



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA  
JULIANA RIBEIRO ROSA

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ALGAS PARDAS PARA O CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO: RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO,  
MICROBIOLOGIA DO TRATO DIGESTIVO E PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS.**

FLORIANÓPOLIS

2015

Juliana Ribeiro Rosa

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ALGAS PARDAS PARA O CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO: RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO,  
MICROBIOLOGIA DO TRATO DIGESTIVO E PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS**

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

Orientador: Walter Quadros Seifert.  
Supervisor: Felipe do Nascimento Vieira.

FLORIANÓPOLIS

2015

**Juliana Ribeiro Rosa**

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ALGAS PARDAS PARA O CAMARÃO  
BRANCO DO PACÍFICO: RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO,  
MICROBIOLOGIA DO TRATO DIGESTIVO E PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado e adequado para obtenção do Título de Engenheiro de Aquicultura, e aprovado em sua forma final pelo curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 01 de Dezembro de 2015.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anita Rademaker Valença  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup>, Dr Walter Quadros Seiffert  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Dr. Ticiane Rover  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Mestre. Carlos Manoel Espírito Santo,  
Universidade Federal de Santa Catarina

## AGRADECIMENTOS

A meu pai Enio e minha mãe Izolete que sempre me incentivaram a estudar mesmo tendo que ficar longe deles, e por me passarem sempre o exemplo de que com trabalho e esforço tudo se conquista. Vocês são os meus maiores exemplos de vida.

Ao meu amado namorado Leonardo, que há quase três anos me transborda de amor e cuidado e me faz ter forças pra seguir em frente, sempre me incentivando e me aconselhando nos momentos que mais preciso. Você é o meu porto seguro e sou muito grata por tudo.

Ao orientador Felipe, pela dedicação e preocupação com todos e por sempre estar de portas abertas para orientar seus alunos. Ao Walter pela orientação e ao Delano, pelos ensinamentos e apoio na construção deste trabalho.

Aos queridos colegas e amigos do LCM, Norha, Fernanda, Tamiris, Marysol, Mariana, Ariane, Joaquim, Moisés e Lincoln, que sempre estão dispostas ajudar e tirar dúvidas e tornaram os dias mais alegres e felizes.

Aos queridos trabalhadores e amigos do LCM que sempre estão dispostos a ajudar quando precisamos, Carlos Miranda, Carlos Manoel, Déia, Davi, Ilsinho. Vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho. Ao Luiz Guilherme, meu estagiário “emprestado” por me ajudar em todas as etapas do experimento e sempre se mostrar disposto a ajudar, até mesmo nas sextas à tarde.

A querida amiga Scheila, pelos períodos fazendo análises estatísticas e me ensinando cada passo com muita paciência e calma. Você foi a primeira pessoa a falar comigo quando entrei no laboratório, e desde então nos tornamos amigas.

A minha querida sogra Lia que sempre me incentiva e me trata com muito carinho e amor, e sempre está de braços abertos para me receber com uma sopinha em sua casa. A minha cunhada Letícia pelas conversas e risadas e por ser uma irmã pra mim.

Aos meus queridos amigos de graduação, Ana Clara, Luíza, Osvaldo, Gabriela, Rodrigo, Iasmim, Woody, Silvano, Marina, Efrayn e Vanessa, por fazerem essa jornada de cinco anos mais feliz e com memórias para toda a vida.

A querida mãe da Aquicultura Jussara, por demonstrar todo o seu amor e carinho diariamente, sempre tentando resolver os problemas com um imenso sorriso no rosto.

A grande amiga de longa data Luana, que me conhece quase melhor que eu mesma, e sempre está disposta a me ouvir e desabafar, e que também é minha conselheira. Sua opinião tem muito valor pra mim. Obrigada pelas risadas, pelas tardes de café e de cerveja, pelas festas e por ser essa amiga tão especial.

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

A Nicoluzzi rações pelo fornecimento de parte dos ingredientes para a fabricação das rações.

Enfim, por todos aqueles que mesmo não citados aqui, passaram em minha vida e deixaram de alguma forma um aprendizado, um carinho, um sorriso. Todos contribuíram para a pessoa que eu me tornei hoje. Meu muito Obrigada!

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Contagem de bactérias totais (Marine) e vibrionáceas (TCBS) do trato digestivo de camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*). .....7
- Figura 2. Contagem total de hemócitos (CTH) em *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*). .....8
- Figura 3. Gráfico da atividade da enzima fenoloxidase em camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*). .....9

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Análise da composição centesimal da ração formulada para camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).....4
- Tabela 2. Média e desvio padrão da atividade do título aglutinante dos camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).....7
- Tabela 3. Sobrevivência em % dos camarões *L. vannamei* suplementados com, diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*, após choque térmico.....9

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>3</b>
2.1	Material biológico .....	3
2.2	Massa seca de <i>S. filipendula</i> e <i>U. pinnatifida</i> .....	3
2.3	Formulação e produção das Dietas .....	3
2.4	Condições experimentais .....	4
2.5	Análise da microbiota do trato intestinal .....	4
2.6	Análise de parâmetros imunológicos .....	5
2.7	Sobrevivência após choque térmico .....	6
2.8	Análises estatísticas .....	6
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DICUSSÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>11</b>



# SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ALGAS PARDAS PARA O CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO: RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO, MICROBIOLOGIA DO TRATO DIGESTIVO E PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS

## RESUMO

Avaliou-se os parâmetros imunológicos, a microbiologia do trato digestivo e a resistência ao choque térmico do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* alimentado com dietas contendo 0,5, 2 e 4% de massa seca de *U. pinnatifida* ou *S. filipendula*. O experimento teve duração de duas semanas, foi conduzido em água clara e foram utilizados sete tanques de 800L, dotados de sistema de aeração ( $O_2 > 5 \text{mg L}^{-1}$ ), aquecimento constante ( $29 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e renovação de água diária (100%). Os tanques foram povoados com 100 camarões cada, com peso médio de 7g. A alimentação foi fornecida quatro vezes ao dia (6% da biomassa inicial de cada tanque), sendo ajustada diariamente pelo consumo. Após 14 dias, a atividade da enzima fenoloxidase do soro dos animais alimentados com dieta suplementada com 4% de massa seca de *U. pinnatifida* apresentou um aumento quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Não foi observada diferença entre os títulos aglutinantes do soro e na contagem total de hemócitos dos camarões nos diferentes tratamentos. Os camarões alimentados com dietas suplementadas com 4 e 0,5% *U. pinnatifida* apresentaram menor concentração de *Vibrio* spp; no trato digestivo. Após o choque térmico, os camarões alimentados com dieta suplementada com 0,5 e 2% de *S. filipendula* apresentaram sobrevivência de 96,67% sendo superior ao controle que apresentou uma sobrevivência de 43,33%. Os camarões alimentados com 0,5, 2 e 4% da massa seca de *U. pinnatifida* apresentaram porcentagens inferiores a sobrevivência do controle, sendo 23,33, 13,33 e 0%. Assim, a suplementação da dieta com 0,5 e 2% de *S. filipendula* melhora a resistência dos camarões ao choque térmico e a suplementação da dieta com 4 e 0,5% de *U. pinnatifida* diminui a concentração de *Vibrio* no trato intestinal dos camarões.

**Palavras-chaves:** *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum filipendula*, *Undaria pinnatifida*, bacteriologia, imunologia e temperatura.

## 1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura marinha é um dos setores mais importantes dentro da aquicultura, com uma produção de 3,3 milhões de toneladas, representando 4,8% da produção total da aquicultura e 56% do camarão consumido no mundo em 2012. No Brasil, a produção atual é de 75 mil toneladas (FAO, 2014).

Contudo, a indústria do cultivo de camarões vem enfrentando dificuldades para sua expansão. Dentre os fatores que mais afetam seu crescimento estão as enfermidades, principalmente as causadas por vírus e bactérias. No cenário nacional pode-se destacar o Vírus da Mancha Branca (WSSV, do inglês *White Spot Syndrome Virus*), que praticamente dizimou a produção catarinense de camarões por volta de 2004 e vem atingindo atualmente vários estados produtores do país como Bahia, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Piauí. (BORBA; NOGUEIRA, 2013; COSTA, 2013; CARVALHO FILHO, 2014).

Em meados de 2013, a produção camaroeira da Ásia e América Central sofreu impactos econômicos significativos devido ao surgimento de uma nova enfermidade, a Síndrome da Mortalidade Precoce (EMS, do inglês *Early Mortality Syndrome*), também conhecida como Doença da Necrose Hepatopancreática Aguda (AHPND, do inglês *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease*). Trata-se de uma cepa de *Vibrio parahaemolyticus* altamente patogênico, que libera toxinas que causam disfunções no hepatopâncreas e, conseqüentemente, a mortalidade de juvenis de *Litopenaeus vannamei*, 20 a 30 dias após o povoamento das pós-larvas nos viveiros (TRAN et al., 2013). Estima-se que esta enfermidade provocou uma queda de 33% ( $\pm 31.000$  toneladas) da produção de camarão no ano de 2013 na Tailândia (JOSHI et al., 2014). A iminência da entrada desta doença no Brasil traz grande temor e apreensão aos produtores, entidades governamentais e de ensino/pesquisa envolvidas no setor da carcinicultura, e levanta a discussão sobre quais políticas ou estratégias que todos os atores desse setor econômico devem implantar, para que os efeitos drásticos de novas enfermidades sejam evitados ou mitigados.

Frente a este cenário, nos últimos anos diversos esforços têm sido realizados para desenvolver produtos ou métodos de tratamento e/ou prevenção de enfermidades virais e bacterianas em camarões marinhos, uma vez que a vacinação não é possível nestes animais. Dentre estes, pode-se destacar o desenvolvimento de cultivos biosseguros, a utilização de prebióticos, probióticos e suplementos alimentares, como componentes de parede celular de fungos, sais orgânicos, micro e macroalgas. Este último tem ganhado destaque, devido a suas propriedades nutricionais, imunostimulantes, antivirais, antibacterianas e de indução do

crescimento para camarões marinhos (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008; SILVA; BARBOSA, 2009; FLEURENCE et al., 2012; IMMANUEL et al., 2012).

As macroalgas dos gêneros *Sargassum* e *Undaria* pertencem ao grupo das algas marrons ou pardas (Phaeophyceae), e destacam-se pelas suas diversas propriedades terapêuticas e abundância em compostos bioativos, em especial as fucoidanas e alginatos (LIU et al., 2012; MOHAMED; HASHIM; RAHMAN, 2012; SINURAT; MARRASKURANTO, 2012).

Em camarões, a utilização dessas macroalgas e seus derivados tem demonstrado um enorme potencial no combate de enfermidades, através do estímulo das defesas imunológicas dos camarões, bem como, da inibição da proliferação/replicação de agentes patogênicos, como bactérias do gênero *Vibrio* e o WSSV (CHOTIGEAT et al., 2004; HUYNH et al., 2011; IMMANUEL et al., 2012; NIU et al., 2015). Além disso, a inclusão de macroalgas dos gêneros *Sargassum* e *Undaria* na dieta, pode ainda incrementar o desempenho zootécnico de camarões marinhos (CRUZ-SUÁREZ et al., 2008; NIU et al., 2015).

Paralelamente, Kandasami et al. (2011; 2013) demonstraram que a utilização de componentes extraídos da alga marrom *Ascophyllum nodosum* incrementou a resistência ao estresse térmico e a longevidade do verme *Caenorhabditis elegans* (modelo biológico para invertebrados). E, ainda, Nair et al. (2012) relataram que estes componentes podem também aumentar significativamente a resistência da planta *Arabidopsis thaliana* ao congelamento. Portanto, a adição de algas marrons na dieta de camarões marinhos poderia contribuir com o aumento da resistência destes animais ao estresse térmico, o que causaria um grande impacto na carcinicultura da região Sul do Brasil, uma vez que a região apresenta alta variação térmica durante o período de cultivo, apresentando períodos de calor intenso alternados com entradas de frentes frias. As variações de temperatura podem causar enorme estresse aos camarões de cultivo, resultando em redução da produtividade e incremento de surtos de enfermidade (KAUTSKY et al., 2000)

O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros imunológicos, a microbiologia do trato digestivo e a resistência ao choque térmico do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* alimentado com dietas contendo 0,5, 2 e 4% de massa seca de *Undaria pinnatifida* e *Sargassum filipendula*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), entre Setembro e Outubro de 2015.

### 2.1 Material biológico

Foram utilizados camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* cultivados no LCM. A linhagem é proveniente de uma linhagem livre de patógenos específicos (SPF, *Specific Pathogen Free*) de notificação obrigatória (WSSV, IMNV, YHV, TSV e IHHNV) pela Organização Mundial de Epizootias (OIE), adquirida da empresa Aquatec Aquacultura Ltda.

### 2.2 Massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*

Espécimes da macroalga *S. filipendula* foram coletados em ambiente natural, praia do Sambaqui em Florianópolis/SC, e a massa seca produzida conforme protocolo padrão da Seção de Macroalgas do LCM. As algas foram limpas, lavadas com água doce, secas em estufa por 35°C por 48h e a 50°C até a estabilizar o peso (parada da evaporação), por fim, moída e peneirada (600 µm). A massa seca da macroalga *U. pinnatifida* foi cedida pela empresa Marinova da Argentina, e preparada da mesma forma descrita acima.

### 2.3 Formulação e produção das Dietas

Foram utilizadas sete dietas, um controle (sem suplementação) e com 0,5, 2, e 4% de biomassa seca de cada macroalga (*S. filipendula* e *U. pinnatifida*). A fabricação das rações e as análises de composição centesimal das mesmas foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI) do Departamento de Aquicultura da UFSC, seguindo procedimentos padrão (AOAC, 1999).

As sete dietas utilizadas neste experimento foram formuladas com o software Optimal Fórmula 2000, com base nas recomendações e exigências nutricionais para o bom desempenho do *L. vannamei* (NRC, 2011; FOX et al., 1995; ZHOU et al., 2012).

Os ingredientes das rações foram previamente triturados e peneirados em malha de 600µm, em seguida foram pesados e misturados em homogeneizador industrial, e por fim peletizadas, sendo o tamanho final do pélete de 2,00mm (expansão de 0,5mm). As dietas foram secas em estufa a 35°C até atingirem a umidade de 10%. Posteriormente, foram armazenadas em sacos plásticos e refrigeradas a 4,0°C até sua utilização. A composição e a análise centesimal das dietas estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Análise da composição centesimal da ração formulada para camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).

Amostra		Cinzas (%)		Extrato Etéreo (%)		Proteína Bruta (%)	
		UM	MS	UM	MS	UM	MS
2341	Controle	25,91	29,04	8,35	9,36	28,3	31,72
2342	0,5% sargaço	27,55	31,59	8,23	9,43	28,78	33,01
2343	2% sargaço	23,73	26,39	8,81	9,8	29,56	32,87
2344	4% sargaço	17,49	19,41	8,25	9,16	28,65	31,8
2345	0,5% undaria	18,89	21,13	8,33	9,32	29,27	32,75
2346	2% undaria	17,89	20,47	8,06	9,22	29,46	33,71
2347	4% undaria	16,88	18,89	8,34	9,33	30,66	34,31

<sup>2</sup>Matéria Seca: resultado apresentado com base na matéria seca. \*Segundo Association of Analytical Chemist (AOAC), 1999.

## 2.4 Condições experimentais

Foram utilizados sete tanques de 800L de capacidade útil, dotados de sistema de aeração e aquecimento de água, utilizando aquecedores de titânio controlados por termostatos. Cada tanque foi povoado com 100 camarões (peso médio de  $5,89 \pm 0,13$ g). Ao longo das duas semanas de experimento os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia (8:30, 12:00, 14:30 e 17:00h) com auxílio de 2 bandejas de alimentação por tanque (área = 0,03m<sup>2</sup> cada) fabricadas com material de polietileno com malha de 1 mm<sup>2</sup> e arco de fibra de vidro para adequação do consumo. A ração foi fornecida inicialmente a uma quantidade equivalente a 6% da biomassa, sendo ajustada semanalmente de acordo com as biometrias e consumo diário.

A renovação de água foi feita duas vezes ao dia, até que todo o conteúdo de matéria orgânica (sobras de alimento, fezes e mudas) fosse retirado da água, em torno de 100% do volume total de água. Os parâmetros de qualidade da água, concentração de oxigênio dissolvido e temperatura foram avaliados duas vezes ao dia e o pH uma vez ao dia. Amônia total e nitrito foram avaliados uma vez na semana. Todos os parâmetros avaliados permaneceram nas faixas ideais para o camarão *L. vannamei*.

## 2.5 Análise da microbiota do trato intestinal

Ao final do experimento foram amostrados tratos digestivos de três pools de três camarões por tratamento. Os tratos intestinais foram homogeneizados em um gral, diluídos serialmente (1/10) em solução salina 3% (SSE) e semeados em meio de cultura Agar Marine e TCBS para contagem de bactérias heterotróficas totais e vibrionáceas. Os intestinos semeados nas placas de Petri foram incubados em estufa a 30°C e após 24 h foram feitas contagens totais de unidades formadoras de colônia (UFC).

## 2.6 Análise de parâmetros imunológicos

Foram amostrados nove camarões por tratamento (três pools de três camarões) ao final do experimento. A hemolinfa foi coletada do *sinus* ventral dos camarões (cerca de 300µL por animal), utilizando seringas estéreis de 1mL resfriadas a 4°C.

A partir da hemolinfa coletada, 30µL foram fixados em solução anticoagulante Alsever modificado (MAS) (citrato de sódio 27 mM, EDTA 9 mM, glicose 115mM, NaCl 336 mM, pH 7,2) com 4% de formaldeído para contagem total de hemócitos (THC, do inglês *Total Hemocyte Count*). O restante foi coagulado a 4°C e centrifugado repetidamente a 6.000  $\times$  g por 10 minutos para obtenção do soro que foi alíquotado e estocado a -20 °C.

O número de hemócitos por mililitro de hemolinfa foi estimado por contagem direta em câmara de Neubauer. A concentração de proteína na hemolinfa foi estimada pelo método de Bradford (1976), utilizando soro-albumina bovina como padrão.

A atividade da enzima fenoloxidase (PO) foi determinada por espectrofotometria (490 nm) pela formação do pigmento DOPA-cromo, após a oxidação do substrato L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) conforme metodologia descrita por Soderhall e Hall (1984). As amostras do soro foram diluídas (1:9) em TBS-1 (1 mM Tris, 336 mM NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.6). Desta solução, 50 µL foram incubados em um volume igual de tripsina (Sigma, 1 mg/mL), indutor enzimático em microplacas de 96 poços (fundo chato) por 5 min a 25 °C. Após incubação, foi adicionado um volume de 50 µL de L-DOPA (Sigma, 3 mg/mL) em cada poço. Nos controles, o soro ou a tripsina foram substituídos por TBS-1. A formação do DOPA-cromo foi monitorada em Leitora de Microplaca (490 nm) após 5 e 10. A atividade da PO foi expressa em unidades de atividade da enzima (U) através da variação de 0,001 na absorbância/minuto/miligrama de proteína. Os ensaios foram realizados em quadruplicata.

Para a atividade aglutinante do soro, foi utilizado suspensão de eritrócitos de cachorro a 2%. Amostras de 50µL de soro foram diluídas serialmente em TBS-2 (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.4) em placas de 96 poços com fundo côncavo. A cada amostra de soro foram adicionados 50 µL da suspensão de eritrócitos e incubadas durante 2h a 25°C em câmara úmida. O controle foi feito substituindo o soro por TBS-2. O valor aglutinante foi definido como o recíproco da última diluição que possua a capacidade de aglutinar os eritrócitos (segundo Maggioni et al, 2004).

## 2.7 Sobrevivência após choque térmico

Após o período de duas semanas 30 camarões por tratamento foram transportados em bombonas de 20L, contendo água a 28°C, e transferidos simultaneamente para aquários de 60L contendo água salgada à 12,5 - 13°C e mantidos por uma hora. A temperatura da água dos aquários foi monitorada de 15 em 15min, caso estivesse acima de 13°C era colocado mais gelo e se estivesse a uma temperatura inferior a mesma o gelo era retirado. Posteriormente os animais foram transferidos simultaneamente para bombonas contendo água a 28°C e por fim transportados para seus respectivos tanques de cultivo a 29°C. A sobrevivência foi monitorada durante 24 horas após o choque térmico.

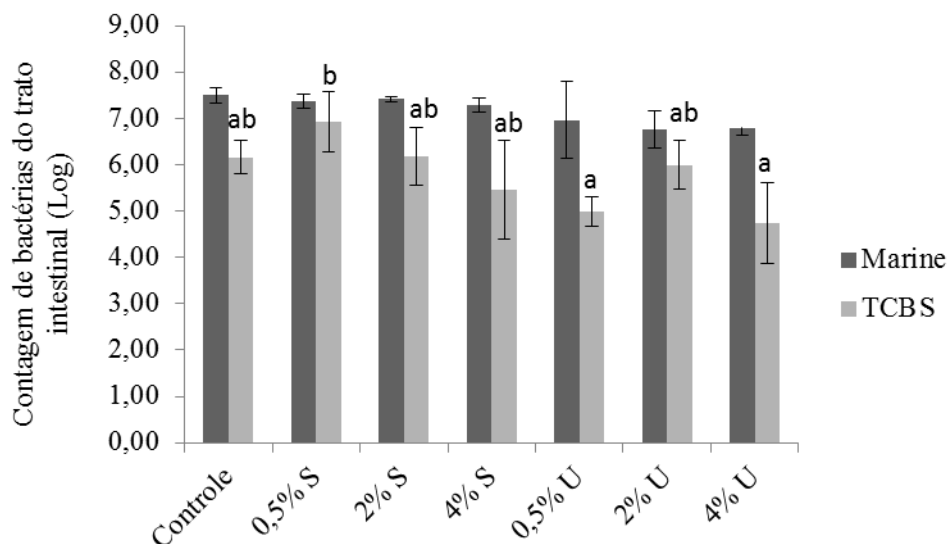
## 2.8 Análises estatísticas

Os dados de contagem microbiológica do trato intestinal e das análises imunológicas dos camarões foram transformados em Log, e testados quanto à homocedasticidade de variância pelo teste de Bartlett, ANOVA de uma via e as médias separadas pelo teste de Tukey. Caso necessário à realização da separação de médias, esta foi realizada pelo teste de Student Newman Keuls (SNK) Todos os testes foram realizados ao nível de significância de 0,05.

## 3 RESULTADOS E DICUSSÃO

Para a concentração de bactérias heterotróficas totais não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados indicando que as macroalgas *Sargassum* sp. e *U. pinnatifida* não alteram a concentração de bactérias heterotróficas totais. Entretanto, a contagem de vibriônicas (TCBS) foi influenciada pelos tratamentos. Onde os grupos suplementados com a dieta 4,0 e 0,5% *U. pinnatifida* apresentaram menor concentração de vibrios no trato intestinal dos animais em relação ao grupo suplementado com 0,5% de *S. filipendula* (figura 1).

**Figura 1.** Contagem de bactérias totais (Marine) e vibrionáceas (TCBS) do trato digestivo de camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).



Ensaio realizado no setor de microbiologia do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina mostraram que extratos metabólicos de *U. pinnatifida* e *S. filipendula*, possuem atividade antimicrobiana contra diferentes cepas de vibrionáceas marinhas. Sendo que o extrato de *U. pinnatifida* apresentou maior eficiência antimicrobiana quando comparada ao extrato da alga *S. filipendula* (CORONEL, 2015, comunicação pessoal). Estes resultados corroboram os encontrados *in vitro*.

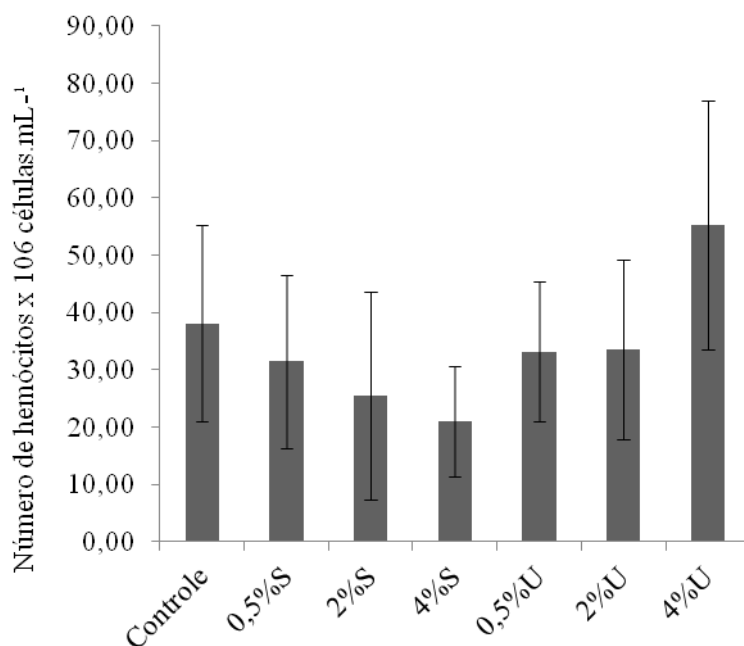
Em relação aos parâmetros imunológicos, não foi observada diferença entre os títulos aglutinantes dos diferentes tratamentos (Tabela 2), bem como para a contagem de hemócitos totais, porém pôde-se observar uma tendência de decréscimo da THC com a adição de *S. filipendula* e de aumento no tratamento com maior suplementação de *U. pinnatifida* (Figura 2).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão da atividade do título aglutinante dos camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).

Tratamentos	Médias e desv. Padrão
Controle	2048 ± 1182,413
0,5% S	4096 ± 1182,413
2% S	2048 ± 591,207
4% S	2048 ± 0,000
0,5% U	4096 ± 1182,413
2% U	2048 ± 1182,413
4% U	4096 ± 1182,413



**Figura 2.** Contagem total de hemócitos (CTH) em *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).

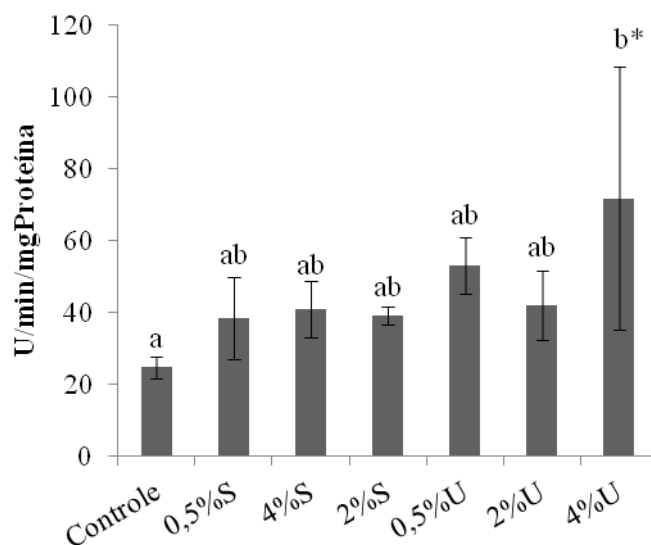


Por outro lado, na análise da atividade da enzima fenoloxidase, o tratamento suplementado com 4% de massa seca de *U. pinnatifida* apresentou um aumento significativo quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si, no entanto pode-se observar que todos os tratamentos suplementados com massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida* demonstraram um leve aumento quando comparados com o grupo controle.

Similarmente, Niu et al. (2015) relataram que a suplementação de *U. pinnatifida* na dieta de juvenis de *Penaeus monodon* aumentou sua imunidade, através do incremento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e da fenoloxidase.. Estudos feitos por Traifalgar et al. (2010) mostraram que a suplementação na dieta de juvenis de *Marsupenaeus japonicus* com fucoïdãna da *U. pinnatifida* durante oito semanas, influenciou significativamente as respostas imunológicas do camarão.

Por outro lado, Immanuel et al. (2012) mostraram que a suplementação com fucoïdãna da alga marrom *Sargassum wightii* na dieta de *P. monodon*, apresentou uma melhora na imunidade inata e na resistência do camarão à infecção com WSSV. No presente trabalho a suplementação com sargaço apresentou pouco ou nenhum efeito sobre os parâmetros imunes avaliados.

**Figura 3.** Gráfico da atividade da enzima fenoloxidase em camarões *L. vannamei* suplementados com diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).



\*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo Tukey.

Após o choque térmico os camarões alimentados com 0,5 e 2% de massa seca de *S. filipendula* apresentaram sobrevivência de 96,67% sendo superior ao controle que apresentou uma sobrevivência de 43,33%. Já os alimentados com 0,5, 2 e 4% da massa seca de *U. pinnatifida* apresentaram porcentagens inferiores a sobrevivência do controle, sendo 23,33, 13,33 e 0% respectivamente, conforme a tabela a baixo.

**Tabela 3.** Sobrevivência em % dos camarões *L. vannamei* suplementados com, diferentes teores de massa seca de *S. filipendula* e *U. pinnatifida*, após choque térmico. (Controle, 0,5, 2 e 4% *S. filipendula* e 0,5, 2 e 4% *U. pinnatifida*).

Tratamentos	Sobrevivência (%)
Controle	43,33
0,5 % S	96,67
2,0 % S	96,67
4,0 % S	26,67
0,5 % U	23,33
2,0 % U	13,00
4,0 % U	0

Diversos mecanismos estão associados à resistência ao frio, como o acúmulo de alguns aminoácidos (tais como prolina, arginina e taurina), lipídeos, como o colesterol e os ácidos

graxos insaturados, polioils, e os carboidratos, principalmente a trealose e a frutose. Além disso, o aumento da fluidez da membrana também está associado a resistência ao frio.

Adicionalmente, Nair et al. (2012) reportaram que componente lipofílico (LPC, do inglês *Lipophilic componente*) do extrato da alga parda *Ascophyllum nodosum* proporcionou mudanças nas vias metabólicas da planta *Arabidopsis thaliana* e incrementou significativamente ao frio e ao congelamento. Neste sentido, suplementação de 0,5 e 2% de *S. filipendula* pode ter estimulado e/ou atuado por meio destes mecanismos para contribuir importantemente na resistência dos camarões ao choque térmico. Entretanto, a maior suplementação da referida alga (4%) pode ter causado efeitos negativos aos mecanismos fisiológicos e o metabolismo dos animais, de modo que reduziu a sobrevivência dos mesmos após o choque térmico. Cabe ressaltar, que ao longo das duas semanas de alimentação os animais apresentaram um baixo consumo da ração com 4% de *S. filipendula*, possivelmente pela baixa palatabilidade da ração com grande teor de *filipendula* o que pode ter contribuído com o resultado insatisfatório de sobrevivência ao choque térmico.

Interessantemente, as concentrações crescentes da macroalga *U. pinnatifida* reduziram expressivamente a sobrevivência dos camarões ao choque térmico. Esta macroalga, por outro lado, pode possuir compostos que causam efeitos danosos aos camarões, provocando um estado de estresse fisiológico nestes animais. Desta forma, se faz necessários estudos mais aprofundados para compreender os mecanismos metabólicos e fisiológicos responsáveis pelos resultados de sobrevivência ao choque térmico obtidos no presente estudo.

#### 4 CONCLUSÃO

- A suplementação da dieta com 0,5 e 2% de *S. filipendula* aumenta a resistência dos camarões ao choque térmico.
- A suplementação da dieta com 4 e 0,5% de *U. pinnatifida* diminui a concentração de *Vibrio* no trato intestinal dos camarões.
- A suplementação da dieta com 4% de *U. pinnatifida* aumenta a imunidade dos camarões.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORBA, M.; NOGUEIRA, J. Carcinicultura Brasileira: o perfil do setor em cada unidade federativa produtora em 2011. **Revista ABCC**, Natal, n. 2, p.26-29, junho, 2013.

CARVALHO FILHO, J. Camanor se reinventa e lucra mesmo com o vírus da mancha branca. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 143, p. 45-51, maio. 2014.

CHOTIGEAT, W. et al. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. **Aquaculture**, v. 30, p. 233-237, 2004.

COSTA, S. W. **Mancha Branca em Santa Catarina: Passados seis anos do seu surgimento doença continua impactando a carcinicultura**. Panorama da Aquicultura, 2013. Disponível em: <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2054>. Acesso em: 22 nov. 2015.

CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. (Org.). **Avances en Nutrición Acuicola IX, IX Simposio Internacional de Nutrición Acuicola**. Monterrey: UANL, 2008. P. 304-33.

FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Fisheries and Aquaculture Department**. Roma SOFIA, 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>. Acesso em: 12 nov. de 2015.

FLEURENCE, J. et al. What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture?. **Trends in Food Science & Technology**, v. 27, p. 57-61, 2012.

FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; LI-CHAN, E. Dietary requirements for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. **Aquaculture**, v. 131, p. 279-290, 1995.

HUYNH, T.; et al. White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. *chinense* powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Fish Shellfish Immunol**, v. 31, p. 286-293, 2011.

IMMANUEL, Grasian et al. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). **Fish & Shellfish Immunology**, [s.l.], v. 32, n. 4, p.551-564, abr. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.01.003. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S1050464812000046?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 23 nov. 2015.

JOSHI, J. et al. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquaculture**. v. 428-429, p. 297-302, 2014.

KANDASAMY, S. et al. Tasco<sup>®</sup>, a product of *Ascophyllum nodosum*, imparts thermal stress tolerance in *Caenorhabditis elegans*. **Marine Drugs**. v. 9, p. 2256-2282, 2011.

KANDASAMY, S. et al. A fucose containing polymer-rich fraction from the brown alga *Ascophyllum nodosum* mediates lifespan increase and thermal-tolerance in *Caenorhabditis elegans*, by differential effects on gene and protein expression. **Food and Function**. v. 5, n. 2, p. 275-284, 2014.

LIU, L. et al. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: A phytochemical and pharmacological review. **Journal of Ethnopharmacology**. v.142, p. 591-619, 2012.

MAGGIONI, D.G., Andreatta, E.R., Hermes, E.M., Barracco, M.A., 2004. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immune stimulation. **Aquaculture**. 241 501 – 515.

MOHAMED, S.; HASHIM, S. N.; RAHMAN, H.A. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. **Trends in Food Science & Technology**.v. 23, p 83-96, 2012.

NAIR, P. et al. Transcriptional and metabolomic analysis of *Ascophyllum nodosum* mediated freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*.**BMC Genomics**. v. 13, n. 643, p. 1-23, 2012.

NIU, Jin et al. Effects of different levels of dietary wakame (*Undaria pinnatifida*) on growth, immunity and intestinal structure of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, [s.l.], v. 435, p.78-85, jan. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.08.013. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0044848614004050?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

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

SILVA, R. L.; BARBOSA, J. M. Seaweed meal as a protein source for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **J. Appl. Phycol.**, v. 21, p. 193-107, 2009.

SINURAT, E.; MARRASKURANTO, E. Fucoidan from brown seaweed and its bioactivity. **Squalen**. v. 7, n. 3, p. 131-138, 2012.

TRAI FALGAR, Rex Ferdinand et al. Influence of Dietary Fucoidan Supplementation on Growth and Immunological Response of Juvenile *Marsupenaeus japonicus*. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [s.l.], v. 41, p.235-244, maio 2010. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2010.00363.x. Disponível em: <<http://api.wiley.com/onlinelibrary/tdm/v1/articles/10.1111/j.1749-7345.2010.00363.x>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

TRAI FALGAR, Rex Ferdinand et al. Evaluation of Dietary Fucoidan Supplementation Effects on Growth Performance and Vibriosis Resistance of *Penaeus monodon* Postlarvae. **Aquaculture Science**, [s.l.], v. 57, p.167-174, nov. 2009. Disponível em: <<http://doi.org/10.11233/aquaculturesci.57.167>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

TRAN, L. et al. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases Aquatic Organisms**, v. 105, p 45-55, 2013.

ZHOU, Q. et al. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, n. 364-365, p. 252-258, 2012.