.- Efeito da alimentação na qualidade espermática.

No presente trabalho, ao avaliar a influencia da alimentação sobre os aspectos qualitativos e quantitativos das células espermáticas dos organismos, mediante a contagem e caracterização foi observado maiores quantidades de células espermáticas nos camarões mantidos nos tratamentos com bioflocos, o que demonstra que os organismos mantidos neste sistema tiveram melhor capacidade para produzir células espermáticas. Quanto ao peso dos organismos não teve influencia na quantidade de células espermáticas, isto pode ser observado nos tratamentos CR+RF e BF+R que tiveram o mesmo peso, mas em numero de células espermáticas BF+R foi aproximadamente 28% maior. Os resultados obtidos na amostragem inicial refletiram a condição reprodutiva dos organismos em fases previas (terminação e pré-maturação). Sendo assim, portanto a adição de alimento fresco no sistema de bioflocos aparentemente não teve influencia na quantidade de células espermáticas totais, já que os tratamentos que tiveram maior numero de células espermáticas foram BF+R e BF+RF com  $12,35 \times 10^6$  e  $12,96 \times 10^6$  respectivamente durante a amostragem inicial; e  $19,51 \times 10^6$  e  $19,23 \times 10^6$  durante a amostragem final, não sendo observada diferença significativa entre os três tratamentos em ambas amostragens. Na amostragem final foi demonstrado que o peso do organismo, não influenciou na produção de células espermáticas. A quantidade de células espermáticas foi maior nos tratamentos mantidos em sistema de bioflocos nas fases previas ao desempenho reprodutivo. Isto foi evidenciado durante a amostragem inicial na fase de desempenho reprodutivo. Rendon *et al.* (2007) obtiveram  $8 \times 10^6$  células espermáticas em organismos de *L. vannamei* com 21 g e com 87% de normalidade; Alfaro e Lozano (1993) obtiveram  $20 \times 10^6$  de células espermáticas com organismos de *L. vannamei* com 24 g e 77% de normalidade; Já Perez-Velazquez *et al.* (2003) obtiveram  $8,7 \times 10^6$  de células espermáticas com organismos de *L. vannamei* com 29,1 g e 74,5% de normalidade. Estes dados demonstram que mais que o peso dos organismos, as condições de cultivo e a alimentação podem influenciar na quantidade de células espermáticas e na percentagem de normalidade. O numero de células espermáticas normais no presente trabalho foi maior que 96% nos três tratamentos. O fato de que os camarões terem sido mantidos em temperaturas entre 24°C nas fases previas pode ter influenciado positivamente no percentual de células normais encontradas nos três tratamentos. Segundo Perez-Velazquez *et al.* (2001) ao testar o efeito da temperatura em reprodutores de *L. vannamei*, foi detectado que após de um período de 42 dias com

temperaturas testadas de 29° e 32° C a porcentagem de células espermáticas anormais sobe de 38,9 e 37,9% para 99,7 e 100% respectivamente. Sánchez *et al.* (2002) e Pascual *et al.* (2000) demonstraram que as temperaturas maiores que 30°C após de um período de 5 dias ocasionam a perda da capacidade fisiológica de adaptação ao meio e reflete diretamente na qualidade espermática.

Segundo Bray e Lawrence (1992) e Pascual *et al.* (1998) a estabilidade na temperatura da água é crucial na reprodução e deve estar entre 27 e 29°C. O tratamento F+R apresentou a menor quantidade de células normais. Mesmo assim o valor obtido foi superior a 96%. Esta diminuição no número de células normais, pode ser compensado com a quantidade de células totais. Braga *et al.* (2010) trabalhando com machos de *F. paulensis* de 22,4 g, obteve  $6 \times 10^6$  células na amostragem inicial e  $4,89 \times 10^6$  células após 40 dias. Peixoto *et al.* (2004a), em outro experimento com machos de *F. paulensis* com peso entre 24,5 e 30,2 g obteve  $1,38 \times 10^6$  e  $2,27 \times 10^6$  células, respectivamente. O número de células encontrados no presente trabalho são maiores que os obtidos por Braga *et al.* (2009) e Peixoto *et al.* (2004a) o que demonstra o grande potencial reprodutivo de *F. duorarum*. Também ficou comprovado que um bom manejo prévio à maturação em sistema de bioflocos pode melhorar as condições dos reprodutores.

Em relação aos espermatóforos dos machos adultos, segundo Alfaro (1993), Diaz *et al.* (2001) e Braga (2009) pode-se observar que fatores tais como idade, peso, espécie, origem ou estágio de maturação do espermatóforo, podem influenciar o peso dos mesmos. Os valores apresentados no presente trabalho são parecidos aos apresentados por Braga (2009), já que no presente estudo foram usados organismos menores ( $16.7 \pm 0.68$ g durante a fase de desempenho reprodutivo) e foi observado que nesta espécie o espermatóforo é maior que na espécie reportada por (Cevallos-Vazquez *et al.* 2003, Peixoto *et al.* 2004a). Segundo Diaz *et al.* (2001) o peso do espermatóforo depende mais dos componentes estruturais do que as células que o mesmo contém. Durante a amostragem inicial foi observado que o tratamento BF+RF obteve o maior peso do espermatóforo e o maior número de células espermáticas, sendo que esta relação não foi observada nos outros tratamentos. Na amostragem final não houve relação alguma entre o tamanho do espermatóforo e a quantidade de células espermáticas produzidas.

O Índice espermatoossomático e índice gonodossomático, aparentemente não apresentam relação alguma com a qualidade espermática mostrada nos camarões dos

diferentes tratamentos. Possivelmente foram muito influenciados pelo crescimento dos machos, mostrado na fase de desempenho reprodutivo. No presente trabalho foram obtidos índices espermatozoides entre 0,11- 0,12%. Por outro lado, Braga *et al.* (2009) reportaram valores de 0,008% em *F. paulensis* sendo os mesmos alimentados com alimento fresco. Porém, fatores como peso do camarão e espécie podem apresentar variações nos resultados deste índice. No presente trabalho o índice IG e o IES não foram considerados parâmetros de avaliação na qualidade dos reprodutores de *F. duorarum*. O IGS tem sido usado mais em trabalhos com maturação de fêmeas que em machos (Palacios *et al.* 2000), já que o IGS em machos é menor, e pode ser afetado por fatores como o tamanho do organismos.

#### **5.4.- Análise da condição nutricional**

A condição nutricional dos machos reprodutores de camarões penéides tem sido estudada por meio das análises de alguns tecidos como hemolinfa, músculo, hepatopâncreas em *L. schmitti*, *L. setiferus* e *F. paulensis* (Pascual 2000, Sanchez *et al.* 2001; Arevalo 2003, Goimier *et al.* 2006, Perez-Jar *et al.* 2006, Braga *et al.* 2010). A avaliação nutricional mediante a medição de triglicerídeos, colesterol e proteínas totais é realizada, já que esses metabólitos estão envolvidos na função reprodutiva, como desenvolvimento gonadal e formação de células espermáticas (Harrison, 1990, Sanchez *et al.* 2001a, Perez-Velazquez *et al.* 2003, Goimier *et al.* 2006). Palacios *et al.* (2000) observaram um aumento nos níveis de colesterol, triglicerídeos e lipídeos totais nas gônadas durante o desenvolvimento reprodutivo. Alguns trabalhos têm reportado uma diminuição nos lipídeos no hepatopâncreas, e essa diminuição é atribuída a transferência destes nutrientes para a gônada nos períodos de reprodução (Teshima *et al.* 1988, Castille e Lawrence, 1989, Millamena e Pascual, 1990). Os triglicerídeos são uma importante reserva de lipídeos com funções energética e reprodutiva, ligadas a síntese de espermatozoides nos testículos (Mourente e Rodriguez 1997). Os valores de triglicerídeos no hepatopâncreas dos machos de *F. duorarum* demonstraram que no tratamento BF+RF a concentração dos triglicerídeos foi menor no hepatopâncreas. Porém, este tratamento foi o que demonstrou maior crescimento na fase inicial. Possivelmente o organismo usou esta quantidade de energia para a formação de biomassa muscular e aumento no peso do espermatóforo, já que demonstrou o melhor desenvolvimento nos quesitos antes mencionados. Braga (2009) observou que machos alimentados com alimento fresco apresentavam maiores concentrações de triglicerídeos



no músculo em relação às diferentes dietas, diferentemente das fêmeas, em que parte das reservas são mobilizadas para as gônadas para armazenamento de nutrientes (Teshima *et al.* 1988, Castille e Lawrence, 1989; Millamena e Pascual, 1990). Já nos machos não é observado um crescimento significativo da gônada como acontece com as fêmeas. Os tratamentos que mostraram as maiores concentrações de triglicerídeos na amostragem inicial no hepatopâncreas foram CR+RF e BF+R, possivelmente estão relacionados com a dieta que receberam. Segundo dados obtidos por Braga *et al.* (2009), a concentração de triglicerídeos foi menor em organismos alimentados com alimento fresco que os alimentados com ração ou uma mistura de ambos, neste mesmo trabalho foram observadas maiores concentrações de triglicerídeos no músculo dos camarões alimentados com alimento fresco que os alimentados com ração. Portanto no presente estudo, a alta concentração de triglicerídeo no início do tratamento F+R é atribuído pela própria dieta durante a fase de terminação e pré-maturação. Este fato provavelmente se deve ao alto teor de lipídeos aportado pela ração, já que os bioflocos contêm baixo teor de lipídeos (Berger 2000, Kuhn *et al.* 2009, Wasielesky *et al.* 2006). Valenzuela (2009) não observou influência dos bioflocos na concentração de triglicerídeos em juvenis de *F. duorarum*. Neste presente trabalho, foi observado um efeito antagônico entre a concentração de triglicerídeos na fase inicial e a qualidade espermática.

Na amostragem final, foi observado que o valor de triglicerídeos no hepatopâncreas demonstrou uma relação com o ganho de peso apresentado pelos machos na fase inicial. Visto que no tratamento BF+RF foi observada a menor concentração de triglicerídeos no hepatopâncreas e o maior ganho de peso. Por outro lado, o tratamento BF+R apresentou a maior concentração de triglicerídeos no hepatopâncreas e o menor ganho de peso. Não foram observadas diferenças entre tratamentos para as concentrações de triglicerídeos nas gônadas, provando assim que este metabólito na fase inicial foi usado mais para aumento de biomassa, já que durante esta etapa os três tratamentos estiveram submetidos à mesma alimentação. O tipo de alimento fresco possivelmente pode ter influenciado nas concentrações finais de triglicerídeos no hepatopâncreas como demonstrado por Braga *et al.* (2009). Outro fator que pode ter influenciado nas concentrações finais de triglicerídeos é o esgotamento que sofrem os reprodutores, o que pode refletir em menores níveis de triglicerídeos ao final da etapa reprodutiva, da mesma forma que se verificou uma redução do IGS (Vazquez *et al.* 2004; Braga 2009). Os valores obtidos no presente trabalho

demonstraram que não existe diferença significativa entre tratamentos nos níveis de triglicerídeos no hepatopâncreas no início do desempenho reprodutivo, mas foi observado uma diminuição ao longo do tempo nos três tratamentos, isto possivelmente para cobrir os gastos energéticos durante o período reprodutivo.

O colesterol pode ser sintetizado através dos esteróis derivados das plantas, mas é preciso que esteja presente na dieta, já que contribui para a retenção de lipídeos totais e triglicerídeos no hepatopâncreas (Harrison 1990, Cuzon *et al.* 2004). No presente trabalho, a maior concentração de colesterol no hepatopâncreas na fase inicial foi apresentada nos tratamentos com bioflocos. Cuzon *et al.* (2004) observaram que camarões mantidos em água com produtividade primária precisam de maiores quantidades de colesterol, e os resultados de crescimento são favoráveis quando comparados aos camarões cultivados em sistemas de água clara. Dados obtidos por Valenzuela (2009) demonstram que camarões de cinco gramas de *F. duorarum* mostraram maior concentração de colesterol na hemolinfa que os mantidos em água clara durante a fase final do experimento. Os resultados do tratamento em bioflocos deste trabalho estão de acordo com os resultados obtidos por Cuzon *et al.* (2004) e Valenzuela (2009), que além de mostrar as maiores concentrações de colesterol no hepatopâncreas, mostraram o maior crescimento sobrevivência, número de células espermáticas e a maior porcentagem de normalidade. Sanchez *et al.* (2001) observaram uma relação entre a diminuição nos níveis de colesterol e a qualidade espermática de machos de *L. setiferus*. Portanto, observa-se uma forte influência do sistema de cultivo com a concentração deste metabólito e os parâmetros medidos. Porém, nos camarões mantidos em sistema de água clara, demonstrou-se o menor crescimento nas fases de preparação, além de um menor número de células espermáticas e as menores concentrações deste metabólito no hepatopâncreas. A concentração de colesterol na gônada no presente trabalho apresentou-se menor concentração quando comparada com o hepatopâncreas. Porém, a concentração de colesterol na gônada dos camarões do tratamento BF+RF, apresentou menor, possivelmente porque este metabólito não é retido na gônada. Portanto, não foi encontrada relação nenhuma entre os níveis de colesterol na gônada, com o crescimento e a qualidade espermática dos organismos.

Durante amostragem final, o tratamento BF+R demonstrou a maior concentração de colesterol no hepatopâncreas, observando-se da mesma forma uma relação entre a concentração deste metabólito e o número de células espermáticas. Da

mesma forma, foi observada uma maior concentração de colesterol nas gônadas, possivelmente pela forte atividade reprodutiva que tiveram os organismos durante esta etapa.

Durante ambas as amostragens, os camarões dos tratamentos mantidos em sistema de bioflocos mostraram uma maior quantidade de colesterol no hepatopâncreas. Isto evidencia que os organismos destes tratamentos apresentaram maiores reservas de colesterol, o que pode estar relacionado com a atividade reprodutiva, sobrevivência e retenção de triglicerídeos no hepatopâncreas (na amostragem final). Os camarões mantidos no tratamento CR+RF apresentaram as concentrações mais baixas deste metabólito, o que pode ser relacionado com os parâmetros reprodutivos e zootécnicos mais baixos, quando comparados aos tratamentos utilizando bioflocos.

Além dos lipídeos, as proteínas têm sido estudadas por sua importância nos processos reprodutivos, como por exemplo, a formação do espinho dos camarões penéides, (Sanchez *et al.* 2001; Wouters *et al.* 2002; Perez-Velazquez *et al.* 2003; Goimier *et al.* 2006; Braga *et al.* 2010). A quantidade de proteínas necessárias no processo reprodutivo é relativamente alta em comparação com organismos que não se encontram no período reprodutivo (Harrison, 1990). As lipoproteínas são proteínas que têm como função o transporte de lipídeos de estruturas de armazenamento como o hepatopâncreas, mediante o plasma até estruturas como as gônadas (Luzbens *et al.* 1995; Ravid *et al.* 1999). Neste estudo, a concentração de proteínas totais no hepatopâncreas durante a fase inicial, foi maior no tratamento CR+RF, mostrando diferença significativa entre os demais tratamentos (BF+R e BF+RF). Segundo os dados obtidos por Goimier *et al.* (2006) e Braga (2009), os altos níveis de proteínas no hepatopâncreas e na hemolinfa de camarões estão relacionados com menores quantidades de células espermáticas, provocados pela estimulação do sistema imune. Este comportamento foi observado para o tratamento CR+RF, que apresentou a maior concentração protéica, e também a menor quantidade de células espermáticas. As concentrações mais elevadas no tratamento CR+RF possivelmente estão relacionadas com a fonte de alimento (ração e alimento fresco), principalmente a lula, que é constituída de aproximadamente 86% de proteína (Braga *et al.*, 2009), o que possivelmente pode ter influenciado desfavoravelmente na qualidade espermática. Os tratamentos co-alimentados com alimento fresco apresentaram a maior quantidade de proteínas no hepatopâncreas. O motivo pelo qual não foi observado este efeito negativo no tratamento BF+RF foi possivelmente porque os camarões poderiam estar

consumindo bioflocos, ração e alimento fresco. De acordo com Valenzuela (2009), os bioflocos contêm 22,5% de proteína bruta, minimizando assim o efeito negativo do excesso de proteína. Este excesso de proteína no tratamento CR+RF possivelmente afetou o crescimento dos camarões, já que foram os que apresentaram menor crescimento. Segundo Kuresky e Davis (2002), valores superiores a 48% de proteína afetam o crescimento. A importância da proteína no processo reprodutivo dos machos foi observada no presente trabalho, isso devido a que na gônada foi encontrada maior concentração de proteína do que no hepatopâncreas. Foram observadas maiores concentrações de proteínas totais nos tratamentos co-alimentados com alimento fresco BF+RF. Portanto, o tratamento BF+RF foi o que demonstrou a melhor performance reprodutiva, tendo uma relação com as concentrações médias de proteínas encontradas na gônada e no hepatopâncreas.

Durante a amostragem final, a concentração de proteína na gônada foi maior quando comparada com o hepatopâncreas, observando-se um aumento em todos os tratamentos. Isso possivelmente ocorreu pela alimentação recebida a base de alimento fresco. No presente trabalho, não foi observada uma diminuição nos níveis de proteínas totais no hepatopâncreas após o período reprodutivo, como acontece com fêmeas (Vazquez *et al.* 2004). O tratamento CR+RF apresentou valores similares de proteínas no hepatopâncreas, além do fato de continuar apresentando a menor quantidade de células espermáticas. Possivelmente, isto seja devido ao efeito das altas concentrações de proteína recebidas durante a fase de terminação e pré-maturação, trazendo como consequência um desequilíbrio durante a etapa reprodutiva. O índice hepatossômico apresentado pelos camarões foi maior naqueles mantidos em sistema de bioflocos (BF+R e BF+RF), mostrando uma relação entre o maior IHS e maior performance reprodutiva e nutricional.

## 6.- CONCLUSÃO

O controle dos parâmetros de qualidade de água, nos sistemas de cultivo de água clara e no sistema de bioflocos, influenciaram positivamente para manter uma alta porcentagem de células espermáticas normais.

O número de células espermáticas não apresentou diferença significativa entre os organismos dos tratamentos mantidos em sistema com adição e sem adição de alimento fresco.

Depois do desempenho reprodutivo na sala de maturação os organismos não apresentaram perda da qualidade espermática, mantendo acima de 95% de células normais.

Valores de proteínas totais maiores foram encontrados na gônada dos machos que no hepatopâncreas. Os valores médios foram relacionados com um maior número de células espermáticas nos machos de *F. duorarum*.

Desta forma pode-se concluir que os reprodutores machos de *F. duorarum* podem ser preparados sem necessidade de dietas especiais para maturação, e sem adição de alimento fresco, já que a quantidade de células espermáticas, com ou sem adição de alimento fresco não foi afetada utilizando-se o sistema de bioflocos, aumentando-se a biossegurança do sistema.

## 7. – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFARO, J., 1990. A contribution to the understanding and control of the male reproductive system melanization disease the brood stock *Penaeus setiferus*. Tesis de licenciatura. U.S.A. 65 p.
- ALFARO J, X LOZANO. 1993. Production and deterioration of spermatophores in pondreared *Penaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 24, 522–529.
- ALFARO J, G ZUÑIGA, J FOMEN. 2004. Induction of ovarian maturation and spawning by combined treatment of serotonin and a dopamine antagonist, spiperone in *Litopenaeus stylirostris* and *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 236, 511–522.
- ALFARO J, K ULATE, M VARGAS.2007. Sperm maturation and capacitation in the open thelycum shrimp *Litopenaeus*, (Crustacea: Decapoda: Penaeoidea). Aquaculture 270: 436-442.
- ANDREATTA E, C ROSAS, 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.
- ARANA VL. 2002. Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: Uma revisão para peixes e camarões. 2ª Edição. Editora UFSC-Brasil. 133 p.
- AREVALO, LM. 2003. Estudio de la calidad reproductiva de machos adultos de *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) en la plataforma continental adyacente a la laguna de terminos: comparación entre las poblaciones silvestres y las mantenidas en condiciones controladas. Tesis de licenciatura. UJAT. 63 p.
- AVNIMELECH Y. 1999. Carbon/Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture 176, 227-335.

- AVNIMELEC, Y., M KOCHBA. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using  $^{15}\text{N}$  tracing. *Aquaculture* 287, 163–168.
- AREVALO LM. 2008. Manual de prácticas de laboratorio del sector de reproducción de Camarones de la UMDI- Sisal. CETMAR.UNAM. 15 P.
- ARREGUIN-SANCHEZ F, M ZETINA REJON AND M RAMIREZ RODRIGUEZ. 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).
- BERGER C. 2000. Aportes de la Bio-Tecnología a la Alimentación y a la Inmuno-Estimulación de Camarones peneidos. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. , (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.*
- BOYD C. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture.* Auburn University, Alabama. Birmingham Publishing Co. Alabama. 482 pp. In: ARANA VL. 2002. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: Uma revisão para peixes e camarões.* 2ª edição. Editora UFSC-Brasil. 133 p.
- BRADFORD MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding. *Ann. Biochem.* 72, 248
- BRAGA LA 2009. Ultraestrutura do espermatozóide e efeito da alimentação na qualidade espermática do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis*. (Crustácea: Decapoda). Dissertação de mestrado. FURG. Brasil. 82 P.
- BRAGA A, C NAKAYAMA, J MARTINS, E COLARES, W WASIELESKY. 2010. Spermatozoid quality of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda,

- Dendrobranchiata) Broodstock fed with different maturation diets. *Aquaculture*. 307: 44-48
- BRATVOLD D, CL BROWDY. 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats<sup>tm</sup>) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195(81-94).
- BRAY WA, AL LAWRENCE. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: Fast, A.W., Lester, L.J. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 93–170.
- BROWDY CL, D BRATVOLD, AND RP MCINTOSH. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, pp 20-34.
- BUFORD MA, PJ THOMSON, RH BAUMAN AND DC PEARSON. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219: 393-411.
- CARDENAS JA. 2008. Acuerdos para establecer épocas de Veda. Disponible em <http://faolex.fao.org/docs/texts/mex87063.doc> (Acceso 09 /Novembro/ 2009).
- CASTILLE FL, LA LAWRENCE. 1989. Relationship between maturation and biochemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps *Penaeus aztecus* Ives and *P. setiferus* (L.) *J. Crustacean Biol.* 9, 202–211.
- CAVALLI RO, MP SCARDUA, WJ WASIELESKY. 1997. Reproductive performance of different-sized wild and pond-reared *Penaeus paulensis* females. *J. World Aquac. Soc.* 28, 260– 267.



- CEBALLOS-VAZQUEZ B, C ROSAS, I RACOTTA. 2003. Sperm Quality in relation to age and weight of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 228 (141-151)
- CEBALLOS-VAZQUEZ B, E PALACIOS, J AGUILAR-VILLAVICENCIO, IS RACOTTA. 2010. Gonadal development in male and female domesticated whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in relation to age and weight. Aquaculture 308: 116-123.
- CRAB R, Y AVNIMELECH, T DEFOIRDT, P BOSSIER AND W VERSTRAETE. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture 270 (1-14)
- CUZON G, A LAWRENCE, G GAXIOLA, C ROSAS, J GUILLAUME. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. Aquaculture 235, 513-551
- DECAMP O, J CODY, L CONQUEST, G DELANOY, AG TACON. 2003. Effect of shrimp stocking density of size-fractionated phytoplankton and ecological groups of ciliated protozoa within zero-water exchange shrimp culture system J. World aquaculture. Soc. 38, 395-406
- DIAZ AC, A GIMENEZ, N HARAN, J FENUCCI. 2001. Reproductive performance of male argentine red shrimp *Pleoticus muelleri* Bate (Decapoda, Penaeoidea) in culture conditions. J. World Aquac. Soc., 32, 236–242.
- DONG-HUO J, AL LAWRENCE, WH NEILL, H GONG. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. Journal of experimental Marine Biology and Ecology. 253 193-209.
- EMERENCIANO MC. 2007. Flocos microbianos: Aspectos zootécnicos no cultivo do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* e *farfantepenaeus brasiliensis*. Rio Grande. Universidade federal do Rio Grande. Dissertação do mestrado. 57 p. (Mestrado em Aquicultura).

- GALINDO C, G GAXIOLA, G CUZON, X CHIAPPA-CARRARA. 2009. physiological and biochemical variations during the molt cycle in juvenile *Litopenaeus vannamei* under laboratory conditions. Journal of crustacean biology. 29(4),544-549.
- GOIMIER Y, C PASCUAL, A SANCHEZ, G GAXIOLA, A SANCHEZ, C ROSAS, 2006. relation between reproductive, physiological, and immunological condition of *Litopenaeus setiferus* pre-adult males fed different dietary protein levels (Crustacea; Penaeidae). Anim. Reprod. Sci. 92, 193–208.
- GULLIAN M, C ARAMBURU, B SANDERS, R LOPE. 2010. Variability of culturing pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* in low-salinity groundwater from the Yucatán peninsula (SE, México). Aquaculture 302, 202-207.
- HARRISON KE. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod . crustaceans: a review. J. Shellfish Res. 99, 1–28.
- JIANG, D.H., LAWRENCE, A.L., NEILL, W.E., GRANT,W.H., GONG, H., 1999. Lethal effect of ammonia to postlarval *Penaeus vannamei* at two temperatures, 25 and 30°C. In: American Aquaculture Society Annual Conference, 27–30 January, Tampa, Florida, USA, p. 77.
- JU Z, I FFORSTER, L CONQUEST, W KUO AND F HORGAN. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. Aquaculture research, 39 ,118-133.
- KUHN DD, GD BOARDMAN, AL LAWRENCE, L MARSH, GJ FLICK. 2009 Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. Aquaculture 296, 51-57.
- KURESHY N, DA DAVIS. 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus Vannamei*. Aquaculture 204, 125-143.

- LEUNG-TRUJILLO J AND AL LAWRENCE. 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. *Aquaculture*, 65,363-370.
- LUZBENS E, M KHAYAT, T TAVID, B FUNKENSTEIN, B TIETZ. 1995. Lipoproteins and lipid accumulation within the ovaries of penaeid shrimp. *Isr. J. Aquacult.-Bamidgeh* 47 (3-4), 185-195.
- MAICA FP. 2009. Influencia das baixas salinidades na composição microbiana e no desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em sistema super-intensivo sem renovação de água. Dissertação de mestrado. FURG. Brasil 58P.
- McINTOSH D, TM SAMOCHA, ER JONES, AL LAWRENCE, DA MCKEE, S OROWITZ, A OROWITZ. 2000. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low- protein diet in outdoor tank system and no water change. *Aquacultural Engineering* 21 (215-227)
- MEDINA A. 1994. Spermiogenesis and sperm structure in the shrimp *Parapenaeus longirostris* (Crustacea: Dendrobranchiata): comparative aspects among decapods. *Mar. Biol.* 119, 449-460.
- MILLAMENA OM, FP PASCUAL. 1990. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Penaeus monodon* Fabricius broodstock from the wild. *J. World Aquacult. Soc.* 21, 116-121.
- MIRANDA-FILHO K, GL PINHO, W WASIELESKY, A BIANCHINI. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C* 150: 377-382.
- MOURENTE G, A RODRIGUEZ. 1997. Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3). content on lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. *Mar. Biol.* 128, 289-298.

- NAKAYAMA C, S PEIXOTO, D LOPES, G VITA, D KRUMMENAUER, G FOES, R CAVALLI, W WASIELESKY. 2008. Métodos de extrusão manual e elétrica dos espermátóforos de reprodutores salvagens do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda: Penaeidae). *Ciência Rural*, SM 8 (2018-2022)
- OCAMPO L, H VILLAREAL, M VARGAS, G PORTILLO, F MAGALLON. 2000. Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis*. *Aquaculture Research*. 31, 167-171.
- OSTRENSKY A, W WASIELESKY. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante 1967) *Aquaculture* 132, 229-347.
- OTOSHI CA, SM ARCE, SM MOSS. 2003. Growth and reproductive performance of broodstock shrimp reared in a biosecure recirculating aquaculture system versus a flow-through pond. *Aquacultural Engineering*: 29 93-107.
- PALACIOS E, C PEREZ-ROSTRO, J RAMIREZ, A IBARRA, I RACOTTA. 1999. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth *Aquaculture* 309-321
- PASCUAL JC, E VALERA, C RE-REGIS, G GAXIOLA, A SANCHEZ, L RAMOS, L SOTO AND C ROSAS. 1998. Effect of water temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setiferus* Adult males. *Journal of the world aquaculture society* .Vol. 19 (4) 477-484.
- PASCUAL C. 2000. Caracterización fisiológica e inmunológica de una población de machos adultos del camarón blanco (*Litopenaeus setiferus*): Línea base y efecto del estrés térmico. Tesis maestría. UNAM México:88 pp
- PALACIOS E, AM IBARRA, IS RACOTTA 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185, 353-371

- PEIXOTO S, R CAVALLI, D KRUMMENAUER, W WASIELESKY, F D'INCAO. 2004a. Influence of artificial insemination on the reproductive performance of *Farfantepenaeus paulensis* in conventional and inisex maturation system. *Aquaculture* 230 (197-204)
- PEIXOTO S, R CAVALLI, W WASIELESKY, F D'INCAO, D KRUMMENAUER, A MILACH. 2004b. Effects of age and size on reproductive performance of captive performance of captive *Farfantepenaeus paulensis* Broodstock. *Aquaculture* 238(173-182).
- PEIXOTO S, R CAVALLI, W WASIELESKY. 2005. Recent Developments on Broodstock Maturation and Reproduction of *Farfantepenaeus paulensis*. *Brazilian Archives of Biology and Tenology* 4: 6 (997-1006).
- PEIXOTO S, W WASIELESKY, W MARTINO, A MILACH, R SOARES, R CAVALLI . 2008. Comparison of reproductive output, offspring quality, ovarian histology and fatty acid composition between similiary-sized wild and domesticated *Farfatepenaeus paulensis*. *Aquaculture* 285, 201-206.
- PEREZ-FARFANTE I. 1969. Western Atlantic Shrimp of genus penaeus. *Fishery bulletin* 67, 461-589.
- PÉREZ-JAR L. 2005. Fisiología y calidad reproductiva de machos de camarón blanco *Litopenaeus schmitti* em condiciones de cautiverio. Tesis de doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas Del Noroeste, México, 132p.
- PÉREZ-JAR L, T RODRIGUEZ-RAMOS, L RAMOS, Y GERRA-BORREGO, IS RACOTTA. 2006. Changes in metabolic and immunological variables of wild andpond-reared southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* adult males during continuous reproductive activity. *Aquaculture* 252, 591-597.
- PEREZ-VELAZQUEZ M, W BRAY, L LAWRENCE, D GATLIN, M GONZALEZ-FELIX. 2001. Effect of temperatura on sperm quality of captive *Litopenaeus Vannamei* Broodstock. *Aquaculture* 198, 209-218.

- PEREZ-VELAZQUEZ M, M GONZALEZ-FELIX, L LAWRENCE, W BRAY, D GATLIN, M GONZALEZ-FELIX. 2003. Dietary effects on sperm quality of *Litopenaeus vannamei* broodstock. J. World Aquac. Soc. 34 (1), 92–98.
- PONCE-PALAFOX J, MARTINEZ-PALACIOS C, L ROSS. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture. 157, 107-115.
- RACOTTA IS, E PALACIOS, AM IBARRA. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture, 227, 107-130.
- RAMIREZ-RODRIGUEZ M, ARREGUIN-SANCHEZ F. 2003. Life history stage duration and natural mortality for the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in the southern Gulf of México, using the gnomonic model for time division. Fisheries Research 60, 45-51.
- RAMOS JM, SM SALAS, DH FLORES. 2003. Tendencias actuales de la captura de camarón en la sonda de Campeche. Memorias del IV Foro Regional de Camarón del Golfo de México y mar Caribe, Campeche, Campeche 26-28 Feb. 2003.
- RAVID T, A TIETZ, M KHAYAT, E BOEHM, R MICHELIS, E LUBZENS. 1999. Lipid accumulation in the ovaries of a marine shrimp *Penaeus semisulcatus* (De Haan). J. Exp. Biol. 202(13), 1819–1829.
- RENDON SR, ER MACIAS, SP CALDERON, AP NUÑEZ, RI SOLIZ. 2007. Comparison of some reproductive characteristics of farmed and wild white shrimp males *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). Rev. Biol. Trop. 55 (1), 199–206.
- ROELAND W, P LAVENS, J NIETO, P SORGELOOS. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture 202 1-21.

- ROSAS C, A BOLONGARO-CREVENNA, A SANCHEZ, G GAXIOLA, L SOTO AND E ESCOBAR. 1995. Role of the digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. Biol. Bull 1989. 168-174.
- ROSAS C, C PASCUAL, N LOPEZ, A SANCHEZ. 2002. Metabolitos 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*. Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- SCHRYVER DP, R CRAB, T DEFOIRD, N BOON AND W VERSTRAETE. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture . *Aquaculture* 227, 125-137.
- SHA-YEN C, C JIANN-CHU.1998. Effects of the nitrite exposure on the hemolymph electrolyte respiratory protein and free amino acids levels and water content of *Penaeus japonicus*. *Aquatic Toxicol.* 144, 129-139.
- SAMOCHA TM, A LAWRENCE, CR COLLINS, CR EMBERSON, JL HARVIN, PM VAN. 2001. Development of integrated, environmentally sound, inland shrimp production technologies for *Litopenaeus vannamei*. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA*, pp. 64-75.
- SANCHEZ A, C PASCUAL, A SANCHEZ, F VARGAS-ALBORES, G LEMOULLAC, C ROSAS. 2001. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. *Aquaculture* 198, 13–28.

- SANCHEZ. 2001a. Variables metabólicas de la hemolinfa, respuesta inmune y balance energético de los machos adultos de *Litopenaeus setiferus* durante la aclimatación (Crustacea, Decapada, Penaeidae). Tesis de maestría. UNAM México. 73 p.
- SANCHEZ A, C PASCUAL, A SANCHEZ, F VARGAS-ALBORES, G LEMOULLAC, C ROSAS. 2002. Acclimation of adult males of *Litopenaeus setiferus* exposed at 27 °C and 31 °C: bioenergetic balance. In: Escobar-Briones, E.G., Alvarez, F. (Eds.), *Modern Approaches to the Study of Crustacea*. Kluwer Academic Press, NY, pp. 45–52.
- SOKAL RR, FJ ROHLF. 1969. *Biometry. Principle and practices of statistics in biological research*. W. H. Freeman e Co., 776p.
- TESHIMA S, A KANASAWA, S KOSHIO, K HORINOUCI. 1988. Lipid metabolism in destalked prawn *Penaeus japonicus*: induced maturation and accumulation of lipids in the ovaries. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54, 1115–1122.
- VAN WIK P e J SCARPA. 1999. Water quality and management In: Van WP et al (Eds). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater system*. Florida department of agriculture and consumer services, Tallahassee, p. 128-138.
- VAZQUEZ C, J PATROIS, HC CECCALDI. 2004. Exhaustion of lipid reserves in the hepatopâncreas of *Fenneropenaeus indicus* broodstock in relation to successive spawnings. *Aquaculture* 236, 523-537
- VAZQUEZ-DOMINGUEZ E, A VOLONGARO-CREVANNA, A SANCHEZ, C ROSAS. 2008. The pond's shape matters: differential growth, physiological condition and survival of epibenthic *Farfantepenaeus aztecus* postlarvae. *Aquaculture research* 2008, 1-12.
- VALENZUELA JM. 2009. Condição fisiológica e imunológica do camarão-rosa do Golfo do México *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad 1939) cultivados em



sistema BFT (Bio-Floc Technology. Dissertação de mestrado. FURG. Brasil 113P.

WASIELESKY W, H ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 258, 396-408.

WEIRICH CR, CL BROWDY, D BRATVOLD, BJ MCABEE, AD STOKES. 2002. Preliminary characterization of a prototype minimal exchange super-intensive shrimp production system. Pages 255-270 in Proceedings of the IVTh International Conference on Recirculating Aquaculture. Virginia Tech University, Blacksburg, Virginia, USA.

WOUTERS, R, P LAVENS, J NIETO e P SORGELOOS. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture. 202, 1-21.

WOUTERS, R, B ZAMBRANO, M ESPIN, J CALDERON, P LAVENS, P SORGELOOS. 2002. Experimental broodstock diets as partial fresh food substitutes in white shrimp *Litopenaeus vannamei* B. Aquac. Nutr. 8, 249-256.

WYBAN J, WA WALSH, DM GODIN, 1995. Temperature effects on growth feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 138, 267-279.