

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP -**  
**CAUNESP**

**Aquicultura Integrada no Horizon 2020:  
Fisiologia de *Litopenaeus vannamei* e  
*Crassostrea gasar* cultivados em Sistema  
Multitrófico Orgânico e a perspectiva da  
utilização de alga fresca (*Chaetomorpha  
clavata*) na alimentação do camarão**

Emanuelle Pereira Borges

Jaboticabal, São Paulo  
2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP -**  
**CAUNESP**

**Aquicultura Integrada no Horizon 2020:  
Fisiologia de *Litopenaeus vannamei* e  
*Crassostrea gasar* cultivados em Sistema  
Multitrófico Orgânico e a perspectiva da  
utilização de alga fresca (*Chaetomorpha  
clavata*) na alimentação do camarão**

Emanuelle Pereira Borges

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Alessandra da Silva Augusto

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Aquicultura do Centro de  
Aquicultura da UNESP para  
obtenção do título de Mestre

Jaboticabal, São Paulo  
2022

B732a      Borges, Emanuelle Pereira

Aquicultura Integrada no Horizon 2020: Fisiologia de Litopenaeus vannamei e Crassostrea gasar cultivados em Sistema Multitrófico Orgânico e a perspectiva da utilização de alga fresca (Chaetomorpha clavata) na alimentação do camarão / Emanuelle Pereira Borges. -- Jaboticabal, 2022

52 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Alessandra da Silva Augusto

1. Fisiologia. 2. Crustáceo. 3. Alga verde. 4. Ostras. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Aquicultura Integrada no Horizon 2020: Fisiologia de *Litopenaeus vannamei* e *Crassostrea gasar* cultivados em Sistema Multitrófico Orgânico e a perspectiva da utilização de alga fresca (*Chaetomorpha clavata*) na alimentação do camarão

**AUTORA: EMANUELLE PEREIRA BORGES**

**ORIENTADORA: ALESSANDRA DA SILVA AUGUSTO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ALESSANDRA DA SILVA AUGUSTO (Participação Virtual)  
Instituto de Biociências / Campus do Litoral Paulista UNESP, São Vicente-SP



Prof. Dr. EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER (Participação Virtual)  
Departamento Zootecnia / Universidade Federal do Paraná, UFPR



Prof. Dr. LEVI POMPERMAYER MACHADO (Participação Virtual)  
Engenharia Agrônômica e Pesca / Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - UNESP – Registro

Jaboticabal, 17 de novembro de 2022

## Sumário

|                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| AGRADECIMENTOS .....                                                                                                                                                                                                                  | 1  |
| Apoio Financeiro .....                                                                                                                                                                                                                | 2  |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                                                                           | 3  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                                                        | 4  |
| 1. INTRODUÇÃO GERAL.....                                                                                                                                                                                                              | 5  |
| 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                                                                                   | 7  |
| Capítulo 1 - Efeitos da alimentação com alga fresca ( <i>Chaetomorpha clavata</i> ) na fisiologia do camarão-branco-do-pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ): Perspectivas para seu uso em Sistemas Multitróficos Integrados ..... | 9  |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                                                                           | 9  |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                                                                                    | 11 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                                                                                                                                                                          | 14 |
| 2.1 Coleta dos Animais e Acondicionamento ao Laboratório .....                                                                                                                                                                        | 14 |
| 2.2 Obtenção e Manutenção da alga <i>C. clavata</i> no Laboratório .....                                                                                                                                                              | 14 |
| 2.3 Avaliação do Balanço energético .....                                                                                                                                                                                             | 14 |
| 2.3.1 Taxa de Ingestão (C) e Egestão (F).....                                                                                                                                                                                         | 15 |
| 2.3.2 Crescimento (P) e Exúvia (E).....                                                                                                                                                                                               | 15 |
| 2.3.3. Metabolismo (R) e Excreção (U) .....                                                                                                                                                                                           | 16 |
| 2.3.4 Balanço Energético .....                                                                                                                                                                                                        | 17 |
| 2.4 Avaliação do Tipo de Substrato Energético Oxidado .....                                                                                                                                                                           | 17 |
| 2.5 Avaliação do Índice Hepatossomático (IHS) .....                                                                                                                                                                                   | 17 |
| 2.6 Análise Estatística.....                                                                                                                                                                                                          | 17 |
| 3. RESULTADOS .....                                                                                                                                                                                                                   | 18 |
| 3.1 Mortalidade .....                                                                                                                                                                                                                 | 18 |
| 3.2 Conteúdo energético da ração, alga <i>C. clavata</i> , corpo, fezes e exúvia.....                                                                                                                                                 | 18 |
| 3.3 Ingestão, egestão, crescimento, metabolismo, excreção de amônia, razão atômica O:N e índice hepatossomático.....                                                                                                                  | 18 |
| 3.4 Balanço energético.....                                                                                                                                                                                                           | 20 |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                                                                                     | 21 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                                                                                   | 25 |
| Capítulo 2 - Aquicultura Integrada no Horizon 2020: Fisiologia de <i>Litopenaeus vannamei</i> e <i>Crassostrea gasar</i> cultivados em Sistema Multitrófico Orgânico .....                                                            | 34 |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                                                                           | 34 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                                                                                    | 35 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                                                                                                                                                                          | 37 |
| 2.1 Caracterização da Fazenda Orgânica Primar e dos Viveiros Experimentais                                                                                                                                                            | 37 |

|     |                                                                                                                |    |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2 | Delineamento Experimental .....                                                                                | 38 |
| 2.3 | Crescimento .....                                                                                              | 39 |
| 2.4 | Avaliação do Metabolismo, Amônia e Fósforo .....                                                               | 39 |
| 2.5 | Avaliação do Tipo de Substrato Energético Oxidado .....                                                        | 40 |
| 2.6 | Análise Estatística.....                                                                                       | 40 |
| 3.  | RESULTADOS .....                                                                                               | 40 |
| 3.1 | Crescimento, Consumo de Oxigênio e Excreções de Amônia e Fósforo de <i>L. vannamei</i> e <i>C. gasar</i> ..... | 40 |
| 4.  | DISCUSSÃO.....                                                                                                 | 43 |
| 5.  | CONCLUSÃO .....                                                                                                | 46 |
| 6.  | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                               | 46 |

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Augusto, por todos os ensinamentos, conselhos e assistência durante toda a elaboração deste trabalho.

À CAPES (Processo nº88887.500077/2020-00).

Ao CAUNESP e ao Diretor Diogo Teruo Hashimoto.

À UNESP IB/CLP - Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista, que forneceu toda a infraestrutura necessária para a elaboração deste trabalho, assim como o Laboratório de Fisiologia de Animais Aquático e Aquicultura Sustentável.

Ao projeto Horizon 2020, ao professor coordenador do projeto Wagner Valenti, e professora Patrícia Valenti.

À fazenda PRIMAR Orgânica e Márcia Kafensztok. Colegas: Carolina, Natiele, Macxiely e demais funcionários.

Ao professor Levi Pompermayer Machado e ao Laboratório de Algas e Plantas Aquáticas da UNESP – Registro por ceder as algas utilizadas neste trabalho.

Ao professor Rodrigo Egydio, que inicialmente me aceitou como sua aluna.

Ao setor de Carcinicultura e Michelle.

À minha família, mãe Fernanda, pai Osmar, aos meus irmãos, Paulo e Rafa, sobrinha Mayra, avós, Irma e Cenira, ao meu avô Durval, a minha tia Silvana, aos demais familiares, por todo o amor, confiança e amparo. Aos meus gatinhos e cachorrinhos.

Aos meus amigos Matheus, Maira, Andressa, Juliana, Ana Carolina, Hellen, Natália, Dalton, Lígia, Júlia e Cecília, por estarem sempre ao meu lado, tornando meus dias mais felizes, o meu amor por cada um de vocês é imensurável.

Aos colegas de laboratório, Andressa, Juliana, Ana Carolina e Hellen, por toda ajuda e suporte durante toda a elaboração deste trabalho.

## **Apoio Financeiro**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



## RESUMO

O presente trabalho é dividido em dois capítulos. No primeiro são apresentados os efeitos da alimentação com alga fresca (*Chaetomorpha clavata*) na fisiologia e balanço energético do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei*. No segundo capítulo buscou-se comparar a fisiologia de *L. vannamei* cultivado nos sistemas de Monocultivo ou Multitrófico Integrado com algas e ostras na Fazenda PRIMAR Orgânica, também é apresentado os dados das ostras *Crassostrea gasar*, espécie que foi cultivada com os camarões no Sistema Multitrófico Integrado. O objetivo foi entendermos o funcionamento os animais em ambos os tipos de cultivos, bem como seus desdobramentos para o bem-estar animal. Nossos resultados mostraram que o camarão *L. vannamei* se alimenta da alga *C. clavata* e a distribuição de energia para o metabolismo, crescimento, exúvia, excreção de amônia e fezes não foi alterada utilizando 50% de substituição da ração por algas frescas comparada ao controle. Entretanto, vimos que o crescimento e consumo de oxigênio nos camarões cultivados em Sistema Multitrófico Integrado foi menor comparado ao Monocultivo, no entanto, outros parâmetros fisiológicos não foram alterados, e num geral, o bem-estar dos animais não pareceu ter sido comprometido. Sendo assim, a implementação do Sistema Multitrófico Integrado parece ser promissora, por agregar maior sustentabilidade ambiental, econômica e social, e a alga *C. clavata* pode ser uma opção adequada para o uso em Sistema Multitrófico Integrado.

Palavras-chave: Fisiologia, Crustáceo, Alga verde, Ostras

## ABSTRACT

This work is divided into two chapters. In the first one, the effects of feeding with fresh seaweed (*Chaetomorpha clavata*) on the physiology and energy budget of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* are presented. In the second chapter, we compare the physiology of *L. vannamei* cultivated in Monoculture or Integrated Multi-trophic systems with algae and oysters at the PRIMAR Organic Farm. The objective was to understand the functioning of animals in both types of culture, as well as their implications for animal welfare. Our results showed that the shrimp *L. vannamei* feeds on the algae *C. clavata* and the energy distribution for metabolism, growth, exuviae, ammonia excretion and feces was not altered using 50% replacement of the diet with fresh algae compared to the control. However, we saw that growth and oxygen consumption in shrimps cultivated in the Integrated Multi-trophic System was lower compared to Monoculture, however, other physiological parameters were not altered, and in general, the welfare of the animals did not seem to have been compromised. Therefore, the implementation of the Integrated Multitrophic System seems to be promising, as it adds greater environmental, economic, and social sustainability, and the algae *C. clavata* may be a suitable option for use in the Integrated Multi-trophic System.

Keywords: Physiology, Crustacean, Green algae, Oysters

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A presente dissertação apresentada para a obtenção do título de mestre em Aquicultura integra o projeto Horizon 2020/Aquavita, programa de pesquisa e inovação da União Européia. Entre os objetivos do projeto, está a avaliação da fisiologia de animais em sistemas multitróficos, utilizando dados provenientes de animais cultivados em viveiros de carcinicultura. A fazenda Primar Orgânica, localizada em Tibau do Sul – RN, Brasil, é parceira do projeto H2020 e cultiva camarões, ostras, siris e peixes. A fazenda possui um sistema de cultivo orgânico, sem a utilização de produtos químicos, pesticidas, transgênicos, antibióticos e hormônios na produção. Na Fazenda Primar Orgânica os animais se alimentam exclusivamente a partir de recursos naturais encontrados no ambiente, como pequenos invertebrados, detritos e materiais vegetais, sem a adição de ração comercial no sistema. Além disso, durante os cultivos não são utilizados aeradores para oxigenação das águas. A renovação parcial e oxigenação se dá naturalmente pelo fluxo da maré, controlado manualmente nas comportas dos tanques por funcionários da fazenda (Figura 1). Em cultivos extensivos, a água é repostada principalmente para compensar a perda por evaporação e infiltração, e a aeração é utilizada quando os níveis de oxigênio dissolvido estão abaixo do recomendado para a sobrevivência e bem-estar dos organismos cultivados (Conte, 2004).

Atualmente, existem diversas formas de cultivo. O monocultivo é definido pelo cultivo de apenas uma espécie, enquanto o policultivo definido pela criação de mais de uma espécie, sem que haja competição, compartilhando o mesmo ambiente (Glossário FAO, 2020), no entanto, a mitigação nesse tipo de cultivo não é abordada (Biswas et al., 2020). Já o Sistema Multitrófico Integrado (IMTA) combina organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos, com funções complementares (Shi et al., 2013; Johnson et al., 2019), por exemplo, espécies que são arraçadas (peixe ou camarão) são cultivadas com espécies extrativas orgânicas e inorgânicas, como ostras e algas marinhas (Granada et al., 2016; Buck et al., 2018 Johnson et al., 2019; Nardelli et al., 2019).

Estudos têm demonstrado que a inclusão de macroalgas em sistemas multitróficos possuem inúmeras funcionalidades, sendo capazes de melhorar tanto a fisiologia e bem-estar dos organismos, como também a sustentabilidade ambiental do

sistema. Macroalgas podem ser usadas como suplemento alimentar incorporado às rações (Ahn et al., 2018; Elizondo-González et al., 2018; Nyonje et al., 2019; Sudharaka et al., 2021) ou fornecidas de forma fresca (Pallaoro et al., 2016; Cruz-Suárez et al., 2010). De forma geral, elas podem aumentar a imunidade (Brito et al., 2014; Ahn et al., 2018), o crescimento (Brito et al., 2014; Tsutsui et al., 2015) e o bem-estar dos animais cultivados. Jones & Preston (2011) utilizaram efluente de *Penaeus japonicus* para analisar a capacidade de biorremediação da ostra *Saccostrea commercialis* e alga *Gracilaria edulis* em um experimento com sistema de recirculação de água por 72 horas, os resultados mostraram que a utilização desses dois organismos diminuiu a quantidade de matéria orgânica e inorgânica do efluente.

O presente trabalho é dividido em dois capítulos. No primeiro são apresentados os efeitos da alimentação com alga fresca (*Chaetomorpha clavata*) na fisiologia e balanço energético do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei*. No segundo capítulo buscou-se comparar a fisiologia de *L. vannamei* cultivado nos sistemas de Monocultivo ou Multitrófico Integrado com algas e ostras na Fazenda PRIMAR Orgânica. Nesse capítulo também mostramos os dados fisiológicos das ostras *Crassostrea gasar*, a espécie que foi cultivada com os camarões no Sistema Multitrófico Integrado. O objetivo foi entendermos o funcionamento dos animais em ambos os tipos de cultivos, bem como seus desdobramentos para o bem-estar animal.



Figura 1. Vista aérea da Fazenda PRIMAR Orgânica.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anh, N. T. N., Hai, T. N., & Hien, T. T. T. (2018). Effects of partial replacement of fishmeal protein with green seaweed (*Cladophora spp.*) protein in practical diets for the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae. *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2649-2658.

Biswas, G., Kumar, P., Ghoshal, T. K., Kailasam, M., De, D., Bera, A., ... & Vijayan, K. K. (2020). Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) outperforms conventional polyculture with respect to environmental remediation, productivity and economic return in brackishwater ponds. *Aquaculture*, 516, 734626.

Brito, R., Chimal, M. E., Gaxiola, G., & Rosas, C. (2000). Growth, metabolic rate, and digestive enzyme activity in the white shrimp *Litopenaeus setiferus* early postlarvae fed different diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 255(1), 21-36.).

Conte, F. S. (2004). Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3-4), 205-223.

Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., & Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/*Ulva* co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301(1-4), 64-68.

Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Magallón-Servín, P., & Peña-Rodríguez, A. (2018). Use of seaweed *Ulva lactuca* for water bioremediation and as feed additive for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *PeerJ*, 6, e4459.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.

Johnson, B., Nazar, A. K. A., Jayakumar, R., Tamilmani, G., Sakthivel, M., Ramesh Kumar, P., ... & Sankar, M. (2019). Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA): A technology for uplifting rural economy and bio-mitigation for environmental sustainability. *Aquaculture Spectrum*, 2(5), 9-18.

Jones, A. B., Dennison, W. C., & Preston, N. P. (2001). Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. *Aquaculture*, 193(1-2), 155-178.

Nardelli, A. E., Chiozzini, V. G., Braga, E. S., & Chow, F. (2019). Integrated

multi-trophic farming system between the green seaweed *Ulva lactuca*, mussel, and fish: a production and bioremediation solution. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 847-856.

Nyonje, B., Mutia, G., Muthumbi, A., & Arori, M. (2019). Potential of seaweeds (*Hypnea cornuta* and *Hypnea musciformis*) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings diets.

Pallaoro, M. F., do Nascimento Vieira, F., & Hayashi, L. (2016). *Ulva lactuca* (*Chlorophyta Ulvales*) as co-feed for Pacific white shrimp. *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3659-3665.

Shi, H., Zheng, W., Zhang, X., Zhu, M., & Ding, D. (2013). Ecological– economic assessment of monoculture and integrated multi-trophic aquaculture in Sanggou Bay of China. *Aquaculture*, 410, 172-178.

Sudharaka, K. G. A., Munasinghe, D. H. N., & Guruge, W. A. H. P. (2021). Effect of *Ulva lactuca* and *Sargassum cinereum* supplemented diets on growth performance of Koi carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) fry in laboratory conditions. *Tropical Agricultural Research*, 32(3), 358-367.

Tsutsui, I., Miyoshi, T., Aue-umneoy, D., Songphatkaew, J., Meeanan, C., Klomkling, S., ... & Hamano, K. (2015a). High tolerance of *Chaetomorpha* sp. to salinity and water temperature enables survival and growth in stagnant waters of central Thailand. *International Aquatic Research*, 7(1), 47-62.

**Efeitos da alimentação com alga fresca (*Chaetomorpha clavata*) na fisiologia do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*): Perspectivas para seu uso em Sistemas Multitróficos Integrados**

**RESUMO**

Na carcinicultura, a ração comercial pode gerar uma alta carga de nutrientes nos corpos d'água, além de ser responsável pela maior parcela dos custos da produção. Alternativas que busquem a redução do seu uso podem diminuir gastos e trazer benefícios para o meio ambiente. Uma estratégia seria usar algas em Sistemas Integrados Multitróficos (IMTA), tipo de cultivo definido como a combinação de organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos, com funções complementares. Se os camarões se alimentarem das algas cultivadas sem que a sua biologia seja afetada, estas poderiam trazer grandes benefícios à carcinicultura. Nesse sentido, nosso objetivo foi avaliar se o camarão *marinho L. vannamei* se alimenta da macroalga *C. clavata* fresca e se a substituição parcial (50%) desta alga na alimentação influencia a sua fisiologia. Foram avaliadas as taxas de mortalidade, crescimento, ingestão, defecação, metabolismo, excreção nitrogenada, balanço de energia, índice hepatossomático e substrato energético oxidado nos camarões alimentados com ração comercial (controle) e ração e algas (50% cada) durante 25 dias. Nossos resultados mostraram pela primeira vez que o camarão marinho *L. vannamei* se alimenta da alga *C. clavata*. Observamos que os animais alimentados do grupo controle apresentaram 12% de mortalidade, enquanto nos animais alimentados com a alga a mortalidade foi de 25%. A taxa de defecação em relação a ingestão (F/C) no grupo com inclusão de algas na alimentação foi menor, sugerindo uma melhor absorção intestinal. O balanço de energia mostrou que a energia canalizada para o metabolismo, crescimento, exúvia excreção nitrogenada e egestão não foi diferente entre os tratamentos. A energia canalizada para metabolismo e fezes foram responsáveis pelas maiores parcelas do gasto energético (~25 a 36%). O crescimento no grupo controle foi cerca de 19% e nos animais alimentados com alga foi de 12%. Nossos resultados mostraram que a substituição de *C. clavata* em Sistemas Multitróficos pode ser uma boa opção, pois observamos que poucas funções

fisiológicas em *L. vannamei* foram afetadas comparada ao grupo controle. Além do benefício econômico pela redução da quantidade de ração utilizada durante o cultivo, o uso de algas também pode agregar sustentabilidade ambiental devido a uma menor contaminação da água do efluente pela ração. Adicionalmente, animais alimentados com 50% de algas defecaram menos, o que reduz a carga orgânica de contaminantes na água. Trabalhos futuros sobre análise econômica serão úteis na tomada de decisão sobre o uso de *C. clavata* em Sistema Multitróficos Integrados.

Palavras-Chave: Crustáceo; Macroalga; Aquicultura; Fisiologia.



## 1. INTRODUÇÃO

O aumento populacional visto nas últimas décadas gerou um grande desafio para suprir a demanda por alimentos (Taagepera, 2014; Godoy et al., 2021). Nesse cenário, a aquicultura tem se mostrado como uma alternativa eficiente para produção de proteína de alta qualidade. Em 2018, a produção de organismos aquáticos atingiu aproximadamente 114,5 milhões de toneladas, totalizando cerca de US \$263,6 bilhões (FAO, 2020). Dentre os diversos setores da aquicultura, a carcinicultura é um dos que mais cresce, sendo o camarão *L. vannamei* um dos 20 organismos mais cultivados no mundo (Bartley, 2022).

O camarão *L. vannamei* pertence à família Penaeidae, sendo popularmente conhecido como camarão-branco-do-pacífico. Está distribuído geograficamente na costa do Pacífico, desde o Golfo da Califórnia até o norte do Peru (Zhang et al., 2009), habita diferentes nichos ecológicos durante seu ciclo de vida, portanto possui alta tolerância a variações de salinidade, desde água doce até 50S (Ravichandran, 2012). Por possuir hábito alimentar onívoro oportunista, *L. vannamei* consegue adquirir parte de seu requerimento nutricional de organismos presentes em viveiros, permitindo uma redução nos custos com rações e uma melhora nos parâmetros físico e químico da água (Porchas-Cornejo et al., 2012). Atualmente, vem sendo amplamente utilizado em Sistemas Multitróficos Integrados em conjunto com algas, moluscos e peixes (Omont et al., 2020; Verdian et al., 2020; Holanda et al., 2020). Segundo a FAO (2020), em 2018 a produção aquícola desse camarão obteve aproximadamente 500 mil toneladas, totalizando cerca de 52,9% do total de crustáceos produzidos no mundo. Entretanto, assim como outras atividades, a carcinicultura está suscetível a ocasionar diferentes impactos no ambiente (Granada et al., 2016).

A eutrofização ocasionada pela liberação de excretas metabólicas, fezes e restos de alimentos não consumidos pelos animais causam o enriquecimento orgânico da água, principalmente pelo nitrogênio e fósforo, esses nutrientes em abundância contribuem para o aumento da produtividade primária (Marinho- Soriano et al. 2011; Kawasaki et al., 2016; Muqsith et al., 2019). Como forma de mitigação, a redução do uso de ração comercial pode colaborar para a diminuição desses impactos no ambiente, bem como reduzir os custos com a alimentação (Tsutsui et al., 2015b), visto que com o aumento da produção aquícola mundial, a demanda por alimentos para os animais cultivados também aumentou, correspondendo em torno de 30 a 70% de todo

o custo de produção, atualmente, os ingredientes derivados de peixe continuam sendo o mais utilizado como fonte de proteína e lipídios nas formulações de dietas, porém possuem alto custo (Hodar et al., 2020). Portanto, são necessários estudos que buscam novas tecnologias e alternativas mais sustentáveis.

O uso de macroalgas marinhas como suplemento alimentar incorporado a rações tem sido amplamente estudado (Ahn et al., 2018; Elizondo-González et al., 2018; Nyonje et al., 2019; Sudharaka et al., 2021), pois são consideradas uma ótima fonte de nutrientes para incrementar dietas para animais aquáticos (Anaya-Rosas et al., 2019). Por exemplo, estudos com *L. vannamei* mostraram que a utilização de 4% de inclusão da alga *Undaria pinnatifida* na ração melhorou a imunidade do camarão enquanto a inclusão de 0,5 e 2% de *Sargassum filipendula* aumentou a resistência a variações de temperatura (Schleder et al., 2017). O uso de 2 a 3% de *Gracilaria lemaneiformis* melhorou o crescimento (Yu et al., 2016) assim como a utilização de 5% de *Ulva lactuca* (Rodríguez-González et al., 2014). No entanto, a utilização das algas vivas e frescas como complemento pode ser uma alternativa de baixo custo e que pode oferecer vários benefícios, inclusive podendo ser usadas em Sistemas Multitróficos Integrados. Pallaoro et al (2016) observaram que a substituição de até 50% da ração comercial por *U. lactuca* não interfere no crescimento do camarão *L. vannamei* e Cruz-suárez et al (2010), observaram que o cultivo integrado do camarão com *Ulva clathrata* aumentou o crescimento de *L. vannamei* em até 60%, além de apresentar maior teor de pigmentação corporal e diminuição de lipídios no camarão.

Em 2018, a algicultura marinha produziu cerca de 32,4 milhões de toneladas, com destaque para a produção da macroalga *Laminaria japonica*, que correspondeu a aproximadamente 12000 mil toneladas, seguida por *Eucheuma spp.* e *Gracilaria spp.*, com 9237,5 e 3454,8 mil toneladas, respectivamente. No Brasil, a produção de macroalgas ainda está em desenvolvimento, sendo predominante o cultivo da espécie exótica *Kappaphycus alvarezii* (Castellar et al., 2015). O gênero *Chaetomorpha* (Chlorophyta) compreende 74 espécies (Guiry, 2021), possuem alta tolerância a variações de temperatura, salinidade e altas taxas de crescimento (Tsutsui et al., 2015a). As algas deste gênero contêm compostos como proteínas, pigmentos, ácidos graxos e polissacarídeos de parede celular (Freile-Pelegrín et al., 2020) e apresentam ativos antibacterianos e antioxidantes (Farasat et al., 2013; Thanigaivel et al., 2014; Oktaviani et al., 2019). A adição de algas à alimentação de animais cultivados tem demonstrado melhorias no crescimento, imunidade e resposta hematológica em

peixe, camarões e pepinos-do-mar (Tsutsui et al., 2015b; Song et al., 2017; Sattanathan et al., 2020; Tsutsui et al., 2020), sendo uma alternativa para o tratamento de efluentes (Ge & Champagne, 2017; Aquilino et al., 2020). Portanto, essas características tornam esse gênero promissor para a aquicultura, principalmente em Sistemas Multitróficos (Moreira et al., 2022). A alga *C. clavata* possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrada na América do Norte (Flórida e Golfo da Califórnia), Central e do Sul (Brasil, Chile, Colômbia e Venezuela), na África e no Sudeste e Sudoeste da Ásia (Índia, Sri Lanka e Indonésia) (Guiry, 2017), porém, ainda há uma escassez de dados na literatura sobre a espécie.

O Sistema Multitrófico Integrado (IMTA) combina organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos, com funções complementares (Shi et al., 2013; Johnson et al., 2019), como por exemplo, espécies que são arraçoadas (peixe ou camarão) são cultivadas com espécies extrativas orgânicas e inorgânicas, como ostras e algas marinhas (Granada et al., 2016; Buck et al., 2018 Johnson et al., 2019; Nardelli et al., 2019). Pesquisas com o cultivo integrado de *L. vannamei* e algas brasileiras regionais são essenciais para delinear novas tecnologias de cultivo, visando a qualidade dos produtos, o bem-estar dos animais, e aumentar a sustentabilidade ecológica, econômica e social na aquicultura.

O conhecimento dos parâmetros fisiológicos dos animais cultivados possui grande relevância na aquicultura, pois auxiliam a determinação da eficiência na produção. Nesse sentido, o Balanço Energético pode ser utilizado como ferramenta para análise da fisiologia desses organismos. Através dele é possível descrever a distribuição de energia obtida pelos alimentos e alocada para os processos fisiológicos relacionados à manutenção, crescimento e reprodução (Ren et al., 2020). A hipótese fundamental relacionada ao Balanço Energético é que um conjunto de variáveis fisiológicas (estágio ontogenético, tamanho, reservas energéticas, comportamento, reprodução) associado a variáveis ambientais (salinidade, temperatura, pH, dieta) determinem a história de vida dos indivíduos (Lucas & Watson, 2002). Na aquicultura, a bioenergética ajuda a compreender a forma como os nutrientes modulam os mecanismos fisiológicos relacionados à transformação da energia obtida no alimento em biomassa. Em crustáceos, a energia ingerida (C) é primariamente canalizada para crescimento (P), manutenção do metabolismo (R), excreção de produtos nitrogenados (U), fezes (F) e exúvia (E). Estas informações fornecem dados sobre a quantidade de energia proveniente do alimento necessária para o crescimento e como as diferentes

proporções de nutrientes em uma dieta são usadas como fonte de energia metabólica para o crescimento ou perdidas como produtos resultantes do metabolismo ou fezes.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ingestão, crescimento, metabolismo, muda, excreção nitrogenada, egestão, índice hepatossomático, relação O/N e o balanço energético do camarão *L. vannamei* alimentado apenas com ração e com substituição desta por 50% da alga *C. clavata*.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Coleta dos Animais e Acondicionamento ao Laboratório**

Os juvenis de *L. vannamei* foram coletados em fazendas de carcinicultura do estado de Santa Catarina e transportados para o Instituto de Biociências UNESP em São Vicente, SP. No Laboratório de Fisiologia de Animais Aquáticos, os animais foram aclimatados às condições laboratoriais durante quatro dias em aquários individuais. Durante esse período os animais foram alimentados diariamente com ração comercial (Guabitech Active 35) contendo 35% de proteína bruta e 18,56 kJ/g.

### **2.2 Obtenção e Manutenção da alga *C. clavata* no Laboratório**

As algas foram cedidas pelo Laboratório de Algas e Plantas Aquáticas da UNESP - Registro, localizado no estado de São Paulo. Até o momento de sua utilização, a alga foi mantida em aquário de 20L contendo água filtrada 25ppt a 20°C com aeração constante e fotoperíodo controlado.

### **2.3 Avaliação do Balanço energético**

Após o período de aclimação, os animais foram pesados ( $4,36\text{g} \pm 0,40$ ) e transferidos para aquários individuais contendo água em 25ppt por 25 dias para avaliar as taxas de crescimento, ingestão, egestão, consumo de oxigênio, excreção de amônia e o balanço de energia. Os animais foram divididos em dois grupos e alimentados da seguinte forma:

- 1) RC (ração comercial): alimentação apenas com ração comercial (controle)

2) RC + AF (ração comercial + alga fresca): alimentação com 50% ração comercial e 50% alga fresca (*C. clavata*)

Os aquários possuíam aeração constante, temperatura (25°C), e sujeitos a fotoperíodo natural. Foram utilizados 8 animais (N = 8) em cada tratamento. Entretanto, animais que estavam em estágio de pré-muda ou pós-muda ao final do experimento foram excluídos dos resultados, pois elevados níveis de hidratação corporal poderiam causar vieses na massa corporal.

### **2.3.1 Taxa de Ingestão (C) e Egestão (F)**

Os animais foram alimentados diariamente no período da manhã com porções correspondentes a 5% da biomassa total (peso úmido) de cada indivíduo. Para o tratamento em que os animais foram alimentados com ração e alga, a porcentagem de cada um foi de 2,5% da biomassa individual de cada camarão. Após quatro horas, o alimento não consumido foi removido dos aquários por sifonamento, em seguida foi colocado em estufa a 60°C por 48 h e pesado em balança analítica (Mettler Toledo, 1 mg).

A taxa de ingestão foi determinada pela diferença entre a massa do alimento oferecido e aquele que sobrou nos aquários. Amostras foram armazenadas em freezer para análises do conteúdo energético, que foi feito com o uso de bomba calorimétrica (IKA, C2000 basics).

As fezes foram coletadas dos aquários diariamente utilizando pipeta plástica. As amostras de fezes foram secas a 60°C por 48 h e pesadas em balança analítica (Mettler Toledo, 1 mg). Posteriormente foram armazenadas em freezer até a análise de energia utilizando bomba calorimétrica (IKA, C2000 basics)

### **2.3.2 Crescimento (P) e Exúvia (E)**

Os animais foram pesados (Mettler Toledo, 1 mg) no início e no final do experimento, a fim de evitar estresse por manipulação. A energia gasta na muda foi quantificada por amostras de exúvia coletadas dos aquários durante os 25 dias de experimento, levados à estufa por 60°C por 48h e posteriormente armazenados em

freezer. Após a quantificação de oxigênio consumido e excreção de amônia no último dia do experimento, os animais foram eutanasiados, secos em papel absorvente e colocados em uma estufa (Nova Etica, 400-6ND-200C) a 60°C por 48 h e pesados em balança novamente (Mettler Toledo, 1 mg). Os corpos e as exúvias foram armazenados em freezer até a análise do conteúdo energético utilizando bomba calorimétrica (IKA, C2000 basics).

### **2.3.3. Metabolismo (R) e Excreção (U)**

O consumo de oxigênio foi avaliado em uma câmara respirométrica fechada com capacidade para 1500 ml de água e equipada com oxímetro e monitor (YSI modelos 53 e 5905, respectivamente) (Augusto e Masui, 2014; Augusto & Valenti, 2016). Os animais foram previamente mantidos por 24 horas sem alimentação (para reduzir o efeito calorigênico do alimento) e posteriormente foram transferidos para câmaras respirométricas individuais contendo aeração e água com os mesmos parâmetros físicos (salinidade: 25ppt, temperatura: 25°C) e aclimatados por 30 minutos. Após esse período a aeração foi retirada das câmaras e foi feita a medida inicial da concentração de oxigênio dentro das câmaras. As câmaras foram mantidas tampadas no escuro e após 120 minutos foi realizada nova medida. Os animais utilizados nos experimentos estavam no estágio de intermuda. Em todos os experimentos foram feitos brancos em câmaras respirométricas sem animais dentro, seguindo as mesmas condições experimentais. O consumo de oxigênio foi determinado pela diferença na concentração de oxigênio dentro das câmaras no início e final do experimento (após 120 minutos). Para calcular a energia canalizada para o metabolismo, o efeito calorigênico do alimento foi adicionado à taxa de consumo de oxigênio, considerando um aumento de 70% (Romero, 1983; Chu & Ovsianico-Koulikowsky, 1994). A energia metabólica foi calculada considerando que 1mg de O<sup>2</sup> consumido equivale a 14,06J (Gnaiger, 1983)

A excreção de amônia-N foi medida a partir de amostras de água obtidas das câmaras respirométricas no final de cada experimento do consumo de oxigênio (Augusto & Masui, 2014; Augusto & Valenti, 2016). Variações na concentração amônia-N foram calculadas pela diferença entre os valores obtidos nas amostras e nos controles (câmaras sem animais). A concentração de amônia foi determinada por colorimetria (espectrofotômetro Hach, 2500) (Koroleff, 1983). A energia foi expressa

considerando que 1mg de TAN excretado equivale a 24,87J (Gnaiger, 1983). O consumo de oxigênio e a excreção de amônia-N foram expressos como taxas individuais ( $\text{mg ind}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e massa seca específica ( $\mu\text{g.mg}^{-1} \text{peso seco h}^{-1}$ ).

### **2.3.4 Balanço Energético**

O balanço energético foi avaliado a partir do cálculo:

Energia Ingerida (C) = Energia gasta no crescimento (P) + Energia gasta no metabolismo (R) + Energia gasta na excreção (U) + Energia gasta nas fezes (F) + Energia gasta na exúvia (E).

### **2.4 Avaliação do Tipo de Substrato Energético Oxidado**

O principal substrato energético oxidado foi determinado pela relação atômica O/N dividindo-se a quantidade de oxigênio consumido pela excreção de nitrogênio excretado (Mayzaud & Conover, 1988). Taxas entre 3 e 16 indicam a oxidação predominante de proteínas; valores entre 17 e 60 indicam uma mistura de proteínas e lipídios e taxas maiores que 60 indicam o uso de lipídios (Mayzaud & Conover, 1988).

### **2.5 Avaliação do Índice Hepatossomático (IHS)**

O hepatopâncreas dos animais foi dissecado e pesado após os animais serem eutanasiados, mantido em estufa a 60°C durante 48 horas e pesado novamente. O restante do corpo de cada animal também foi seco e pesado. O índice hepatossomático foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{IHS} = (\text{Peso seco do órgão} / \text{peso seco do animal}) \times 100.$$

### **2.6 Análise Estatística**

Após verificar a normalidade de distribuição e igualdade de variância dos dados foram feitas Teste-T seguido pelo teste de médias múltiplas de Student- Newman-Keuls (SNK) para localizar as médias estatisticamente diferentes. As análises foram feitas usando-se o programa Sigma Stat 3.5 e empregando-se um nível mínimo de significância de  $P = 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Mortalidade

A mortalidade no grupo alimentado apenas com ração comercial (CF) foi de 12,5%, enquanto no grupo alimentação com ração comercial e alga essa taxa foi de 25%.

#### 3.2 Conteúdo energético da ração, alga *C. clavata*, corpo, fezes e exúvia

A energia contida no corpo em RC foi cerca de 5% maior que em RC + AF, assim como a energia contida nas fezes e exúvia, que foi cerca de 13 e 11% maior que nos animais alimentados com substituição de 50% alga na alimentação.

Tabela 1. Energia contida (kJ g<sup>-1</sup> ms) na ração, alga, corpo, fezes e exúvia (kJ g<sup>-1</sup>) de *L. vannamei*. RC = ração comercial; RC + AF = ração comercial + alga fresca.

|                   |                           |                           |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| Energia da ração  | 18,56                     |                           |
| Energia da alga   | 5,99                      |                           |
|                   | RC                        | RC + AF                   |
| Energia do corpo  | 17,93 ± 0,13 <sup>a</sup> | 17,15 ± 0,15 <sup>b</sup> |
| Energia das fezes | 10,83 ± 0,18 <sup>a</sup> | 9,43 ± 0,39 <sup>b</sup>  |
| Energia da exúvia | 6,31 ± 0,26 <sup>a</sup>  | 5,59 ± 0,06 <sup>b</sup>  |

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

#### 3.3 Ingestão, egestão, crescimento, metabolismo, excreção de amônia, razão atômica O:N e índice hepatossomático

A taxa de ingestão (mg MS dia<sup>-1</sup>) no grupo controle foi cerca de 30% menor que nos animais alimentados com ração e alga. A egestão, crescimento, metabolismo e excreção de amônia diária (Tabela 2) e massa-específica (Figura 1) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. A razão O:N mostrou que *L. vannamei* oxida principalmente proteínas como substrato energético. O índice hepatossomático



não apresentou diferenças.

Tabela 2. Taxas diárias de ingestão (C), defecação (F), relação fezes/ingestão (F/C), crescimento (P), respiração (R), excreção (U), e relação O/N e índice hepatossomático (IHS) de *L. vannamei*. RC = ração comercial; RC + AF = ração comercial + alga fresca. Os dados são apresentados como Média  $\pm$  Erro Padrão.

|                                                                | RC                             | RC + AF                         |
|----------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| C/MUi (%)                                                      | 2,80 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>   | 3,66 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>    |
| C (mg MU dia <sup>-1</sup> )                                   | 117,67 $\pm$ 5,94 <sup>a</sup> | 165,24 $\pm$ 11,36 <sup>b</sup> |
| F (mg MS dia <sup>-1</sup> )                                   | 47,59 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>  | 40,63 $\pm$ 2,66 <sup>a</sup>   |
| F/C (%)                                                        | 38,80 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>  | 19,76 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>   |
| P (mg MS dia <sup>-1</sup> )                                   | 27,31 $\pm$ 3,36 <sup>a</sup>  | 19,42 $\pm$ 2,49 <sup>a</sup>   |
| P/MUi (%)                                                      | 12,67 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>  | 9,30 $\pm$ 2,26 <sup>a</sup>    |
| R (mg O <sub>2</sub> ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )     | 26,76 $\pm$ 2,77 <sup>a</sup>  | 22,95 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>   |
| U (mg NH <sub>3</sub> -N ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) | 2,29 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>   | 3,42 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>    |
| O:N                                                            | 6,21 0,79 <sup>a</sup> (P)     | 5,10 1,33 <sup>a</sup> (P)      |
| IHS                                                            | 1,98 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>   | 1,88 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>    |

OBS: animais alimentados com Ração + Algas ingeriram quantidades semelhantes dos dois tipos de alimento ofertado. Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

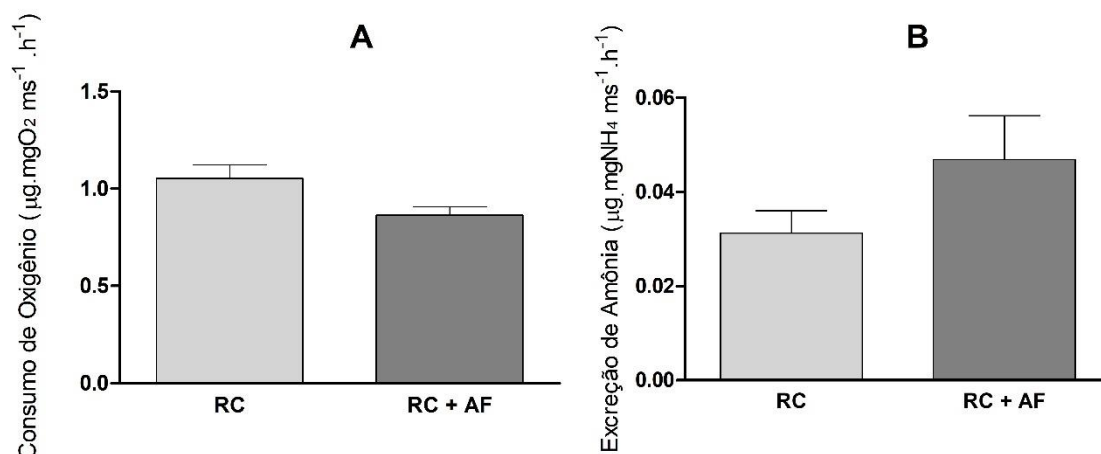


Figura 1. (A)Taxa de Consumo de Oxigênio massa-específica ( $\mu\text{g} \cdot \text{mg} \cdot \text{ms}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ). (B) excreção de amônia ( $\mu\text{g} \cdot \text{mg} \cdot \text{ms}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) de *L. vannamei*. RC = ração comercial; RC + AF = ração comercial + alga fresca

### 3.4 Balanço energético

A energia ingerida e canalizada para diferentes funções é expressa em  $\text{kJ ind}^{-1} \text{dia}^{-1}$  e porcentagem, apresentada na Tabela 3 e figura 2, respectivamente. Foi observado que a canalização de energia para as diferentes funções fisiológicas não mostrou diferenças significativas. A energia alocada no metabolismo e perda nas fezes corresponderam com as maiores parcelas do balanço de energia (Figura 2).

Tabela 3. Energia ( $\text{J/ind/dia}$ ) proveniente da Ingestão (C) e canalizada para Crescimento (P), Respiração (R), Excreção (U), Fezes (F) e Exúvia (E), de *L. vannamei*. RC = ração comercial; RC + AF = ração comercial + alga fresca.

|   | RC                | RC + AF           |
|---|-------------------|-------------------|
| C | $2,03 \pm 0,16^a$ | $1,74 \pm 0,04^a$ |
| F | $0,51 \pm 0,03^a$ | $0,51 \pm 0,06^a$ |
| P | $0,38 \pm 0,05^a$ | $0,21 \pm 0,11^a$ |
| R | $0,65 \pm 0,17^a$ | $0,64 \pm 0,08^a$ |
| U | $0,05 \pm 0,01^a$ | $0,07 \pm 0,03^a$ |
| E | $0,08 \pm 0,01^a$ | $0,08 \pm 0,02^a$ |

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

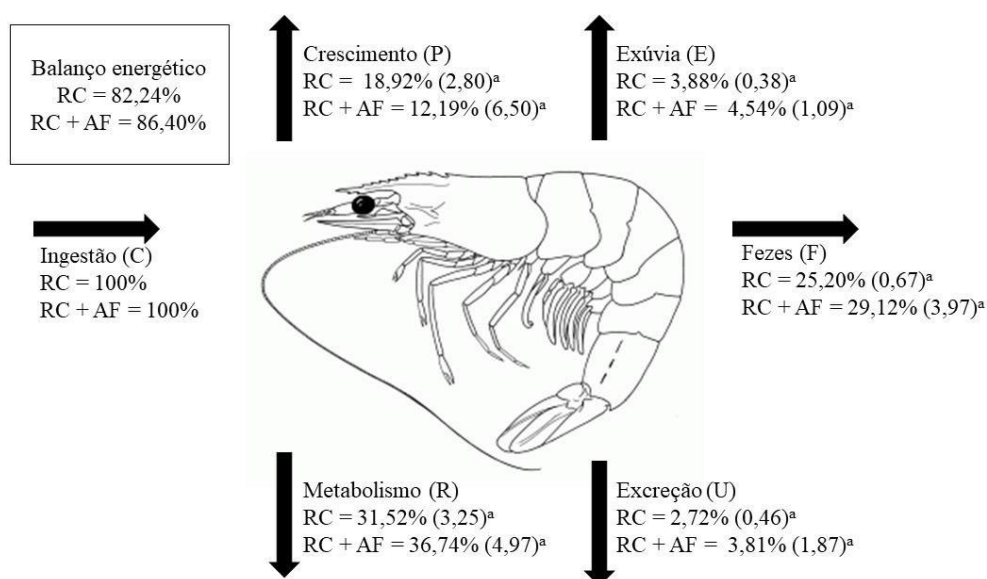


Figura 2. Balanço energético (%) de *Litopenaeus vannamei* alimentado com duas diferentes dietas: RC = ração comercial; RC + AF = ração comercial + alga fresca ( $P < 0,05$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo observamos que a substituição da ração em 50% por algas frescas à alimentação de *L. vannamei* não causa alterações em parâmetros fisiológicos importantes como a sobrevivência, crescimento, metabolismo, excreção de amônia, índice hepatossomático e o balanço energético. Sendo assim, essa substituição pode ser vantajosa ao produtor por oferecer maior sustentabilidade econômica e ambiental, pois a ração é um dos itens mais caros e poluentes da aquicultura.

##### *Sobrevivência*

Na aquicultura, o cuidado com a nutrição animal é um dos fatores mais importantes, pois refletirá em seu desempenho zootécnico. Nesse estudo vimos que o grupo CF apresentou 12,5% de mortalidade, enquanto em CF + FA foi 25%. Valores semelhantes foram encontrados em estudos utilizando o cultivo de algas e *L. vannamei*, onde a mortalidade variou de 25 a 44% (Ly et al., 2021; Laramore et al., 2018; Ahn et al, 2022).

### *Crescimento, Ingestão e Defecação em L. Vannamei*

O crescimento de crustáceos pode ser definido como a energia obtida e armazenada como reserva corporal (Lemos & Phan 2001), esse processo se dá através da muda, no qual o animal se desprende do exoesqueleto antigo (exúvia), ocorrendo de forma cíclica ao longo de seu desenvolvimento (Chang & Mykles, 2011). A taxa de crescimento nos crustáceos pode ser influenciada por fatores como dieta, salinidade e temperatura (Benider et al., 2002; Fockedey et al., 2005; Kevrekidis et al., 2009; Augusto et al., 2020; Mantoan et al., 2021). Em crustáceos, a energia canalizada para a muda é cerca de 5% (Lemos et al., 2001), no presente trabalho, observamos que a energia canalizada para o processo correspondeu a cerca de 3,9 a 4,5%. Além disso, não observamos diferença na taxa de crescimento e na energia canalizada para esta função entre os tratamentos. Resultados semelhantes foram observados na mesma espécie, onde o ganho de massa em até 50% de substituição da ração por *Ulva lactuca* (Pallaoro et al., 2016) e *Ulva clathrata* (Gamboa-Delgado et al., 2011) não foi afetado. A energia canalizada para esta função foi cerca de 12 a 18%. Em outros estudos, foi visto que a energia canalizada para o crescimento em *L. vannamei* foi cerca de 11 a 24% (Coelho et al., 2019; Xue et al., 2021), enquanto em *Macrobrachium amazonicum* foi cerca de 0,02 a 9% (Augusto & Masui, 2014).

Na natureza, o camarão *L. vannamei* possui hábito alimentar onívoro e oportunista com uma certa diversificação em sua dieta, mostrando ser capaz de digerir a maioria dos nutrientes (Jiménez-Yan et al., 2006). O conteúdo estomacal desses animais inclui zooplânctons, diatomáceas, algas filamentosas e macroalgas marinhas (Porchas-Cornejo et al., 2011). Neste estudo foi observado que a taxa de ingestão aumentou com a substituição de alga na dieta. Resultados semelhantes foram observados em *L. vannamei*, como por exemplo, com maiores níveis de substituição de *U. lactuca* na dieta (100% alga: ingestão de 500 mg dia<sup>-1</sup>; 50% alga: 320 mg dia<sup>-1</sup>) (Pallaoro et al., 2016), e com a utilização de *U. clathrata*, onde os animais ingeriram até 40% a mais que o grupo alimentado apenas com ração (Gamboa-Delgado et al., 2011). Tal fato pode ter ocorrido devido à necessidade de energia e nutrientes para manter funções vitais.

De acordo com o fabricante, a ração comercial usada nos experimentos possui 35% de proteínas e cerca de 19 KJ/g. O conteúdo energético de algas verdes mostra que estas podem ser pouco calóricas, apresentando cerca de 12 KJ/g (*Chaetomorpha*

*spp*, *Valoniopsis pachynema*, *Cladophora fascicularis*), 14 KJ/g *U. lactuca* (Jl et al., 2009) e 6 KJ/g a alga *C. clavata* (presente estudo), além disso, são pouco protéicas, podendo variar em função de fatores bióticos e abióticos. Por exemplo, em *U. lactuca* foi encontrado cerca de 14% de proteína bruta (Pallaoro et al., 2016) e em *Chaetomorpha spp.* e *C. linum* esse valor variou entre 5 e 10% (Tsutsui et al., 2020; Neifar et al., 2016). Ademais, é necessário considerar que a alga *C. clavata* possui 87% de água em sua composição enquanto a ração comercial usada tem 7%. Portanto, a baixa quantidade de energia, a possível baixa quantidade proteica (em análise) e a alta composição hídrica da alga pode ter influenciado o aumento da ingestão nos animais mantidos nesse tratamento. No entanto, é importante salientar que as algas podem desempenhar o papel de suplementação de micronutrientes e vitaminas na alimentação dos animais (Brito et al., 2000).

A relação entre a defecação e ingestão (F/C) nos animais alimentados com alga foi menor comparado ao controle, além disso, a energia contida nas fezes (Tabela 1) também foi menor, tais resultados sugerem que neste grupo os camarões apresentam melhor absorção intestinal. A quantidade de fezes produzidas (mg MS dia<sup>-1</sup>) e a energia perdida nesta função, porém, não foi significativa entre os tratamentos, correspondendo a 40 a 47 mg MS dia<sup>-1</sup> e 25 a 29%. Em *Macrobrachium amazonicum* foi visto valores de 1,7 a 5 mg MS dia<sup>-1</sup> e até 6,6% de energia alocada nesta função (Augusto et al., 2020) e em *L. vannamei* esse valor variou de 7 a 22% (Coelho et al., 2019; Xue et al., 2021).

O hepatopâncreas é o principal órgão de armazenamento de energia nos crustáceos, além de ser responsável pela síntese de enzimas digestivas e absorção de nutrientes (Verri et al., 2001). Por meio da avaliação do índice hepatossomático é possível verificar possíveis alterações no uso da energia estocada em função da exposição a situações perturbadoras da homeostase (Gibson, 1979; Dhall & Moriaty, 1984; Navarro et al., 2006; Papa, 2007). Observamos neste estudo que não houve alterações no índice hepatossomático entre os tratamentos, esses resultados mostram por mais uma via que a substituição de 50% da ração, não irá interferir negativamente no cultivo, pois os animais não necessitam utilizar suas reservas energéticas para a manutenção dos seus processos fisiológicos. Assim como no índice hepatossomático, outros parâmetros fisiológicos, como por exemplo, o consumo de oxigênio, excreção de amônia e razão O/N também não apresentaram diferenças entre os tratamentos. O metabolismo é indiretamente mensurado a partir

do consumo de oxigênio, sendo definido como a soma de todas as reações químicas que acontecem nos organismos (Blaxter, 1989). De forma geral, o consumo de oxigênio reflete a energia necessária para manutenção, alimentação e metabolismo ativo dos animais (Rajaram et al., 2022). Alterações na taxa metabólica podem surgir em razão de diversos fatores como a salinidade, temperatura e pH (Su et al., 2010; Ramaglia et al., 2018) e alterações na dieta (Xue et al., 2021). O conhecimento da taxa metabólica e da demanda energética para o metabolismo é essencial para a aquicultura, pois refletirá no bem-estar e sobrevivência dos animais e até mesmo na capacidade de suporte do cultivo. Os nossos resultados mostram que a energia canalizada para esta função foi de 31 a 35%, não diferindo entre os tratamentos.

A excreção de amônia, principal produto do catabolismo de aminoácidos livres em crustáceos, não sofreu alterações. A energia alocada para excreção foi cerca de 2 a 4%. Coelho et al (2019) relatam valores de 1 a 8% para *L. vannamei*. A relação O/N mostrou que em ambos os tratamentos, o principal substrato energético oxidado foram proteínas.

#### *O uso de Chaetomorpha clavata em Sistemas Multitróficos Integrados*

Nossos resultados mostram pela primeira vez que o camarão marinho *L. vannamei* se alimenta da alga *C. clavata* em laboratório. Portanto, a inclusão desta espécie em Sistemas Multitróficos pode ser uma boa opção porque os animais se alimentarão das algas e isso pode reduzir a quantidade de ração ofertada. A inclusão de 50% de algas na alimentação do camarão *L. vannamei* afetou poucas funções fisiológicas comparada ao grupo controle, sendo assim, a utilização desta poderá ser benéfico pela economia que o produtor terá com a redução do uso de rações, o item mais caro da aquicultura. Por exemplo, foi visto que a utilização de 25% da alga *Caulerpa lentillifera* reduziu o custo gasto com ração em até 39,57% e melhorou a qualidade da água (Ahn et al., 2021). O uso de algas também pode agregar sustentabilidade ambiental devido a uma menor contaminação da água do efluente pela ração, uma vez que estas atuam como biofiltro utilizando nutrientes como nitrogênio e fósforo para aumento da própria biomassa. Estes dados poderão contribuir com informações sobre uma melhor sustentabilidade ambiental decorrente do uso de algas nos Sistemas Multitróficos. Trabalhos futuros sobre análise econômica também serão úteis na tomada de decisão sobre o uso de *C. clavata* em

## Sistema Multitróficos Integrados.

**5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Anaya-Rosas, R. E., Rivas-Vega, M. E., Miranda-Baeza, A., Piña-Valdez, P., & Nieves-Soto, M. (2019). Effects of a co-culture of marine algae and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the growth, survival and immune response of shrimp infected with *Vibrio parahaemolyticus* and white spot virus (WSSV). *Fish & shellfish immunology*, 87, 136-143.

Anh, N. T. N., Hai, T. N., & Hien, T. T. T. (2018). Effects of partial replacement of fishmeal protein with green seaweed (*Cladophora spp.*) protein in practical diets for the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae. *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2649-2658.

Anh, N. T. N., Murungu, D. K., Van Khanh, L., & Hai, T. N. (2022). Polyculture of sea grape (*Caulerpa lentillifera*) with different stocking densities of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Effects on water quality, shrimp performance and sea grape proximate composition. *Algal Research*, 67, 102845.

Aquilino, F., Paradiso, A., Trani, R., Longo, C., Pierri, C., Corriero, G., & de Pinto, M. C. (2020). *Chaetomorpha linum* in the bioremediation of aquaculture wastewater: Optimization of nutrient removal efficiency at the laboratory scale. *Aquaculture*, 523, 735133.

Augusto, A., & Masui, D. C. (2014). Sex and reproductive stage differences in the growth, metabolism, feed, fecal production, excretion and energy budget of the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Marine and freshwater behaviour and physiology*, 47(6), 373-388.

Augusto, A., & Valenti, W. C. (2016). Are There Any Physiological Differences between the Male Morphotypes of the Freshwater Shrimp *Macrobrachium Amazonicum* (Caridea: Palaemonidae)? *Journal of Crustacean Biology*, 36(5), 716-723.

Augusto, A., New, M. B., Santos, M. R., Amorim, R. V., & Valenti, W. C. (2020). Energy budget and physiology in early ontogenetic stages of the Amazon river prawn☆. *Aquaculture Reports*, 18, 100446.

Bartley, D.M. 2022. World Aquaculture 2020 – A brief overview. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1233. Rome, FAO.

Benider, A., Tifnouti, A., & Pourriot, R. (2002). Growth of *Moina macrocopa*

(Straus 1820)(Crustacea, Cladocera): influence of trophic conditions, population density and temperature. *Hydrobiologia*, 468(1), 1-11.

Blaxter, K. (1989). Energy metabolism in animals and man. CUP Archive. Brito, R., Chimal, M. E., Gaxiola, G., & Rosas, C. (2000). Growth, metabolic rate, and digestive enzyme activity in the white shrimp *Litopenaeus setiferus* early postlarvae fed different diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 255(1), 21-36.)

Buck, B. H., Troell, M. F., Krause, G., Angel, D. L., Grote, B., & Chopin, T. (2018). State of the art and challenges for offshore integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Frontiers in Marine Science*, 5, 165.

Castelar, B., Pontes, M. D., Costa, W. D. M., Moura, L. C. F., Dias, G. E., Landuci, F. S., & Reis, R. P. (2015). Biofiltering efficiency and productive performance of macroalgae with potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Boletim do Instituto de Pesca*, 41(Special), 763-770.

Chang, E. S., & Mykles, D. L. (2011). Regulation of crustacean molting: a review and our perspectives. *General and comparative endocrinology*, 172(3), 323-330.

Chu, K. H., & Ovsianico-Koulikowsky, N. N. (1994). Ontogenetic changes in metabolic activity and biochemical composition in the shrimp, *Metapenaeus ensis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 183(1), 11-26.

Coelho, R. T. I., Yasumaru, F. A., Passos, M. J. A. C. R., Gomes, V., & Lemos, D. (2019). Energy budgets for juvenile Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* fed different diets. *Brazilian Journal of Oceanography*, 67.

Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., & Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/*Ulva* co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301(1-4), 64-68.

Dhall, W., & Moriaty, D. J. W. (1984). Functional aspects of nutrition and digestion: The Midgut. *The Biology of Crustacea* (Ed. DE Bliss and LH Mantel), 5, 215-251.

Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Magallón-Servín, P., & Peña-Rodríguez, A. (2018). Use of seaweed *Ulva lactuca* for water bioremediation and as feed additive for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *PeerJ*, 6, e4459.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability



in action. Rome.

Farasat, M., Khavari-Nejad, R. A., Nabavi, S. M. B., & Namjooyan, F. (2013). Antioxidant properties of some filamentous green algae (*Chaetomorpha* Genus). Brazilian archives of biology and technology, 56(6), 921-927.

Fockedey, N., Mees, J., Vangheluwe, M., Verslycke, T., Janssen, C. R., & Vincx, M. (2005). Temperature and salinity effects on post-marsupial growth of *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea). Journal of experimental marine Biology and Ecology, 326(1), 27-47.

Freile-Pelegrín, Y., Chávez-Quintal, C., Caamal-Fuentes, E., Vázquez- Delfín, E., Madera-Santana, T., & Robledo, D. (2020). Valorization of the filamentous seaweed *Chaetomorpha gracilis* (Cladophoraceae, Chlorophyta) from an IMTA system. Journal of Applied Phycology, 32(4), 2295-2306.

Gamboa-Delgado, J., Peña-Rodríguez, A., Ricque-Marie, D., & Cruz- Suárez, L. E. (2011). Assessment of nutrient allocation and metabolic turnover rate in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* co-fed live macroalgae *Ulva clathrata* and inert feed: dual stable isotope analysis. Journal of Shellfish Research, 30(3), 969-978.

Ge, S., & Champagne, P. (2017). Cultivation of the marine macroalgae *Chaetomorpha linum* in municipal wastewater for nutrient recovery and biomass production. Environmental science & technology, 51(6), 3558-3566.

Gibson, R. (1979). The Decapod Hepatopancreas. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 17, 285-346.

Gnaiger, E. (1983). Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In Polarographic oxygen sensors (pp. 337- 345). Springer, Berlin, Heidelberg.

Godoy, A. C., Chiavelli, L. U. R., Oxford, J. H., Rodrigues, R. B., de Oliveira Ferreira, I., Marcondes, A. S., ... & Neu, D. (2021). Evaluation of limnological dynamics in Nile tilapia farming tank. Aquaculture and Fisheries, 6(5), 485-494.

Granada, L., Sousa, N., Lopes, S., & Lemos, M. F. (2016). Is integrated multitrophic aquaculture the solution to the sectors' major challenges?—a review. Reviews in Aquaculture, 8(3), 283-300.

Guiry, M.D. (2017). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 10 de maio de 2022.

Guiry, M. D. (2021). AlgaeBase: A Global Database for Algae. Current Science,

121(1), 10-11. Disponível em:< <https://www.algaebase.org/browse/taxonomy/#8415>>  
Acesso em: 14/02/2022.

Hodar, A. R., Vasava, R. J., Mahavadiya, D. R., & Joshi, N. H. (2020). Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: A review. *J. Exp. Zool. India*, 23(1), 13-21.

Holanda, M., Santana, G., Furtado, P., Rodrigues, R. V., Cerqueira, V. R., Sampaio, L. A., ... & Poersch, L. H. (2020). Evidence of total suspended solids control by *Mugil liza* reared in an integrated system with pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using biofloc technology. *Aquaculture Reports*, 18, 100479.

Jiménez-Yan, L., Brito, A., Cuzon, G., Gaxiola, G., García, T., Taboada, G., ... & Brito, R. (2006). Energy balance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed on animal or vegetable protein based compounded feeds. *Aquaculture*, 260(1-4), 337-345.

Jl, N. K., Kumar, R. N., Patel, K., Viyol, S., & Bhoi, R. (2009). Nutrient composition and calorific value of some seaweeds from bet dwarka, west coast of Gujarat, India. *Our Nature*, 7(1), 18-25.

Johnson, B., Nazar, A. K. A., Jayakumar, R., Tamilmani, G., Sakthivel, M., Ramesh Kumar, P., ... & Sankar, M. (2019). Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA): A technology for uplifting rural economy and bio-mitigation for environmental sustainability. *Aquaculture Spectrum*, 2(5), 9-18.

Kawasaki, N., Kushairi, M. R. M., Nagao, N., Yusoff, F., Imai, A., & Kohzu, A. (2016). Release of nitrogen and phosphorus from aquaculture farms to Selangor River, Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*, 7(2), 113.

Kevrekidis, T., Kourakos, G., & Boubonari, T. (2009). Life history, reproduction, growth, population dynamics and production of *Gammarus aequicauda* (Crustacea: Amphipoda) at extremely low salinities in a Mediterranean lagoon. *International Review of Hydrobiology*, 94(3), 308-325.

Koroleff, F. (1983). Determination of ammonia. Em: Grasshoff, K., Ehrhardt, M. & Kremling, K. (Eds.). *Methods of seawater analysis*. 2o ed. Verlag Chemie. Weinheim. p. 150-157.

Laramore, S., Baptiste, R., Wills, P. S., & Hanisak, M. D. (2018). Utilization of IMTA-produced *Ulva lactuca* to supplement or partially replace pelleted diets in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in a clear water production system. *Journal of Applied Phycology*, 30(6), 3603-3610.

Lemos, D., & Phan, V. N. (2001). Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Aquaculture*, 199(1-2), 131-143.

Lucas, A., & Watson, J. J. (2002). *Bioenergetics of aquatic animals*. CRC Press.

Ly, K. V., Murungu, D. K., Nguyen, D. P., & Nguyen, N. A. T. (2021). Effects of different densities of sea grape *Caulerpa lentillifera* on water quality, growth and survival of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in polyculture system. *Fishes*, 6(2), 19.

Mantoan, P., Ballester, E., Ramaglia, A. C., & Augusto, A. (2021). Diet containing 35% crude protein improves energy balance, growth, and feed conversion in the Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture Reports*, 21, 100962.

Marinho-Soriano, E., Azevedo, C. A. A., Trigueiro, T. G., Pereira, D. C., Carneiro, M. A. A., & Camara, M. R. (2011). Bioremediation of aquaculture wastewater using macroalgae and *Artemia*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1), 253-257.

Mayzaud, P. and Conover, R.J. 1988. O:N ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series*, 45: 289-302.

Moreira, A., Cruz, S., Marques, R., & Cartaxana, P. (2022). The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 14(1), 5-26.

Muqsith, A., Harahab, N., Mahmudi, M., & Fadjar, M. (2019, July). The estimation of loading feed nutrient waste from *vannamei* shrimp aquaculture pond and carrying capacity of coastal area in Banyuputih sub-district Situbondo Regency. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2120, No. 1, p. 040037). AIP Publishing LLC.

Nardelli, A. E., Chiozzini, V. G., Braga, E. S., & Chow, F. (2019). Integrated multi-trophic farming system between the green seaweed *Ulva lactuca*, mussel, and fish: a production and bioremediation solution. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 847-856.

Navarro, R. D., da Silva, R. F., Ribeiro Filho, O. P., Calado, L. L., Rezende, F. P., Silva, C. S., & Santos, L. C. (2006). Morphometric comparison and somatic indexes of lambari prata (*Astayanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) in different culture systems. *Zootecnia Tropical*, 24(2), 165-176.

Neifar, M., Chatter, R., Chouchane, H., Genouiz, R., Jaouani, A., Masmoudi, A. S., & Cherif, A. (2016). Optimization of enzymatic saccharification of *Chaetomorpha*

*linum* biomass for the production of macroalgae-based third generation bioethanol. AIMS Bioeng, 3, 400-411.

Nyonje, B., Mutia, G., Muthumbi, A., & Arori, M. (2019). Potential of seaweeds (*Hypnea cornuta* and *Hypnea musciformis*) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings diets.

Oktaviani, D. F., Nursatya, S. M., Tristiani, F., Faozi, A. N., Saputra, R. H., & Meinita, M. D. N. (2019, April). Antibacterial Activity From Seaweeds *Turbinaria ornata* and *Chaetomorpha antennina* Against Fouling Bacteria. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 255, No. 1, p. 012045). IOP Publishing.

Omont, A., Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Hernández-Herrera, R., & Peña-Rodríguez, A. (2020). Digestive microbiota of shrimp *Penaeus vannamei* and oyster *Crassostrea gigas* co- cultured in integrated multi-trophic aquaculture system. Aquaculture, 521, 735059.

Pallaoro, M. F., do Nascimento Vieira, F., & Hayashi, L. (2016). *Ulva lactuca* (Chlorophyta Ulvales) as co-feed for Pacific white shrimp. Journal of Applied Phycology, 28(6), 3659-3665.

Papa, L. P. (2007). Caracterização estrutural do sistema reprodutor masculino e do hepatotâncreas dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum* [Structural characterization of the male reproductive system and the hepatopancreas of the different morphotypes of *Macrobrachium amazonicum*]. Tese de Doutorado, Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 94 p.

Porchas-Cornejo, M. A., Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L. R., Ramos-Trujillo, L., & Barraza-Guardado, R. (2012). Consumption of natural and artificial foods by shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in ponds with and without enhancement of natural productivity. Isr. J. Aquacult.-Bamidgeh., IJA- 64.2012, 709(7).

Rajaram, V., Jannathulla, R., Ambasankar, K., & Dayal, J. S. (2022). Oxygen consumption in relation to nitrogen metabolism in Black tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798), fed fresh food and formulated feed. Aquaculture Research, 53(6), 2237-2248.

Ramaglia, A. C., de Castro, L. M., & Augusto, A. (2018). Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. Journal of Comparative Physiology B, 188(5), 729-738.

Ravichandran, P. (2012). Overview of *Litopenaeus vannamei* culture practice and importance of Govt. regulation measures. Management of emerging diseases of

shrimp with special reference to pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

Ren, J. S., Jin, X., Yang, T., Kooijman, S. A., & Shan, X. (2020). A dynamic energy budget model for small yellow croaker *Larimichthys polyactis*: Parameterisation and application in its main geographic distribution waters. *Ecological Modelling*, 427, 109051.

Rodríguez-González, H., Orduña-Rojas, J., Villalobos-Medina, J. P., García-Ulloa, M., Polanco-Torres, A., López-Álvarez, E. S., ... & Hernández-Llamas, A. (2014). Partial inclusion of *Ulva lactuca* and *Gracilaria parvispora* meal in balanced diets for white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Applied Phycology*, 26(6), 2453-2459.

Romero, O.Z., 1983. Distribucion de la energia en juveniles de *Penaeus brasiliensis* alimentados con dietas diferentes. *Rev. Cienc. Tecnol. Mar.* 7, 27– 45.

Sattanathan, G., Palanisamy, T., Padmapriya, S., Arumugam, V. A., Park, S., Kim, I. H., & Balasubramanian, B. (2020). Influences of dietary inclusion of algae *Chaetomorpha aerea* enhanced growth performance, immunity, haematological response and disease resistance of *Labeo rohita* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 17, 100353.

Schleder, D. D., Da Rosa, J. R., Guimarães, A. M., Ramlov, F., Maraschin, M., Seiffert, W. Q., ... & Andreatta, E. R. (2017). Brown seaweeds as feed additive for white-leg shrimp: effects on thermal stress resistance, midgut microbiology, and immunology. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2471-2477.

Shi, H., Zheng, W., Zhang, X., Zhu, M., & Ding, D. (2013). Ecological– economic assessment of monoculture and integrated multi-trophic aquaculture in Sanggou Bay of China. *Aquaculture*, 410, 172-178.

Song, X., Xu, Q., Zhou, Y., Lin, C., & Yang, H. (2017). Growth, feed utilization and energy budgets of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* with different diets containing the green tide macroalgae *Chaetomorpha linum* and the seagrass *Zostera marina*. *Aquaculture*, 470, 157-163.

Su, Y., Ma, S., & Feng, C. (2010). Effects of salinity fluctuation on the growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei* at different temperatures. *Journal of Crustacean Biology*, 30(3), 430-434.

Sudharaka, K. G. A., Munasinghe, D. H. N., & Guruge, W. A. H. P. (2021). Effect of *Ulva lactuca* and *Sargassum cinereum* supplemented diets on growth performance of Koi carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) fry in laboratory conditions. *Tropical*

Agricultural Research, 32(3), 358-367.

Taagepera, R. (2014). A world population growth model: Interaction with Earth's carrying capacity and technology in limited space. *Technological forecasting and social change*, 82, 34-41.

Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., & Thomas, J. (2014). Antioxidant and antibacterial activity of *Chaetomorpha antennina* against shrimp pathogen *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 433, 467-475.

Tsutsui, I., Miyoshi, T., Aue-umneoy, D., Songphatkaew, J., Meeanan, C., Klomkling, S., ... & Hamano, K. (2015a). High tolerance of *Chaetomorpha* sp. to salinity and water temperature enables survival and growth in stagnant waters of central Thailand. *International Aquatic Research*, 7(1), 47-62.

Tsutsui, I., Songphatkaew, J., Meeanan, C., Aue-umneoy, D., Sukchai, H., Pinphoo, P., ... & Hamano, K. (2015b). Co-culture with *Chaetomorpha* sp. enhanced growth performance and reduced feed conversion ratio of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *International Aquatic Research*, 7(3), 193-199.

Tsutsui, I., Aue-Umneoy, D., Pinphoo, P., Thuamsuwan, W., Janeauksorn, K., Meethong, G., ... & Hamano, K. (2020). Use of a filamentous green alga (*Chaetomorpha* sp.) and microsnail (*Stenothyra* sp.) as feed at an early stage of intensive aquaculture promotes growth performance, artificial feed efficiency, and profitability of giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). *PloS one*, 15(12), e0244607.

Verdian, A. H., Effendi, I., Budiardi, T., & Diatin, I. (2020). Production performance improvement of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture with integrated multi trophic aquaculture system in Seribu Islands, Jakarta, Indonesia. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(3), 1415-1427.

Verri, T., Mandal, A., Zilli, L., Bossa, D., Mandal, P. K., Ingrosso, L., ... & Storelli, C. (2001). D-glucose transport in decapod crustacean hepatopancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130(3), 585-606.

Xue, S., Ding, J., Li, J., Jiang, Z., Fang, J., Zhao, F., & Mao, Y. (2021). Effects of live, artificial and mixed feeds on the growth and energy budget of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 19, 100634.

Yu, Y. Y., Chen, W. D., Liu, Y. J., Niu, J., Chen, M., & Tian, L. X. (2016). Effect of different dietary levels of *Gracilaria lemaneiformis* dry power on growth performance, hematological parameters and intestinal structure of juvenile Pacific

white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture, 450, 356-362.

Zhang, P., Zhang, X., Li, J., & Gao, T. (2009). Effect of salinity on survival, growth, oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture research, 40(12), 1419-1427.

## **Aquicultura Integrada no Horizon 2020: Fisiologia de *Litopenaeus vannamei* e *Crassostrea gasar* cultivados em Sistema Multitrófico Orgânico**

### **RESUMO**

O Sistema Multitrófico Integrado (IMTA) tem se destacado por promover diversos benefícios econômicos e ambientais, podendo refletir no bem-estar dos organismos cultivados. Dentre diversos fatores que podem influenciar o crescimento, fisiologia e bem-estar dos animais, a alteração do tipo de cultivo bem como a introdução de novos organismos podem gerar fisiológicas. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi comparar a fisiologia do camarão *L. vannamei* cultivado em Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado com ostras (*C. gasar*) e algas (*Ulva sp.*), a fisiologia das ostras também foi avaliada. O experimento foi realizado na Fazenda PRIMAR Orgânica, localizada em Tibau do Sul – RN, com duração de 58 dias. Foram utilizados 8 cercados de 9m<sup>2</sup> divididos em dois tratamentos: a) M8: Monocultivo do camarão *L. vannamei* na densidade de 8 camarões/m<sup>2</sup>; b) IMTA8: Cultivo integrado do camarão *L. vannamei* na densidade de 8 camarões/m<sup>2</sup> com alga (*Ulva sp.*) e ostra (*C. gasar*). Após a despesca, 7 indivíduos de cada tratamento foram selecionados (N=7), e o consumo de oxigênio foi avaliado em câmara respirométrica fechada. Ao final, amostras de água foram coletadas para a análise de excreção de amônia e excreção de fósforo. O consumo de oxigênio individual e o crescimento dos camarões em Monocultivo foi cerca de 27 e 31%, respectivamente, maior que em Sistema Multitrófico Integrado. No entanto o consumo de oxigênio massa-específica e a excreção de amônia e fósforo não apresentaram diferenças significativas. Nossos resultados mostraram que poucos parâmetros fisiológicos aqui avaliados foram afetados pelo tipo de cultivo, embora o crescimento dos animais mantidos em Sistema Multitrófico Integrado tenha sido menor o bem-estar dos animais não parece ter sido comprometido. Sendo assim, a implementação do Sistema Multitrófico Integrado pode ser uma alternativa promissora e que agrega maior por sustentabilidade ambiental, econômica e social ao cultivo.

Palavras-chave: Fisiologia, Bem-estar, Camarão, Ostra



## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores que mais cresce no mundo (FAO, 2020). Em 2018, a produção aquícola foi de aproximadamente 114,5 milhões de toneladas, totalizando cerca de US \$263,6 bilhões (FAO, 2020). Dentre os organismos mais cultivados, destaca-se o camarão *L. vannamei*, que nesse mesmo ano totalizou cerca de 500 mil toneladas, e cerca de 52,9% do total de crustáceos produzidos no mundo (FAO, 2020).

Assim como outras atividades, a aquicultura está suscetível a originar diferentes impactos ambientais como por exemplo, a eutrofização (Granada et al., 2016). Sendo assim, são necessárias pesquisas que busquem alternativas para otimizar a produção de maneira mais sustentável. O Monocultivo é definido pelo cultivo de apenas uma espécie, enquanto o Policultivo é a criação de mais de uma espécie em um ambiente compartilhado, sem que exista competição entre elas (Glossário FAO, 2020). No Policultivo, a mitigação ambiental não é considerada um fator relevante (Biswas et al., 2020). Nesse sentido, atualmente, tem-se destacado o Sistema Multitrófico Integrado, como alternativa ao modelo de produção tradicional (Monocultivo) por agregar sustentabilidade ambiental, econômica e social.

No Sistema Multitrófico Integrado os organismos cultivados pertencem a diferentes níveis tróficos, com funções complementares (Shi et al., 2013; Johnson et al., 2019). Este tipo de sistema usa proporções e densidades de estocagem no cultivo de tal forma que seja mantido o equilíbrio no ambiente (Boyd et al., 2020). Espécies alvos como peixes ou camarões são alimentadas e cultivadas com espécies extrativas orgânicas (animais que se alimentam de matéria orgânica em suspensão ou comedoras de depósito como ostras e mexilhões) e/ou espécies extrativas inorgânicas (micro ou macroalgas) (Granada et al., 2016; Buck et al., 2018 Johnson et al., 2019; Nardelli et al., 2019). A escolha dos organismos a serem cultivados depende de diversos fatores como condições biológicas, climáticas e sociais (Johnson et al., 2019), e devem ser economicamente viáveis como produtos para a aquicultura (Shah et al., 2017).

O cultivo de mais de uma espécie em Sistema Multitrófico Integrado pode colaborar com a aceitação social da aquicultura, que em geral é vista negativamente como uma atividade que degrada o meio ambiente, pode gerar empregos adicionais e diversificação de produtos, trazendo maior lucratividade ao produtor, além de

aumentar a resiliência do cultivo frente a surtos de doenças ou variações nos preços de mercado (Troell et al., 2009; Correia et al., 2020). Além dessas vantagens econômicas, o Sistema Multitrófico, contribui na redução de custos adicionais com biorremediação (Troell et al., 2009), uma vez existe a reciclagem de nutrientes que não são aproveitados durante a produção e que seriam perdidas no sistema e liberadas no efluentes (Troell et al., 2009; Granada et al., 2016, Granada et al., 2018).

Nos sistemas tradicionais de aquicultura, os restos de alimentos não consumidos, excretas metabólicas e fezes causam o enriquecimento orgânico da água, devido principalmente ao nitrogênio e ao fósforo (Granada et al., 2018). Esses nutrientes são necessários para o crescimento de animais aquáticos (Wu & Yang, 2010). Uma parcela é assimilada pelos organismos cultivados, no entanto, o excedente permanece acumulado no sedimento e coluna d'água (Bueno et al., 2008; Flickinger et al., 2019; Flickinger et al., 2020). Em abundância, contribuem para o aumento da produtividade primária, que por sua vez, podem gerar eutrofização (Marinho-Soriano et al. 2011; Kawasaki et al., 2016; Muqsith et al., 2019). Portanto, no Sistema Multitrófico Integrado as espécies extrativas orgânicas e inorgânicas podem contribuir para a biorremediação e tratamento do efluente.

Embora o bem-estar animal dos animais cultivados raramente esteja associado à sustentabilidade dos sistemas de cultivo, tal conceito é legítimo e boas práticas devem ser levadas em consideração porque melhoram a qualidade de vida dos animais, asseguram o cumprimento de leis ambientais e de manejo, além de aumentar a produtividade e o lucro econômico. Portanto, a geração de dados sobre as espécies sujeitas a diferentes sistemas de cultivo é importante porque contribui para o conhecimento sobre os impactos da aquicultura na biologia destas espécies e para a criação de indicadores de sustentabilidade relacionados ao bem-estar animal. Nesse sentido, informações sobre a biologia das espécies, principalmente repertórios comportamentais e fisiológicos, são de extrema importância porque são os primeiros parâmetros afetados. A qualidade da água está diretamente relacionada ao bem-estar dos animais. O bem-estar pode ser classificado de acordo com cinco princípios, são eles: 1) Nutricional, 2) Ambiental, 3) Saúde, 4) Comportamental e 5) Atividade mental satisfatória (Mellor & Reid, 1994; Albalat et al., 2022). Nesse sentido, avaliações de parâmetros fisiológicos podem ser utilizados como ferramenta para verificar o bem-estar dos organismos aquáticos cultivados (Weineck et al., 2018), visto que a análise do comportamento, dor e sofrimento em ambiente aquático é mais difícil (Abalat et al.,

2022). Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi comparar uma malha de processos fisiológicos (consumo de oxigênio, excreção de amônia excreção de fósforo e o substrato oxidado) do camarão *L. vannamei* cultivado em Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado com ostras (*C. gasar* e algas (*Ulva sp.*). A fisiologia das ostras também foi avaliada.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização da Fazenda Orgânica Primar e dos Viveiros Experimentais

Os cultivos foram realizados de abril a junho de 2021 na Fazenda PRIMAR Orgânica, localizada em Tibau do Sul, Rio Grande do Norte, Brasil (-6.225267005366811, -35.139179952868275). A fazenda possui cerca de 40 hectares, ao longo de 9 viveiros, 1 viveiro com bacia de decantação e um canal de abastecimento, dividido em 3 partes, e fica em uma área de manguezal. No experimento foram utilizados 8 cercados circulares de 9m<sup>2</sup>, instalados em um único viveiro de carcinicultura de aproximadamente 0,32 ha (C3 – Figura 1). Os cercados foram dispostos de forma aleatória dentro do viveiro (Figura 2).

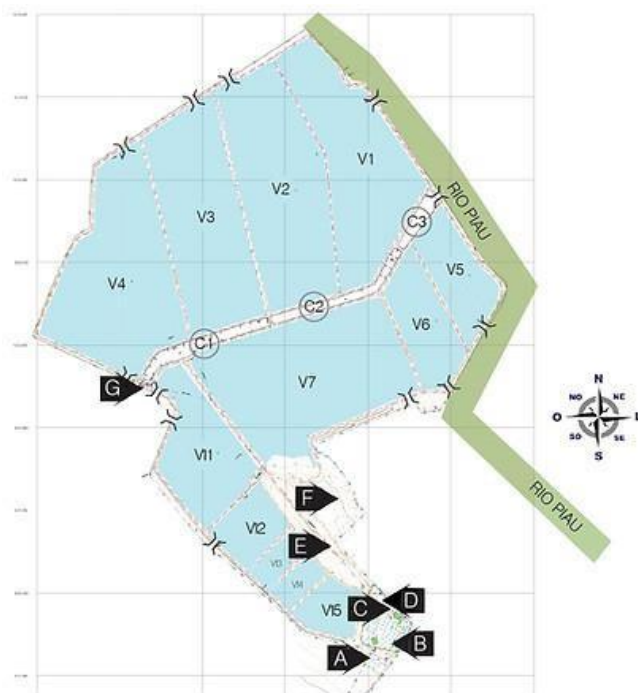


Figura 1. Esboço dos viveiros presentes na fazenda PRIMAR Orgânica.



Figura 2. Disposição dos cercados circulares em viveiro na fazenda PRIMAR Orgânica.

## 2.2 Delineamento Experimental

O experimento foi realizado utilizando dois tratamentos e quatro réplicas de cada um, sendo:

- 1) M8: Monocultivo do camarão *L. vannamei* na densidade de 8 camarões/m<sup>2</sup>
- 2) IMTA8: Cultivo integrado do camarão *L. vannamei* na densidade de 8 camarões/m<sup>2</sup> com alga (*Ulva sp.*) e ostra (*C. gasar*)

A densidade das ostras foi de 56 ind/travesseiro flutuante. O experimento teve duração de dois meses. As algas foram cultivadas em 4 ciclos de 15 dias. A densidade de estocagem das algas foi de 360g por cercado. O peso inicial dos camarões foi de 0,004g e das ostras era de 15,49g. A temperatura, salinidade, condutividade e concentração de oxigênio foram medidos em dias alternados com um equipamento multiparâmetro (AKSO, AK88). Durante o experimento os camarões não foram arraçados.

Após 58 dias de cultivo, os animais foram despescados utilizando o método de arrasto. Foram selecionados 7 indivíduos de cada espécie (*L. vannamei* e *C. gasar*) e de cada tratamento para avaliação dos parâmetros fisiológicos no Laboratório de Depuração de Ostras, na Fazenda Primar Orgânica.

## 2.3 Crescimento

Ao final da despesca, todos os animais (*L. vannamei* e *C. gasar*) foram pesados em balança analítica.

## 2.4 Avaliação do Metabolismo, Amônia e Fósforo

Para avaliação do consumo de oxigênio, os camarões e ostras foram aclimatados por 30 minutos em câmaras respirométricas de vidro com capacidade de 1500mL, contendo água em salinidade 29 ppt (salinidade média dos cercados) e aeração. Este período de aclimação é importante para reduzir o estresse adquirido durante a captura dos animais (Augusto & Valenti, 2016; Ramaglia et al., 2018). As câmaras respirométricas para avaliação do consumo de oxigênio por camarões e ostras foram equipadas com oxímetro e monitor (Analyser, MP516). Após o período inicial de aclimação, a aeração foi retirada das câmaras e foi feita uma medida inicial da concentração de oxigênio, posteriormente, as câmaras foram fechadas. Após 90 minutos foi realizada uma nova medida. Em todos os experimentos foram feitos brancos em câmaras respirométricas sem animais, seguindo as mesmas condições experimentais. O consumo de oxigênio foi determinado pela diferença na concentração de oxigênio dentro das câmaras no início e final do experimento.

A excreção de amônia e fósforo pelos animais foi medida a partir de amostras de água obtidas das câmaras respirométricas no final de cada experimento do consumo de oxigênio. Variações na concentração amônia e fósforo foram calculadas pela diferença entre os valores obtidos nas amostras e nos controles (câmaras sem animais). As concentrações de amônia (Verdouw et al., 1977) e fósforo (APHA, 2017) foram determinadas por colorimetria. O consumo de oxigênio e a excreção de amônia e fósforo foram expressos como massa seca específica ( $\mu\text{g. mg ms}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e  $\text{mg. g ms}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ). Os dados fisiológicos da ostra *C. gasar* foram obtidos utilizando o peso total, incluindo a concha.

## 2.5 Avaliação do Tipo de Substrato Energético Oxidado

O principal substrato energético oxidado foi determinado pela relação atômica O/N dividindo-se a quantidade de oxigênio consumido pela excreção de nitrogênio excretado (Mayzaud & Conover, 1988). Taxas entre 3 e 16 indicam a oxidação predominante de proteínas; valores entre 17 e 60 indicam uma mistura de proteínas e lipídios e taxas maiores que 60 indicam o uso de lipídios (Mayzaud & Conover, 1988).

## 2.6 Análise Estatística

Após verificar a normalidade de distribuição e igualdade de variância dos dados foram feitas Teste-T seguido pelo teste de médias múltiplas de Student- Newman-Keuls (SNK) para localizar as médias estatisticamente diferentes. As análises foram feitas usando-se o programa Sigma Stat 3.5 e empregando-se um nível mínimo de significância de  $P = 0,05$ .

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Crescimento, Consumo de Oxigênio e Excreções de Amônia e Fósforo de *L. vannamei* e *C. gasar*

O crescimento dos camarões e das ostras são mostrados na Figura 4. Foi visto que o crescimento de *L. vannamei* cultivado em Monocultivo foi cerca de 31% maior que em Sistema Multitrófico Integrado (Figura 3, Tabela 1).

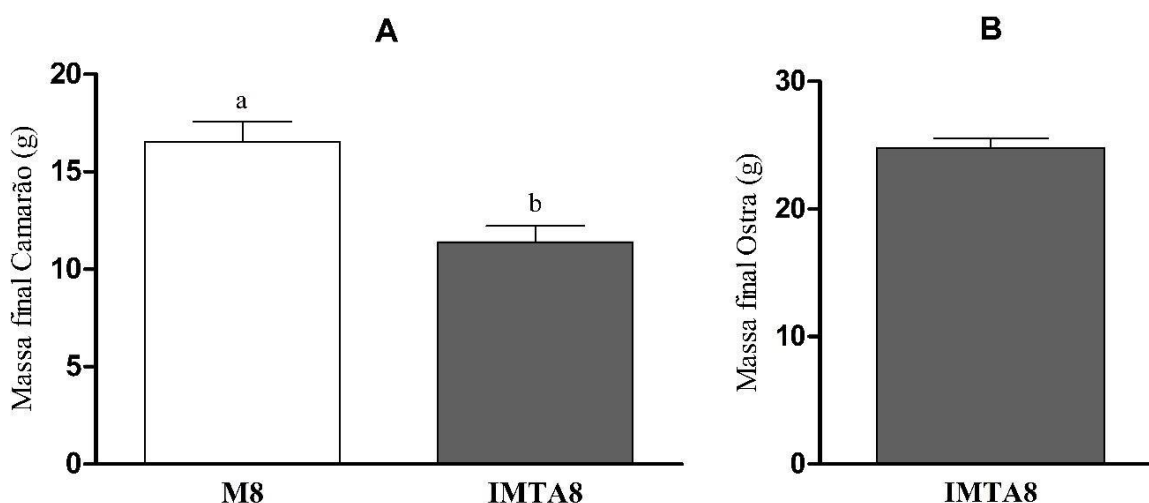


Figura 3: A: Massa corporal final do camarão *L. vannamei* cultivado em Sistema de

Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado. B: Massa corporal final da ostra C. *gasar* cultivada com o camarão.

Os dados de consumo de oxigênio, excreção de amônia e excreção de fósforo de *L. vannamei* e *C. gasar* individuais são mostrados na Tabela 1 e os dados de massa seca específicos nas Figuras 4,5 e 6. O consumo de oxigênio individual nos camarões em Monocultivo foi cerca de 27% maior que em Sistema Multitrófico Integrado. A excreção de amônia e excreção de fósforo individual não apresentaram diferenças estatísticas. O principal substrato oxidado pelos camarões em ambos os tratamentos e pela ostra foi proteína. Foi observado que os dados em massa seca específicos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 1. Taxas diárias de respiração (R), excreção (U), (P) excreção de fósforo e relação O/N do camarão *L. vannamei* cultivado em Sistema de Monocultivo (M8) ou Sistema Multitrófico Integrado (IMTA8) e da ostra *C. gasar* cultivada com o camarão. Os dados são apresentados como Média  $\pm$  Erro Padrão.

| <i>L. vannamei</i>                                             | M8                            | IMTA8                         |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Ganho de Massa (g)                                             | 16,53 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup> | 11,39 $\pm$ 0,84 <sup>b</sup> |
| R (mg O <sub>2</sub> ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )     | 66,83 $\pm$ 4,36 <sup>a</sup> | 49,00 $\pm$ 4,48 <sup>b</sup> |
| U (mg NH <sub>3</sub> -N ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) | 3,12 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>  | 2,43 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>  |
| P (mg P ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )                  | 0,55 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>  | 0,26 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>  |
| O:N                                                            | 10,10 $\pm$ 1,33 <sup>a</sup> | 9,03 $\pm$ 1,24 <sup>a</sup>  |
| <i>C. gasar</i>                                                |                               |                               |
| R (mg O <sub>2</sub> ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )     | -                             | 16,39 $\pm$ 1,28              |
| U (mg NH <sub>3</sub> -N ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) | -                             | 0,86 $\pm$ 0,03               |
| P (mg P ind <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )                  | -                             | 0,09 $\pm$ 0,01               |
| O:N                                                            | -                             | 11,20 $\pm$ 0,74              |
| Ganho de Massa (g)                                             |                               | 9,3                           |

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

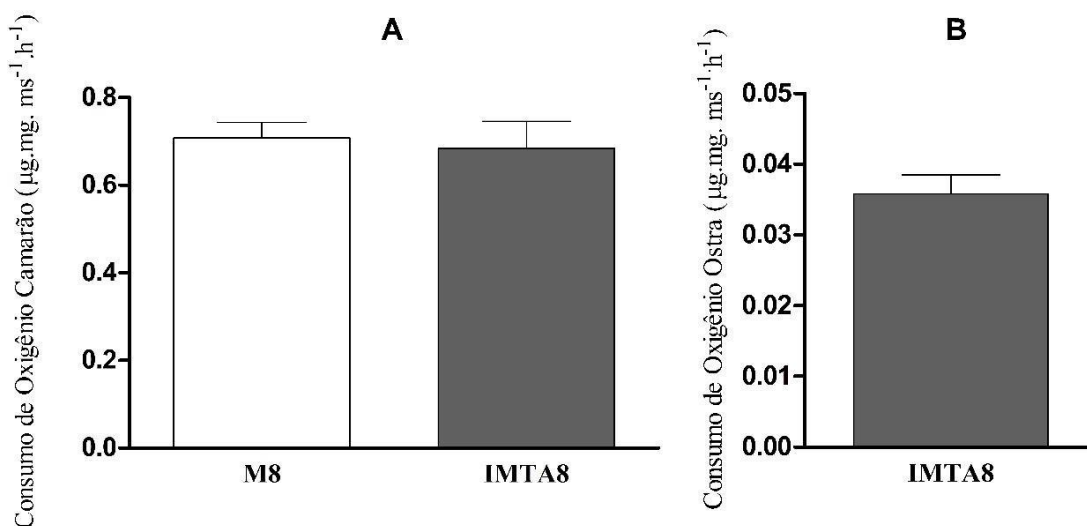


Figura 4. A: Consumo de Oxigênio massa-específica (μg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) do camarão *L. vannamei* cultivado em Sistema de Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado. B: Consumo de Oxigênio massa-específica (μg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) da ostra *C. gasar* cultivada com o camarão.

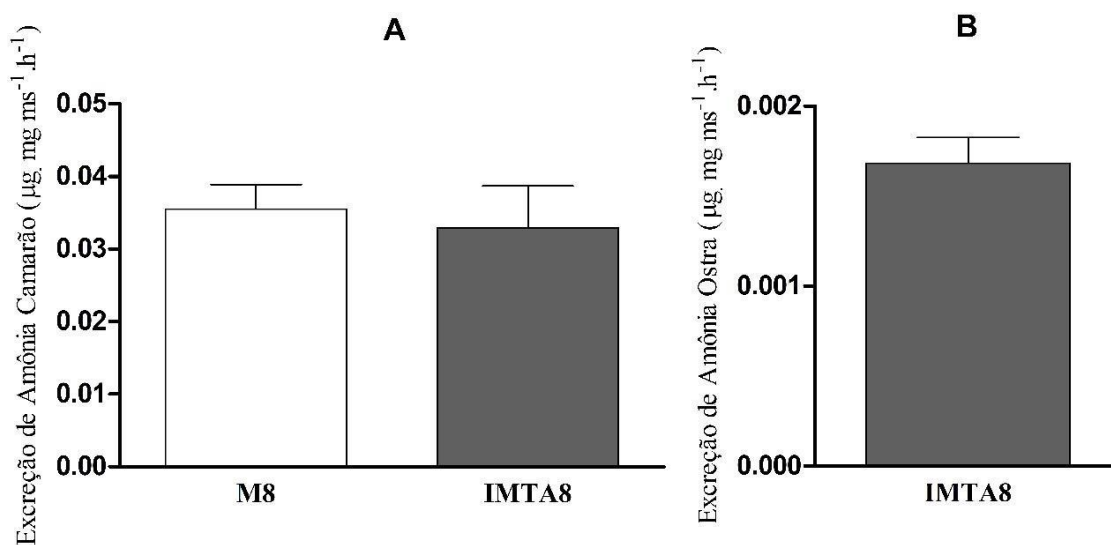


Figura 5. A: Excreção de Amônia massa-específica (μg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) do camarão *L. vannamei* cultivado em Sistema de Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado. B: Excreção de Amônia massa-específica (μg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) da ostra *C. gasar* cultivada com o camarão.



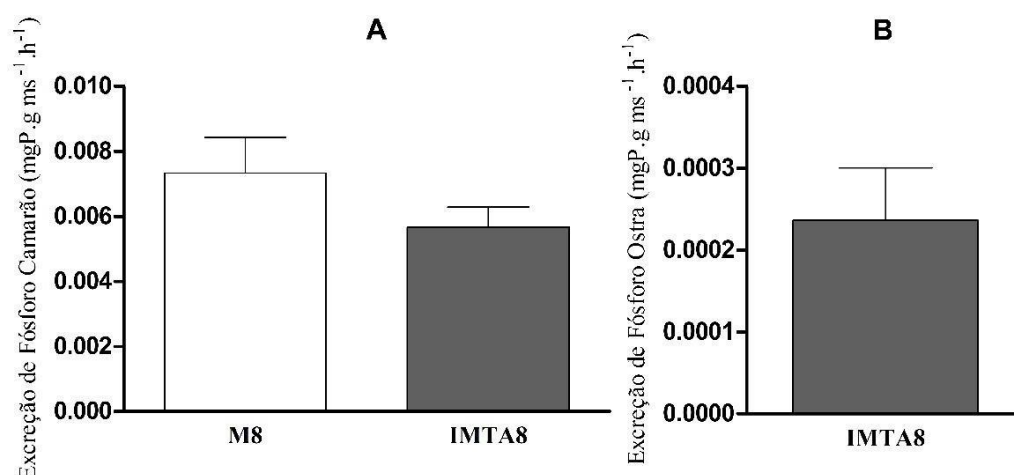


Figura 6. A: Excreção de Fósforo massa-específica (mg.g ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) do camarão *L. vannamei* cultivado em Sistema de Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado. B: Excreção de Fósforo massa-específica (mg.g ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) da ostra *C. gasar* cultivada com o camarão.

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo observamos que camarões cultivados em Sistema de Monocultivo cresceram 31% a mais que aqueles cultivados em Sistema Multitrófico Integrado. No entanto, os dados fisiológicos dos camarões (consumo de oxigênio, excreção de amônia e excreção de fósforo) não foram afetados pelo tipo de cultivo. Portanto, embora o crescimento seja maior em Monocultivo, o Sistema Multitrófico Integrado não afeta parâmetros importantes da fisiologia da espécie alvo e que poderiam estar relacionados com a energética, metabolismo e estresse dos animais. Durante o experimento, a ostra *C. gasar* apresentou um crescimento acelerado. Em aproximadamente 58 dias de cultivo o ganho de massa foi de 9,3g (Tabela 1). Legat et al (2017), mostraram que variações na maré podem afetar o crescimento das ostras cultivadas, uma vez que o tempo de alimentação pode ser limitado, refletindo em seu crescimento. Nesse sentido, a elevada taxa de crescimento pode estar relacionada com o fato da *C. gasar* ter sido mantida submersa, próxima a superfície, durante todo o experimento.

O crescimento é definido pela energia obtida e armazenada como reserva corporal nos organismos vivos (Mantoan et al., 2021), sendo caracterizado pelo aumento da massa dos tecidos durante a vida (Moloney & McGee, 2023). Diversos fatores podem alterar o crescimento, por exemplo, a salinidade (Khanjani et al., 2020),

a temperatura (Yan et al., 2007), pH (Yu et al., 2020), densidade de estocagem (Sookying et al., 2011), dieta (Mantoan et al., 2021), entre outros. Em *L. vannamei*, o ganho de massa pode variar de 3,68 a 11,2g (Harter et al., 2011; Huang et al., 2022), sendo conhecido como um camarão com rápida taxa de crescimento (Madusari et al., 2022). Aqui observamos que a diferença de 31% do crescimento entre Monocultivo e Sistema Multitrófico Integrado pode estar relacionado com a introdução de uma nova espécie no cultivo, pois é possível que tenha afetado a disponibilidade e/ou diversificação de alimentos presentes nos cercados. Em outros estudos utilizando *L. vannamei* como espécie alvo, foi visto que, a integração com tilápia *Oreochromis niloticus* não alterou o crescimento do camarão (Muangkeow et al., 2007), no entanto, em Sistema Multitrófico Integrado com *Crassostrea gigas*, *L. vannamei* cresceu cerca de 10% a mais que Monocultivo (Omont et al., 2020). Entretanto, a taxa de crescimento de *L. vannamei* cultivado com *Crassostrea* sp. está relacionada com a densidade de estocagem das ostras (Lima et al., 2021).

O consumo de oxigênio é utilizado como medida para aferir o metabolismo dos animais. Em crustáceos, as trocas gasosas entre o meio externo e o animal é regulado através das brânquias (Freire et al., 2008), assim como em moluscos bivalves (Dame & Kenneth, 2011). Sabe-se que diversas variáveis como a temperatura, pH, salinidade, dieta e densidade de estocagem podem alterar o metabolismo (Su et al., 2010; Ramaglia et al., 2018, Mantoan et al., 2021), assim como a introdução de novos organismos e o aumento da quantidade de indivíduos mantidos no mesmo espaço, pois podem gerar estresse e mudanças na homeostase (Abbalat et al., 2022). Nossos dados mostraram o consumo de oxigênio individual foi menor nos camarões em Sistema de Cultivo Multitrófico Integrado. Bett & Vinatea (2009) mostraram que o consumo de oxigênio pode variar entre 2,16 e 105 mgO<sub>2</sub> ind<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> quando expostos em diferentes estressores. Em relação ao consumo de oxigênio de massa seca específica em *L. vannamei* (~0,7 µg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), não houve alteração quando cultivado em Monocultivo ou Sistema Multitrófico Integrado. Dados da literatura mostram que o consumo de oxigênio em *L. vannamei* pode variar entre 0,8 e 1,6 µg.mg m<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> (Comoglio et al., 2004; Han et al., 2022). O consumo de oxigênio da ostra *C. gasar* foi de 0,036 µg.mg ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, resultado semelhante foi observado em *Mulinia lateralis* exposto a diferentes temperaturas, apresentando cerca de 0,007 a 4 µg.mg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> (Kennedy & Mihursky, 1972). No entanto, em *Tegillarca granosa* o consumo de oxigênio foi maior, sendo cerca de 2,5 µg.mg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> (Zhao et al., 2017) e

em *Cardium edule*, 0,35 a 0,89  $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$  (Newell & Bayne, 1980). Porém é importante salientar que o consumo de oxigênio em *C. gasar* neste estudo foi mensurado utilizando o corpo todo do animal, incluindo a concha.

A principal fonte de enriquecimento orgânico da água na aquicultura vem de restos de alimentos não consumidos, seguido por fezes e excretas metabólicas (Granada et al., 2016). Por exemplo, em bivalves, esses resíduos são diversas formas de carbono, silício, nitrogênio e fósforo (Dame & Kenneth, 2011). Na fazenda PRIMAR Orgânica, os animais não são arraçoados. A alimentação se dá através do consumo de restos de plantas, detritos e pequenos invertebrados, sendo assim, o nitrogênio e fósforo estão associados a mecanismos fisiológicos dos organismos ali presentes e ao ciclo biogeoquímico do próprio ambiente.

A amônia é o principal produto excretado em animais aquáticos (Freire et al., 2008). Aqui, não foi observado diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos de camarão. Foi visto que para *L. vannamei* são encontrados valores de 0,08 (Comoglio et al., 2004) a 0,1  $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$  (Han et al., 2022). Aqui observamos um valor mais alto, cerca de 0,3  $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . A excreção nitrogenada está diretamente relacionada com o metabolismo nos organismos, sendo assim, diversos fatores podem influenciar a taxa de excreção, como por exemplo, a salinidade, temperatura, quantidade e tipo de alimento (Renault, 1987). Em bivalves a amônia corresponde a cerca de 37 a 78% de produtos metabólicos nitrogenados excretados (Dame & Kenneth, 2011). Neste estudo foi observado uma taxa de 0,3  $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . Valor semelhante foi encontrado no bivalve *Tegillarca granosa*, correspondendo a cerca de 0,1 e 0,3  $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$  (Zhao et al., 2017).

Durante o cultivo, o fósforo é encontrado na forma orgânica e inorgânica (Shimoda et al., 2005). Os animais conseguem esse nutriente através da alimentação (Beerstecher, 1952; Cheng et al., 2006). Uma parcela do fósforo ingerido é liberada diretamente através das fezes, outra parte é absorvida, metabolizada e retida nos tecidos, entretanto, o excedente é excretado (Zhu et al., 2016). Neste estudo observamos valores de 0,006 a 0,007  $\text{mg}.\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  para *L. vannamei* e 0,0002  $\text{mg}.\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  para *C. gasar*. De forma geral, a introdução de novas espécies no cultivo poderia contribuir com a quantidade de carga de nutrientes na água, o que poderia ser prejudicial ao ambiente. No entanto, foi visto que a filtração das ostras (*Saccostrea commercialis*) pode contribuir para a redução da quantidade total de nitrogênio e fósforo em 28 e 14%, respectivamente (Jones & Preston, 2011), convertendo o

excesso de nutrientes em biomassa (Chary et al., 2020). Enquanto a integração com macroalga, *U. lactuca*, removeu cerca de 80% de compostos nitrogenados e 64% de fosfatos em comparação ao tratamento sem troca de água (Elizondo- González et al., 2018).

## 5. CONCLUSÃO

Concluimos que a maioria dos parâmetros fisiológicos aqui avaliados não foram afetados pelo tipo de cultivo, embora o crescimento dos animais mantidos em Sistema Multitrófico Integrado tenha sido menor o bem-estar dos animais não demonstrou indicativos negativos. Sendo assim, a implementação do Sistema Multitrófico Integrado parece ser promissora por todos os outros benefícios que a integração de espécies extrativas orgânicas e inorgânicas, como por exemplo, ostras e algas, poderiam fornecer ao sistema, aumentando a sustentabilidade ambiental, econômica e social. Além disso, esses dados poderão ser utilizados para estimar a carga total e capacidade de suporte do sistema para oxigênio, amônia e fósforo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA (2017). Standard methods for the examination of water and waste water, 23st edn. American Public Health Association, Washington, DC.

Albalat, A., Zacarias, S., Coates, C. J., Neil, D. M., & Planellas, S. R. (2022). Welfare in farmed decapod crustaceans, with particular reference to *Penaeus vannamei*. *Frontiers in Marine Science*, 677.

Augusto, A., & Valenti, W. C. (2016). Are There Any Physiological Differences between the Male Morphotypes of the Freshwater Shrimp *Macrobrachium Amazonicum* (Caridea: Palaemonidae)?. *Journal of Crustacean Biology*, 36(5), 716-723.

Beerstecher Jr, E. (1952). The nutrition of the Crustacea. *Vitamins & Hormones*, 10, 69-77.

Bett, C., & Vinatea, L. (2009). Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57, 305-314.

Biswas, G., Kumar, P., Ghoshal, T. K., Kailasam, M., De, D., Bera, A., ... &

Vijayan, K. K. (2020). Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) outperforms conventional polyculture with respect to environmental remediation, productivity and economic return in brackishwater ponds. *Aquaculture*, 516, 734626.

Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., ... & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633.

Buck, B. H., Troell, M. F., Krause, G., Angel, D. L., Grote, B., & Chopin, T. (2018). State of the art and challenges for offshore integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Frontiers in Marine Science*, 5, 165.

Bueno, G. W., Marengoni, N. G., Júnior, A. C. G., Boscolo, W. R., & de Almeida Teixeira, R. (2008). Estado trófico e bioacumulação do fósforo total no cultivo de peixes em tanques-rede na área aquícola do reservatório de Itaipu. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 30(3), 237-243.

Chary, K., Aubin, J., Sadoul, B., Fiandrino, A., Covès, D., & Callier, M. D. (2020). Integrated multi-trophic aquaculture of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and sea cucumber (*Holothuria scabra*): assessing bioremediation and life-cycle impacts. *Aquaculture*.

Cheng, K. M., Hu, C. Q., Liu, Y. N., Zheng, S. X., & Qi, X. J. (2006). Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. *Aquaculture*, 251(2-4), 472-483.

Comoglio, L. I., Gaxiola, G., Roque, A., Cuzon, G., & Amin, O. (2004). The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), 243-249.

Correia, M., Azevedo, I. C., Peres, H., Magalhães, R., Oliva-Teles, A., Almeida, C. M. R., & Guimarães, L. (2020). Integrated multi-trophic aquaculture: a laboratory and hands-on experimental activity to promote environmental sustainability awareness and value of aquaculture products. *Frontiers in Marine Science*, 7, 156.

Dame, R. F., & Kennen, M. J. (2011). Ecology of marine bivalves: an ecosystem approach (p. 284). Taylor & Francis.

Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Magallón-Servín, P., & Peña-Rodríguez, A. (2018). Use of seaweed *Ulva lactuca* for water

bioremediation and as feed additive for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. PeerJ, 6, e4459.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.

Flickinger, D. L., Dantas, D. P., Proença, D. C., David, F. S., & Valenti, W. C. (2019). Phosphorus in the culture of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in monoculture and in integrated multitrophic systems. Journal of the World Aquaculture Society.

Flickinger, D. L., Dantas, D. P., Proença, D. C., David, F. S., & Valenti, W.C. (2020). Phosphorus in the culture of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in monoculture and in integrated multitrophic systems. Journal of the World Aquaculture Society, 51(4), 1002-1023.

Freire, C. A., Onken, H., & McNamara, J. C. (2008). A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 151(3), 272-304.

Granada, L., Sousa, N., Lopes, S., & Lemos, M. F. (2016). Is integrated multitrophic aquaculture the solution to the sectors' major challenges? A review. Reviews in Aquaculture, 8(3), 283-300.

Granada, L., Lopes, S., Novais, S. C., & Lemos, M. F. (2018). Modelling integrated multi-trophic aquaculture: Optimizing a three trophic level system. Aquaculture, 495, 90-97.

Han, Y., Shi, W., Tang, Y., Zhou, W., Sun, H., Zhang, J., ... & Liu, G. (2022). Microplastics and bisphenol A hamper gonadal development of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by interfering with metabolism and disrupting hormone regulation. Science of The Total Environment, 810, 152354.

Harter, T., Buhrke, F., Kumar, V., Focken, U., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2011). Substitution of fish meal by *Jatropha curcas* kernel meal: effects on growth performance and body composition of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Nutrition, 17(5), 542-548.

Jones, A. B., Dennison, W. C., & Preston, N. P. (2001). Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. Aquaculture, 193(1-2), 155-178.

Johnson, B., Nazar, A. K. A., Jayakumar, R., Tamilmani, G., Sakthivel, M., Ramesh Kumar, P., ... & Sankar, M. (2019). Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA): A technology for uplifting rural economy and bio-mitigation for environmental sustainability. *Aquaculture Spectrum*, 2(5), 9-18.

Kawasaki, N., Kushairi, M. R. M., Nagao, N., Yusoff, F., Imai, A., & Kohzu, A. (2016). Release of nitrogen and phosphorus from aquaculture farms to Selangor River, Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*, 7(2), 113.

Kennedy, V. S., & Mihursky, J. A. (1972). Effects of temperature on the respiratory metabolism of three Chesapeake Bay bivalves. *Chesapeake Science*, 13(1), 1-22.

Khanjani, M. H., Sharifinia, M., & Hajirezaee, S. (2020). Effects of different salinity levels on water quality, growth performance and body composition of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultured in a zero water exchange heterotrophic system. *Annals of Animal Science*, 20(4), 1471- 1486.

Huang, H. H., Liao, H. M., Lei, Y. J., & Yang, P. H. (2022). Effects of different carbon sources on growth performance of *Litopenaeus vannamei* and water quality in the biofloc system in low salinity. *Aquaculture*, 546, 737239.

Legat, J. F. A., A. P., Fogaça, F. D. S., Tureck, C. R., Suhnel, S., & de Melo, C. M. R. (2017). Growth and survival of bottom oyster *Crassostrea gasar* cultured in the Northeast and South of Brazil. *Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

Lima, P. C. M., Silva, A. E. M., Silva, D. A., Silva, S. M. B. C., Brito, L. O., & Gálvez, A. O. (2021). Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. *Aquaculture*, 530, 735913.

Madusari, B. D., Ariadi, H., & Mardhiyana, D. (2022). Effect of the feeding rate practice on the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation activities. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation-International Journal of the Bioflux Society*, 15(1), 473-479.

Marinho-Soriano, E., Azevedo, C. A. A., Trigueiro, T. G., Pereira, D. C., Carneiro, M. A. A., & Camara, M. R. (2011). Bioremediation of aquaculture wastewater using macroalgae and *Artemia*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1), 253-257.

Mantoan, P., Ballester, E., Ramaglia, A. C., & Augusto, A. (2021). Diet

containing 35% crude protein improves energy balance, growth, and feed conversion in the Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*. Aquaculture Reports, 21, 100962.

Mayzaud, P. and Conover, R.J. 1988. O:N ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. Marine Ecology Progress Series, 45: 289-302.

Mellor, D. J., & Reid, C. S. W. (1994). Concepts of animal well-being and predicting the impact of procedures on experimental animals.

Moloney, A. P., & McGee, M. (2023). Factors influencing the growth of meat animals. In Lawrie's Meat Science (pp. 21-49). Woodhead Publishing.

Muangkeow, B., Ikejima, K., Powtongsook, S., & Yi, Y. (2007). Effects of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., stocking density on growth, nutrient conversion rate and economic return in integrated closed recirculation system. Aquaculture, 269(1-4), 363-376.

Muqsith, A., Harahab, N., Mahmudi, M., & Fadjar, M. (2019, July). The estimation of loading feed nutrient waste from *vannamei* shrimp aquaculture pond and carrying capacity of coastal area in Banyuputih sub-district Situbondo Regency. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2120, No. 1, p. 040037). AIP Publishing LLC.

Nardelli, A. E., Chiozzini, V. G., Braga, E. S., & Chow, F. (2019). Integrated multi-trophic farming system between the green seaweed *Ulva lactuca*, mussel, and fish: a production and bioremediation solution. Journal of Applied Phycology, 31(2), 847-856.

Newell, R. I. E., & Bayne, B. L. (1980). Seasonal changes in the physiology, reproductive condition and carbohydrate content of the cockle *Cardium* (= Cerastoderma) *edule* (Bivalvia: Cardiidae). Marine Biology, 56(1), 11- 19.8

Omont, A., Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Hernández-Herrera, R., & Peña-Rodríguez, A. (2020). Digestive microbiota of shrimp *Penaeus vannamei* and oyster *Crassostrea gigas* co- cultured in integrated multi-trophic aquaculture system. Aquaculture, 521, 735059.

Ramaglia, A. C., de Castro, L. M., & Augusto, A. (2018). Effects of ocean acidification and salinity variations on the physiology of osmoregulating and osmoconforming crustaceans. Journal of Comparative Physiology B, 188(5), 729-738.

Regnault, M. (1987). Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. Biological reviews, 62(1), 1-24.

Shah, T. K., Nazir, I., Arya, P., & Pandey, T. (2017). Integrated multi trophic



aquaculture (IMTA): An innovation technology for fish farming in India. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 4(1), 12-14.

Shi, H., Zheng, W., Zhang, X., Zhu, M., & Ding, D. (2013). Ecological– economic assessment of monoculture and integrated multi-trophic aquaculture in Sanggou Bay of China. *Aquaculture*, 410, 172-178.

Shimoda, T., Fujioka, Y., Srithong, C., & Aryuthaka, C. (2005). Phosphorus budget in shrimp aquaculture pond with mangrove enclosure and aquaculture performance. *Fisheries Science*, 71(6), 1249-1255.

Sookying, D., Silva, F. S. D., Davis, D. A., & Hanson, T. R. (2011). Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. *Aquaculture*, 319(1-2), 232-239.

Su, Y., Ma, S., & Feng, C. (2010). Effects of salinity fluctuation on the growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei* at different temperatures. *Journal of Crustacean Biology*, 30(3), 430-434.

Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A. H., & Fang, J.G. (2009). Ecological engineering in aquaculture—potential for integrated multi- trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture*, 297(1-4), 1- 9.

Verdouw, H., Van Echteld, C. J. A., & Dekkers, E. M. J. (1978). Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Research*, 12(6), 399-402.

Weineck, K., Ray, A. J., Fleckenstein, L. J., Medley, M., Dzubuk, N., Piana, E., & Cooper, R. L. (2018). Physiological changes as a measure of crustacean welfare under different standardized stunning techniques: Cooling and electroshock. *Animals*, 8(9), 158.

Yan, B., Wang, X., & Cao, M. (2007). Effects of salinity and temperature on survival, growth, and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 26(1), 141-146.

Yu, Q., Xie, J., Huang, M., Chen, C., Qian, D., Qin, J. G., ... & Li, E. (2020). Growth and health responses to a long-term pH stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 16, 100280.

Zhao, X., Shi, W., Han, Y., Liu, S., Guo, C., Fu, W., ... & Liu, G. (2017). Ocean acidification adversely influences metabolism, extracellular pH and calcification of an economically important marine bivalve, *Tegillarca granosa*. *Marine Environmental*

Research, 125, 82-89.

Zhu, Z. M., Lin, X. T., Pan, J. X., & Xu, Z. N. (2016). Effect of cyclical feeding on compensatory growth, nitrogen and phosphorus budgets in juvenile *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research, 47(1), 283-289.