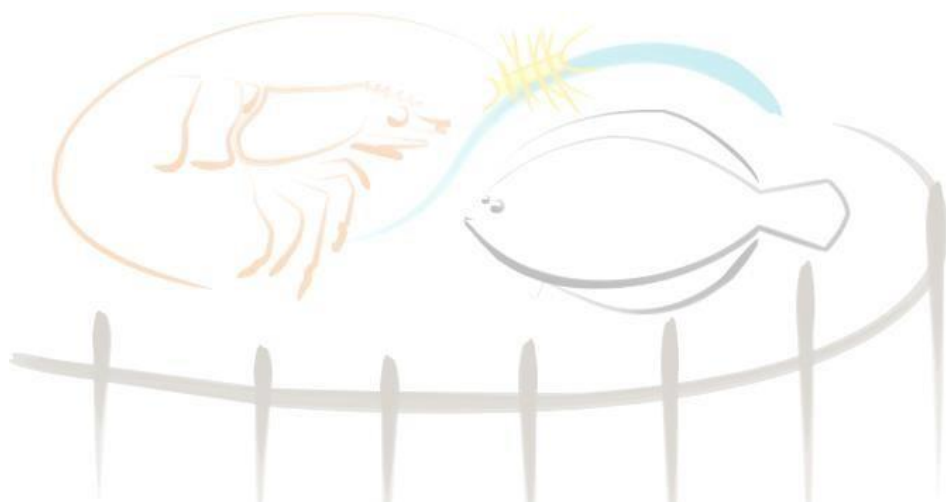




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFEITO DA TEMPERATURA, DENSIDADE DE ESTOCAGEM E SÓLIDOS
SUSPENSOS TOTAIS NO CONSUMO DO OXIGÊNIO DO CAMARÃO BRANCO**
Litopenaeus vannamei (BOONE, 1931) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

Marilia Fernandes Costa

Rio Grande – RS

2021

Universidade Federal do Rio Grande Instituto de Oceanografia

**EFEITO DA TEMPERATURA, DENSIDADE DE ESTOCAGEM E SÓLIDOS
SUSPENSOS TOTAIS NO CONSUMO DO OXIGÊNIO DO CAMARÃO BRANCO
Litopenaeus vannamei (BOONE, 1931) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Aluno: Marília Fernandes Costa

Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr.

Coorientador: Dr. Victor Torres Rosas

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande, RS

Março de 2021

Ficha Catalográfica

C837e Costa, Marília Fernandes.

Efeito da temperatura, densidade de estocagem e sólidos suspensos totais no consumo do oxigênio do Camarão Branco *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) em sistema de bioflocos / Marília Fernandes Costa. – 2021.

51 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2021.

Orientador: Dr. Wilson Wasielesky Jr.

Coorientador: Dr. Victor Torres Rosas.

1. Aquicultura 2. Sistema Superintensivo 3. Carcinicultura
4. Hipóxia I. Wasielesky Jr., Wilson II. Rosas, Victor Torres III. Título.

CDU 639.512

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344



ATA 07/2021

DE DEFESA DA 202ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia dez de março de dois mil e vinte e um, às nove horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, da **MARILIA FERNANDES COSTA**, orientada pelo Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior (orientador – IO/FURG), Dr. Victor Torres Rosas (Co orientador - IO/FURG), Prof. Dr. Dariano Krummeuer (IO/FURG) e Prof. Dr. Kleber Miranda Filho (UFMG). Título da dissertação: “Efeito da temperatura, densidade de estocagem e sólidos suspensos totais no consumo do oxigênio do camarão branco *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) em sistema de bioflocos”. Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior, que na qualidade de orientador, passou a palavra para a candidata apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e a candidata, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **MARILIA FERNANDES COSTA** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

PROF. DR. WILSON WASIELESKY JUNIOR (ORIENTADOR – IO/FURG)

DR. VICTOR TORRES ROSAS (CO ORIENTADOR - IO/FURG)

PROF. DR. DARIANO KRUMMENAUER (IO/FURG)

PROF. DR. KLEBER MIRANDA FILHO (UFMG)

MARILIA FERNANDES COSTA

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. Introdução.....	101
2. Objetivos.....	145
3. Material e Métodos.....	156
3.1 Local de realização do experimento.....	156
3.2 Delineamento Experimental.....	156
3.2.1 Experimento 1 – Consumo do oxigênio dissolvido em diferentes temperaturas.....	166
3.2.2 Experimento 2 - Efeito da hipóxia e reoxigenação no camarão branco <i>Litopenaeus vannamei</i>	18
3.3 Monitoramento da Qualidade da Água.....	19
3.5 Coletas dos Animais.....	20
3.6 Análises Bioquímicas.....	20
3.6.1 Preparação dos Homogeneizados para as Análises.....	19
3.6.2 Peroxidação Lipídica (Tbars).....	20
3.7 Estatística.....	21
4. Resultados.....	21
4.1 Experimento 1 - Consumo do oxigênio dissolvido em diferentes temperaturas.....	21
4.2 Experimento 2 - Efeito da hipóxia e reoxigenação no camarão branco <i>Litopenaeus vannamei</i>	308
5. Discussão.....	333
6. Conclusões.....	399
7. Considerações Finais.....	409
8. Referências Bibliográficas.....	4141
Anexo 1. Tempo limite recomendado de reação (minutos) para evitar que o OD na água de cultivo atinja valores < 2,0 mg/l em diferentes temperaturas e em diferentes condições de cultivo.....	5050

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família, por todo apoio e força durante essa jornada.

Agradecimentos

Aos órgãos de fomento, CAPES, CNPq, FAPERGS e FINEP pela concessão da bolsa e pelos recursos que possibilitaram a execução desse trabalho.

Ao meu orientador, professor Dr. Wilson Wasielesky, por aceitar a orientação e em nenhum momento deixar de estar presente e de dar todo o suporte necessário para a realização desse trabalho, por todo o conhecimento repassado e pela mudança que me proporcionou me ajudando a me tornar uma profissional melhor. Obrigada pela paciência, pelos conselhos, pela disponibilidade, obrigada por me acalmar durante as turbulências do mestrado e por acreditar em mim.

Ao meu coorientador, Dr. Victor Torres Rosa, que tantas vezes me apoiou e não mediu esforços para me ajudar a realizar esse trabalho, fosse durante o experimento, análises ou escrita, obrigada por toda a força, por acreditar que era possível, pelo suporte, puxões de orelha e ensinamentos. Obrigada pela dedicação e pela amizade durante todo esse tempo.

Ao professor Dr. José María Monserrat por toda sua disponibilidade e auxílio, e aos membros do BIFOA: Grecica e Rafa, obrigada pela disponibilidade e paciência prestados durante as análises, parte fundamental para a realização desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da FURG, a todos os professores e técnicos, que ajudaram e orientaram de forma clara e objetiva, o entusiasmo e a responsabilidade passados durante todo esse tempo contribuem para os grandes profissionais que são formados dentro das paredes da EMA.

Aos integrantes do Projeto Camarão e a todos os colegas e amigos da pós-graduação em aquicultura que ajudaram e compartilharam essa jornada. Obrigada pela disponibilidade, pelo apoio durante a pesquisa, experimentos e na vida, especialmente as grandes amizades: Mari, Elisa, Inácio, Missi, Esthefany, Cynthia, Flavia, Luiza, Virgínia, Italo, Raíza. Obrigada também ao Leonardo, Tácio e Júlio que me ajudaram durante o experimento esse trabalho não teria sido possível sem o apoio e a disponibilidade de vocês! Ao Hellyjúnyor por ser meu suporte e por toda a amizade ao longo de todos esses anos, obrigada por ainda me aguentar.

À minha família, por sempre se fazer presente e me apoiarem em todos os momentos e escolhas, mesmo que estas me levem para longe. Mara, Marcos e Pedro, amo vocês.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos experimentais com diferentes densidades de camarões e quantidade de SST realizados em cinco temperaturas experimentais distintas.

Tabela 2. Tabela de tempo (minutos) de consumo de oxigênio dissolvido para atingir uma concentração crítica de $\leq 2,0$ mg/L em diferentes temperaturas com diferentes densidades de floco e densidades de cultivo de juvenis de *L. vannamei*. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão.

Tabela 3. Tabela de tempo (minutos) de consumo de oxigênio dissolvido para atingir uma concentração de alerta de $\leq 0,6$ mg/L em diferentes temperaturas com diferentes densidades de floco e densidades de cultivo de juvenis de *L. vannamei*. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão.

Tabela 4. Tabela de significância do ANOVA de duas vias para densidade e SST no tempo de consumo de oxigênio em diferentes temperaturas de cultivo, para OD $\leq 0,6$ mg/L.

Tabela 5 Tabela Estatística ANOVA de duas vias. Letras diferentes mostram as diferenças significativas no consumo de OD ($\leq 0,6$ mg/L) no teste de Tukey com $p \leq 0,05$.

Tabela 6 Parâmetros da qualidade da água para testes de consumo de oxigênio em camarão *L. vannamei* cultivado em diferentes temperaturas. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão. (Experimento 1 de consumo de OD).

Tabela 7 Sobrevivência ao longo dos diferentes tempos do camarão *L. vannamei* após exposição a hipóxia e reoxigenação, com diferentes quantidades de bioflocos (0, 100, 500 e 1000 mg/L) e densidades (150, 300, 450 e 600 cam/m³).

Tabela - Anexo 1 Tempo limite recomendado de reação (minutos) para evitar que o OD na água de cultivo atinja valores $< 2,0$ mg/L em diferentes temperaturas e em diferentes condições de cultivo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Delineamento experimental – Experimento 1 de consumo de OD, em todas as fases de temperatura, densidades de camarão (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e valores de SST (0, 100, 500 e 1000 mg/L).

Figura 2. Delineamento experimental – Experimento 2 de reoxigenação, em diferentes densidades de camarão (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e valores de SST (0, 100, 500 e 1000 mg/L).

Figura 3. Consumo de oxigênio dissolvido em 30°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

Figura 4. Consumo de oxigênio dissolvido em 28°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

Figura 5. Consumo de oxigênio dissolvido em 26°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

Figura 6. Consumo de oxigênio dissolvido em 24°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

Figura 7. Consumo de oxigênio dissolvido em 22°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

Figura 8. Determinação das faixas de manejo para o consumo do oxigênio

dissolvido em diferentes densidades de cultivo e de bioflocos, para o cultivo de juvenis de *L. vannamei* em 30°C. ● Faixa crítica; ● Faixa de alerta; ● Faixa de precaução. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões m³

Figura 9. TBARS – peroxidação lipídica do hepatopâncreas em 24h (A), 48h (B) e 72h (C), medido em nmol de MDA mg⁻¹ de proteína.

Figura 10. TBARS – peroxidação lipídica do músculo em 24h (A), 48h (B) e 72h (C), medido em nmol de MDA mg⁻¹ de proteína.

RESUMO

A criação de novos sistemas de cultivo para camarões como a tecnologia de bioflocos (BFT) tem permitido incrementar as densidades de cultivo, e junto com esse incremento tem aumentado o requerimento de oxigênio dissolvido (OD). Já que esses sistemas dependem de tecnologias como sopradores e bombas hidráulicas, que tem o potencial risco de falha que pode levar a uma queda do OD. O objetivo do trabalho é gerar um protocolo de segurança para OD em cultivos do camarão *L. vannamei* em sistemas BFT após a ocorrência de uma quebra no suprimento de aeração, em diferentes condições ambientais de cultivo. O delineamento experimental consistiu em 2 fases. A primeira com 5 temperaturas (22, 24, 26, 28, 30°C) para verificar o tempo para atingir a hipóxia com diferentes densidades de camarões (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e de sólidos suspensos totais (0, 100, 500 e 1000 mg/L), com três repetições. Na segunda fase foi testada a reoxigenação em 28°C. Os Juvenis de camarão tinham peso individual de ≈12g. Foi determinando o tempo necessário para a chegada ao ponto crítico (OD ≤ 0,6 mg/L) e para o ponto de alarme (OD ≤ 2,0 mg/L). Os resultados mostraram que tanto a densidade do camarão, os SST e a temperatura têm efeitos significativos no consumo do oxigênio. Nas análises de peroxidação lipídica (TBARS) mostraram que após a hipóxia o músculo tem uma recuperação em 72h, já no hepatopâncreas em 72h o dano se manteve. Os resultados evidenciaram que em um cultivo em sistema BFT atualmente utilizado por produtores com densidades variando entre 300-450 cam/m³, em temperaturas de 30 a 28°C e com os SST em 500 mg/L, o OD pode diminuir drasticamente após a quebra no fornecimento de aeração causando grandes mortalidades, entre 60 minutos e 100 minutos.

Palavras-chave: Aquicultura, Sistema superintensivo, Carcinicultura, Hipóxia.

ABSTRACT

The creation of new cultivation systems for shrimp such as the biofloc technology (BFT) has allowed the increase in cultivation densities, and along with this increase the requirement for dissolved oxygen (DO) also has increased. Since these systems rely on technologies such as blowers and hydraulic pumps, the risk of failure that could lead to a fall in OD is latent. The objective of the work is to generate a security protocol for DO in *L. vannamei* cultivations in BFT systems after a break in the aeration supply, under different environmental conditions of cultivation. The experimental design consisted of 2 phases. The first with 5 temperatures (22, 24, 26, 28, 30 ° C) to check the time to reach hypoxia with different densities of shrimp (150, 300, 450 and 600 cam / m³) and total suspended solids (0, 100, 500 and 1000 mg / L), each with three repetitions. In the second phase, reoxygenation at 28 ° C was tested. Shrimp juveniles individual weight was ≈12g. The time needed to reach the critical point (OD ≤ 0.6 mg / L) and the alarm point (OD ≤ 2.0 mg / L) was determined. The results showed that shrimp density, SST, and temperature have significant effects on oxygen consumption. In the analysis of lipid peroxidation (TBARS) it is showed that after reaching hypoxia the muscle has a recovery in 72h, in the hepatopancreas in 72h the damage was maintained. The results showed that in a BFT system cultivation currently used by producers with densities ranging between 300-450 cam/m³, at temperatures of 30 to 28°C and SST at 500 mg / L, the OD can decrease dramatically after the supply failure of aeration causing great mortalities between 60 minutes and 100 minutes.

Key words: Aquaculture, superintensive system, Shrimp farming, Hypoxia.

1. Introdução

O camarão branco *Litopenaeus vannamei* é a principal espécie de crustáceo cultivada no mundo, sua produção chega a 5 milhões de toneladas por ano (FAO, 2020). Com a crescente demanda por cultivos de alta qualidade, elevada densidade e com uma biossegurança maior foi necessária à implementação de novas ferramentas que fossem promissoras para o cultivo de camarões como o sistema de bioflocos (BFT - Biofloc Technology System) (Tahim et al., 2019; El-Sayed, 2020).

O sistema BFT é um dos sistemas mais utilizados no mundo pela sua capacidade de remover compostos nitrogenados da água garantindo uma melhor qualidade e uma mínima renovação de água além de benefícios como o aumento da densidade de cultivo e da produtividade do cultivo, além dos benefícios ambientais pela

baixa descarga de água residual, diminuindo assim o impacto ambiental da atividade e a disseminação de doenças (Wasielesky et al., 2006; Avnimelech, 2007; Ray et al., 2010; Krummenauer et al., 2011; Souza et al., 2019).

Diversos fatores são de extrema importância para a manutenção desse sistema, o oxigênio dissolvido (OD) se apresenta como um dos fatores mais críticos, ele é um fator limitante, pois não supre somente o organismo que está sendo alvo da produção, mas também todo o sistema de cultivo (Vinatea et al., 2004; Emerenciano et al., 2013; Lara et al., 2017).

Os baixos níveis de OD, atuam diretamente no metabolismo o que pode desencadear indiretamente uma série de problemas de crescimento ou até mesmo mortalidades (Fry, 1971) como diminuição do consumo de alimento, o crescimento é prejudicado, a suscetibilidade a doenças aumenta (Vinatea et al., 2004). Em sistemas BFT pode até ocorrer uma perda/destruição de agregados microbianos ou uma parada no processo de nitrificação (Avnimelech, 2015).

A demanda por oxigênio em um sistema de bioflocos depende de diversos fatores, que podem consumir ou alterar a disponibilidade de OD no meio. A temperatura atua diretamente na solubilidade dos gases na água, como o OD, e também regula o metabolismo do animal aumentando ou diminuindo o seu consumo ao longo do tempo de produção (Hill et al., 1993; Tian et al., 2004; Vinatea et al., 2010). A solubilidade do OD é mais alta em temperaturas mais baixas e decresce em temperaturas mais elevadas, pela diminuição da solubilidade dos gases, por isso a maior disponibilidade de OD em baixas temperaturas (Boyd, 1990). De acordo com Boyd (1990), concentrações menores a 1 mg/L, podem ser consideradas concentrações letais quando os organismos ficam expostos a um estresse crônico, já concentrações entre 2 e 5 mg/L diminuem o crescimento e são consideradas concentrações de alerta.

Fatores biológicos da produção como a utilização de altas densidades de cultivo, usadas no sistema BFT, são um fator chave que afeta toda a dinâmica do sistema no consumo do oxigênio (El-Sayed, 2020). O camarão branco do Pacífico *L. vannamei* tem mostrado sucesso sendo cultivado em altas densidades no sistema BFT (Li et al., 2007; Silva et al., 2013; Silveira et al., 2020). A medida que aumentamos a estocagem nos cultivos, também incrementamos a biomassa bacteriana, conseqüentemente a demanda por OD presente na água também se incrementa (Jackson

e Wang, 1998) e vai se amplificando ao longo do cultivo aumentando a sua taxa de respiração e assim cada vez mais o seu requerimento (Santa e Vinatea, 2007; Silva et al., 2013; Schweitzer et al., 2013).

Os cultivos em sistema BFT tem uma alta demanda de OD, pois não é só o organismo alvo do cultivo que apresenta um metabolismo aeróbico, mas o sistema num todo, essa constante demanda aumenta os custos com energia para manter o OD em níveis adequados. Esses sistemas estão suscetíveis a diversos problemas técnicos e operacionais, desde defeitos no sistema de aeração, falhas nos aeradores, entupimentos de tubulações, até suspensões temporárias no fornecimento de energia elétrica, que vem sendo relatado como um problema constante nas fazendas de produção, que ficam mais afastadas das zonas urbanas (Coyle et al., 2011; Dong et al., 2011; Lima et al., 2012; Gaona et al., 2017).

Segundo Bett e Vinatea (2009) juvenis de *L. vannamei* podem chegar a anóxia em uma média de 30 minutos, por causa do alto requerimento dos camarões e dos bioflocos. Quando esses animais são submetidos a uma situação de hipóxia (baixas concentrações de oxigênio), eles apresentam uma depressão compensatória do seu metabolismo para conseguir se manter num ambiente de estresse, e conseguir se manter evitando a morte desde que não apresentem nenhum outro problema associado a privação de oxigênio (Seidman e Lawrence, 1985; Vinatea, 2004).

Em casos de limitação de oxigênio, chegando a níveis críticos, o organismo começa a se proteger e redireciona todas as suas funções para a manutenção do organismo basal (Ferreira, 2010). A falta de suprimento ou uma variação brusca na demanda por OD pode induzir o animal a apresentar estresse oxidativo (Lushchak, 2011), definido como o desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, e tem como consequência o incremento na produção de espécies reativas de oxigênio (pela sigla em inglês ROS), que acabam se manifestando como o dano oxidativo celular principalmente contra células e tecidos, afetando as brânquias, músculo e hepatopâncreas, causando a oxidação das biomoléculas com uma consequente perda da sua função pelo excesso de radicais livres no meio (Li et al., 2007; Barbosa et al., 2010; Lushchak, 2011; Sies, 2018). Os possíveis danos oxidativos causados pelo ROS podem ser regulados pelo sistema antioxidante que foi desenvolvido pelo organismo como um

defesa, podendo prevenir, interceptar ou reparar os danos (Hermes-Lima, 2004; Sies, 1993).

As espécies reativas de oxigênio são moléculas com a capacidade de causar dano em biomoléculas, alterar sinalização de moléculas e reações bioquímicas (Pisoschi e Pop, 2015). A peroxidação lipídica causada pelos ROS é uma causa importante de dano e destruição da membrana celular, pois os organismos aeróbicos devem lidar com a toxicidade do oxigênio durante processos metabólicos envolvidos na produção de ATP, sendo capazes de reagir e oxidar as macromoléculas, comprometendo a bioquímica e funções fisiológicas (Hermes-Lima et al., 1998; Birben et al., 2012).

Durante a produção das espécies reativas de oxigênio, quando o organismo é submetido a hipóxia e conseqüente reoxigenação ocorre então uma redução parcial do oxigênio dentro da cadeia respiratória mitocondrial, que desencadeia a produção do ânion superóxido (O_2^-), do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxil (OH), essa seqüência de hipóxia/reoxigenação também desencadeia a geração de radicais livres de oxigênio (Granger, 1981; McCord, 1985; Fridovich, 2004; Hamanaka e Chandel, 2010).

A produção de ROS também aumenta durante a reoxigenação abrupta seguida de dano oxidativo, o retorno abrupto e outras estratégias de reoxigenação podem induzir o organismo cultivado ao estresse oxidativo e a danos que impeçam a total recuperação dos animais (Dong et al., 2011). Durante a reoxigenação o aumento da produção de ROS nas mitocôndrias leva o organismo a um quadro de estresse oxidativo, a produção de radicais de oxigênio que inicia uma cascata de respostas celulares deletérias (Hermes-Lima e Zenteno-Savin, 2002; Fondevila et al., 2003). A gravidade do dano causado durante a reoxigenação depende da velocidade de retorno do oxigênio para o organismo que permaneceu em hipóxia (Silva Jr. et al., 2002).

Segundo Geihs et al. (2013) danos permanentes podem ser gerados nos organismos mesmo após a retomada de oxigênio, principalmente nos processos que demandam uma maior fonte de energia como crescimento, reprodução, síntese proteica, o que pode demonstrar que a reoxigenação ou o retorno do oxigênio pode ser mais prejudicial que a hipóxia em si (Lobato, et al., 2018), principalmente os tecidos que possuem uma alta demanda metabólica (Lehmann et al., 2015), porém, são escassos os

estudos sobre períodos de hipóxia, reoxigenação e recuperação do sistema de cultivo (Lushchak , 2011).

Apesar de entendemos separadamente como funcionam e influenciam esses fatores, ainda não se há determinado como a dinâmica de consumo de oxigênio ocorre em sistemas de bioflocos. O objetivo desse trabalho foi determinar tempos específicos para a criação de protocolos de segurança em diferentes densidades e temperaturas, baseados em densidades de cultivo e concentração de bioflocos do camarão *L. vannamei* na fase de engorda e os efeitos da reoxigenação abrupta, o ponto de retorno dos camarões, seu desempenho zootécnico, dano oxidativo e mortalidade após o período de anoxia/reoxigenação.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Gerar um protocolo de segurança para oxigênio dissolvido (OD) em cultivos do camarão *L. vannamei* em sistemas BFT após a ocorrência de uma quebra no fornecimento de oxigênio em diferentes condições ambientais.

Objetivos Específicos

- Avaliar e comparar os efeitos das diferentes temperaturas (30, 28, 26, 24, 22 °C) no consumo de OD;

- Avaliar o consumo do OD pelo sistema em diferentes fatores:
 - Densidade (150, 300, 450 e 600 cam/m³);
 - Quantidade de sólidos suspensos totais (0, 100, 500 e 1000 mg/L);
- Avaliar o tempo até atingir a anóxia no sistema;
- Avaliar a recuperação após hipóxia do camarão branco *L. vannamei* em sistema BFT;
- Avaliar o efeito do estresse oxidativo na peroxidação lipídica (TBARS) dos camarões após um período de hipóxia;
- Avaliar efeitos da reoxigenação abrupta, o ponto de retorno dos camarões, o dano oxidativo e a mortalidade após o período de anóxia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de realização do experimento

O estudo foi conduzido no Laboratório de Carcinicultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA) pertencente ao Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, localizado na cidade do Rio Grande, RS, Brasil (32° 19' S, 52° 15' W).

3.2 Delineamento experimental

3.2.1 Experimento 1 – Consumo do oxigênio dissolvido em diferentes temperaturas

Prévio aos experimentos, foram realizados pré-testes para determinar o ponto máximo de hipóxia (OD= 0,6 mg/L) onde os organismos (12g) ainda podem ter uma recuperação fisiológica, passado desse ponto (ponto de não retorno) o dano da hipóxia pode levar à morte do camarão. Foram realizadas cinco fases, cada uma com um dia de aclimação e um dia experimental, sendo cada uma definida por uma temperatura (22, 24, 26, 28, 30°C). Foram utilizados juvenis do camarão branco do Pacífico *L. vannamei* (12,2 ± 1,7 g), os organismos foram retirados do tanque principal, com volume de 35.000L, onde estavam sendo mantidos para o experimento e colocados em tanques menores, de 500L, para realizar a aclimação para a temperatura utilizada. Após um dia de aclimação os organismos foram estocados em 4 densidades (150, 300, 450 e 600 cam/m³), com um N de 3, 6, 9, 12 respectivamente, em tanques cilíndricos e semitransparentes de 20 L dispostos em tanques de 1000 L para a utilização de um banho termostaticado para que a temperatura de todos os tanques permanecesse igual durante todo o período experimental com auxílio de aquecedores de 200 w (Roxin Ht-1300 200w). Durante o período de aclimação nos tanques de 20 L foi utilizada uma aeração constante provida por um sistema de *blower* e pedras porosas. Foi utilizado uma água com biofoco formado proveniente de um cultivo maduro, de acordo com as necessidades dos sólidos suspensos predeterminados para os experimentos, essa água foi concentrada/diluída em água do mar para conseguir a quantidade de biofocos requerida (0, 100, 500 e 1000 mg/L). Foram testados 16 tratamentos (Tabela 1), com três repetições cada, totalizando 48 tanques, com 4 densidades de camarões (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e 4 densidades de biofocos (0, 107 ± 10, 534 ± 24 e 1080 ± 99 mg/L) como demonstrado na figura 1, para cada uma das cinco temperaturas testadas (30, 28, 26, 24, 22 °C) como demonstrado na figura 1.

Tabela 1 – Tratamentos experimentais com diferentes densidades de camarões e quantidade de SST realizados em cinco temperaturas experimentais distintas.

Tratamento	Densidade Camarão (cam/m³)	Bioflocos (SST - mg/L)
T1	150	0
T2	300	0
T3	450	0
T4	600	0
T5	150	100
T6	300	100
T7	450	100
T8	600	100
T9	150	500
T10	300	500
T11	450	500
T12	600	500
T13	150	1000
T14	300	1000
T15	450	1000
T16	600	1000

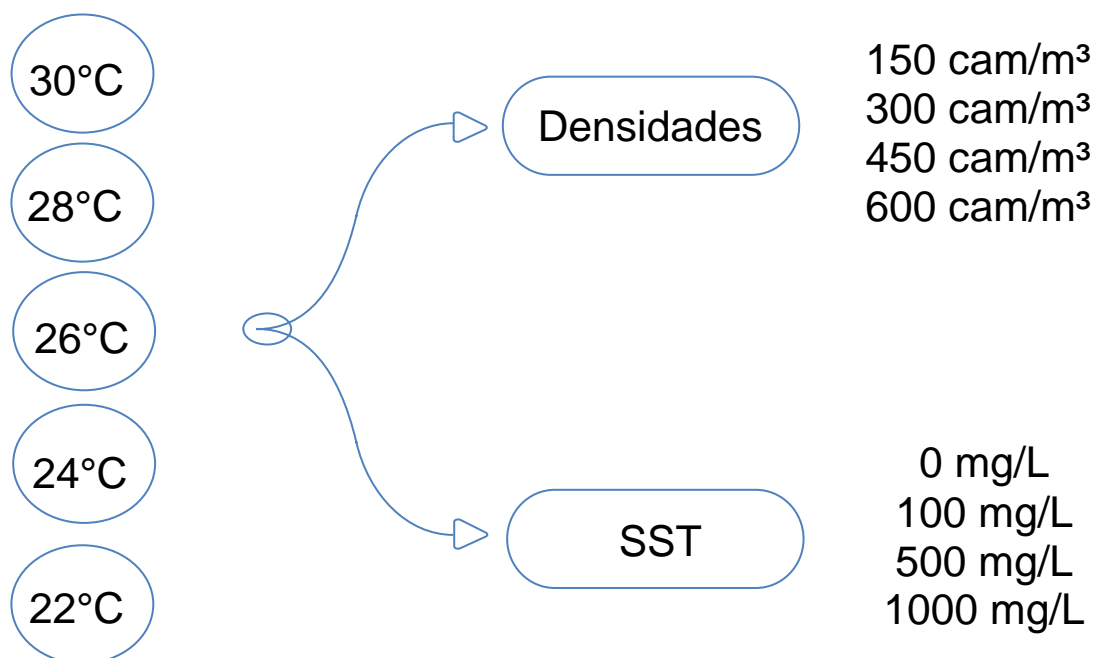


Figura 1 – Delineamento experimental – Experimento 1 de consumo de OD, em todas as fases de temperatura, densidades de camarão (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e valores de SST (0, 100, 500 e 1000 mg/L).

Uma vez estocados os organismos e os bioflocos nas unidades experimentais, foi aguardado um intervalo de 30 minutos antes da suspensão manual do oxigênio de cada unidade experimental, posteriormente registrando o tempo desde a suspensão do suprimento de ar até que cada unidade experimental registrou um OD menor de 0,6 mg/L.

A temperatura e o oxigênio dissolvido foram analisados com um oxímetro digital (YSI606071) e durante o período de experimento foram medidos os parâmetros em intervalos entre 20, 40 e 60 minutos variando de acordo com a temperatura analisada, pois em temperaturas mais altas o consumo foi diferente em 20 minutos já e temperaturas mais baixas foi necessário um intervalo maior para que o consumo fosse diferente. Os camarões não foram alimentados durante o experimento.

3.2.2 Experimento 2 - Efeito da hipóxia e reoxigenação no camarão branco *Litopenaeus vannamei*

O segundo experimento foi realizado num período de 5 dias, onde no primeiro dia se realizou a aclimação dos organismos e dos bioflocos, no segundo dia aconteceu a anoxia/reoxigenação, seguido por 3 dias de recuperação, os juvenis de camarão branco do Pacífico ($12,08 \pm 2,5$ g) foram colocados em tanques cilíndricos e semitransparentes de 20 L, em banhos termostático, para manutenção constante da temperatura durante todo o experimento. Dezesesseis tratamentos (com três réplicas cada) com temperatura em 28°C (temperatura ideal de cultivo) foram testadas diferentes densidades de camarões (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e quantidades de sólidos suspensos totais (0, 100, 500 e 1000 mg/L) como demonstrada na figura 2.

Os tanques foram preenchidos com a diluição/concentração de bioflocos provenientes de um cultivo de bioflocos já maduro (salinidade 30). Durante o período de aclimação nos tanques de 20 L foi utilizada uma aeração constante provida por um sistema de *blower* e pedras porosas. Após a estocagem nas unidades experimentais foi deixado para aclimação durante 3 horas, posteriormente foram algumas variáveis de qualidade da água (ver item 3.3) e feita a coleta de água para início do experimento. A aeração foi cessada e medida de 20 em 20 minutos até que o tanque atingisse um OD \leq 0,6 mg/L e então a aeração era religada no tanque logo depois.

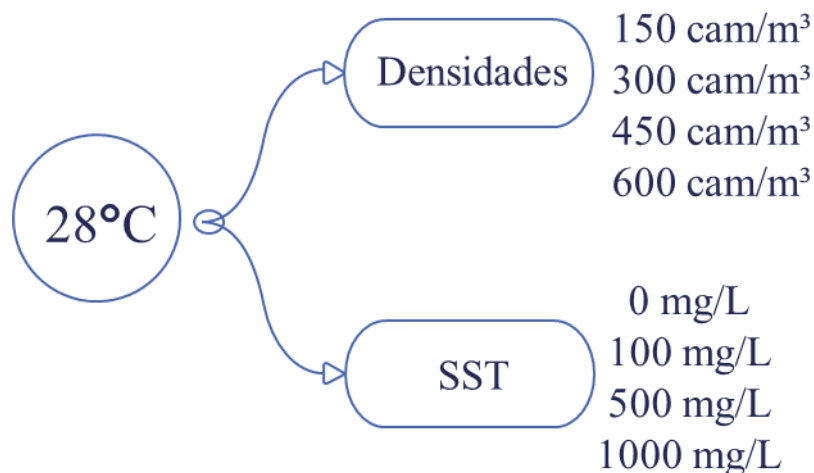


Figura 2 – Delineamento experimental – Experimento 2 de reoxigenação, em diferentes densidades de camarão (150, 300, 450 e 600 cam/m³) e valores de SST (0, 100, 500 e 1000 mg/L).

Para verificar os efeitos fisiológicos da hipóxia /reoxigenação o dano oxidativo foi avaliado. Realizou-se uma comparação entre os animais do controle que não sofreram privação de oxigênio e dos que chegaram num estado de hipóxia mediante a avaliação da peroxidação lipídica e seus efeitos em três diferentes tempos: 24h, 48h e 72h após o período de hipóxia. Para verificar o dano causado e a recuperação a curto prazo dos animais. A sobrevivência dos animais foi determinada 24, 48 e 72h após a reoxigenação de cada tanque calculada através da fórmula:

$$S\% = (N \text{ inicial} / N \text{ final}) \times 100.$$

3.3 Monitoramento da qualidade de água

As amostras de água foram coletadas no início de cada experimento para determinação da concentração de amônia total e nitrito (Strickland e Parsons, 1972; UNESCO, 1983), o nitrato segundo metodologia de Aminot e Chaussepied, (1983), os sólidos suspensos totais (SST) foram mensurados no dia anterior ao início do experimento para realizar o processo de diluição e durante o experimento para confirmar a quantidade de sólidos suspensos em cada unidade experimental (APHA, 1998; AOAC, 1999).

3.4 Biometrias

Foram realizadas biometrias antes de cada início de experimento para uma maior precisão no tamanho dos animais utilizados para a aclimação e estocagem. O peso foi medido individualmente utilizando-se uma balança digital de precisão de 0,01 g (Marte[®] científica AD5002).

3.5 Coletas dos animais e órgãos para análise

Após a reoxigenação foram realizadas coletas em 24, 48 e 72 horas, um animal de cada tanque (n=3) para todas as triplicatas. Foram retirados músculo (retirado do primeiro segmento abdominal) e hepatopâncreas dos animais de cada tanque e congelados em nitrogênio líquido (-209°C) para preservar todas as condições dos órgãos para análise bioquímica posterior TBARS (mede níveis de peroxidação lipídica). Posteriormente, as amostras foram mantidas em ultra freezer, a -81°C, até análises posteriores.

3.6 Análises bioquímicas

3.6.1 Preparação dos homogeneizados para as análises

As amostras foram pesadas, sonicadas e separadas para análise no BIFOA – Laboratório de bioquímica funcional de organismos aquáticos, onde foi dosada a proteína do tecido e posteriormente substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com Oakes e Van Der Kraak (2003).

As amostras de tecidos, hepatopâncreas e músculos, foram pesados e homogeneizados (1: 5 Peso/Volume) em tampão específico para crustáceo contendo Tris-base (20 mM), EDTA (1 mM), sacarose (5 mM) e KCl (1 mM), todos dissolvidos em água destilada, ajustados para pH 7,6. As amostras foram então centrifugadas a 20.000 g por 30 min em 4°C e os sobrenadantes armazenados para análise de proteínas e peroxidação lipídica. A determinação do teor de proteína total foi realizada pelo método Biureto (550 nm) em um leitor de placas de microtitulação (Biotek Synergy HT) usando kit comercial (Bioclin, Brasil) (Amado et al., 2009).

3.6.2 Peroxidação Lipídica (TBARS)

A peroxidação lipídica foi avaliada pelo método de TBARS (substâncias

reativas com ácido tiobarbitúrico) pela quantificação de MDA (malondialdeído) para medir os níveis de peroxidação lipídica foi utilizado o método de Oakes e Van Der Kraak (2003).

Em tubos de ensaio, 20 µl de hidroxitolueno butilado solução (BHT, 67 µM) e, em seguida, 150 µl de ácido acético a 20% solução foram adicionados às amostras (músculo: 100 µl, hepatopâncreas: 30 µl) e, em seguida, 150 µl de solução de TBA (0,8%), 50 µl de água destilada e 20 µl de dodecilsulfato de sódio (SDS, 8,1%). As amostras foram aquecidas a 95 ° C durante 30 min. Então, 100 µl de água destilada e 500 µl de n-butanol foram adicionados ao final da solução, que foi centrifugada a 3.000 g por 10 min em 15 ° C. Posteriormente, 150 µl do sobrenadante foram colocados em uma microplaca branca leitor (Biotek Synergy HT) para determinar a fluorescência (excitação: 520 nm; 580 nm: emissão). Os resultados foram expressos em nmol de tetrametoxipropano (TMP) (usado como padrão) por mg de tecido úmido.

3.7 Estatística

Os dados coletados foram submetidos a testes de normalidade (teste de Shapiro- Wilk) e homocedasticidade (teste de Levene) e após a verificação desses pressupostos, foram realizadas análises de variância de duas vias (ANOVA de duas vias). Quando detetadas diferenças significativas ($p < 0,05$) aplicou-se o teste pós-hoc Tukey a um nível de segurança de 95% ($p < 0,05$). Os valores percentuais foram transformados (arcos seno da raiz quadrada) antes de serem analisados (Zar, 2010).

4. RESULTADOS

4.1 Experimento 1 - Consumo do oxigênio dissolvido em diferentes temperaturas

Tabelas de consumo de oxigênio foram elaboradas levando em conta os principais fatores de cultivo: temperatura, densidade de estocagem dos camarões e quantidade de sólidos suspensos totais (SST) no sistema. Na tabela 3 mostra-se o tempo que o sistema leva para chegar abaixo de 0,6 mg/L de OD e na tabela 2 o tempo levado para que o sistema chegue a 2,0 mg/L, considerado um estado de alerta ou crítico, quando um tratamento experimental demorou mais de 5h em chegar aos determinados

pontos só foi considerado o resultado até 300 minutos.

Em todas as temperaturas analisadas o consumo de oxigênio foi significativamente mais rápido ($p < 0,05$) nos tratamentos com maior biomassa e maior valor de SST (T11, T12, T15 e T16). Os tratamentos foram diminuindo gradativamente seguindo uma linha decrescente pelo fator de densidade até T1, que apresenta a menor densidade de camarões e de bioflocos. Tratamentos com a menor densidade de organismos (150 camarão/m^3) se mostraram proporcionalmente mais seguros em termos de tempo para consumo do OD nos tanques que aqueles tratamentos com uma maior densidade. Por outro lado, as altas quantidades de SST nos tanques ($500\text{-}1000 \text{ mg/L}$) foram determinantes para atingir níveis críticos ou de alerta em um menor tempo, como por exemplo uma densidade de 600 camarões/m^3 com SST de 100 mg/L tem 200% mais tempo que aquele em 600 camarões/m^3 com SST de 1000 mg/L nas temperaturas mais altas.

Tabela 2 – Tabela de tempo (minutos) de consumo de oxigênio dissolvido para atingir uma concentração crítica de $\leq 2,0$ mg/L em diferentes temperaturas com diferentes densidades de floco e densidades de cultivo de juvenis de *L. vannamei*. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão.

Densidade (Camarões/m ³)	Sólidos Suspensos Totais (mg/L)				
	0	100	500	1000	
150	276,7 \pm 46,1	253,4 \pm 35,1	213,3 \pm 11,5	173,3 \pm 50,3	30°C
300	126,7 \pm 23,0	120 \pm 20	113,3 \pm 11,5	106,6 \pm 11,5	
450	146,7 \pm 11,5	80 \pm 0	53,3 \pm 11,5	53,3 \pm 11,5	
600	73,4 \pm 11,5	66,7 \pm 11,5	46,6 \pm 11,5	40 \pm 0	
150	300 \pm 23	300 \pm 92,3	186,7 \pm 30,5	173,3 \pm 50,3	28°C
300	200 \pm 52,9	160 \pm 20	93,3 \pm 11,5	86,6 \pm 11,5	
450	133,3 \pm 11,5	120 \pm 0	66,7 \pm 11,5	86,6 \pm 46,1	
600	86,7 \pm 30,5	86,6 \pm 11,5	66,7 \pm 30,5	53,3 \pm 11,5	
150	300 \pm 0	293,3 \pm 11,5	186,7 \pm 61,1	153,3 \pm 50,3	26°C
300	260 \pm 34,6	186,6 \pm 46,2	100 \pm 20	66,7 \pm 11,5	
450	146,6 \pm 11,5	126,6 \pm 23	66,7 \pm 11,5	66,7 \pm 11,5	
600	100 \pm 0	100 \pm 20	66,7 \pm 11,5	60 \pm 0	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	273,3 \pm 30,5	240 \pm 0	24°C
300	286,6 \pm 11,5	273,3 \pm 30,5	160 \pm 34,6	120 \pm 34,6	
450	200 \pm 40	160 \pm 34,6	100 \pm 0	93,3 \pm 11,5	
600	126,6 \pm 11,5	140 \pm 52,9	86,6 \pm 11,5	80 \pm 0	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	280 \pm 34,6	22°C
300	293,3 \pm 11,5	300 \pm 0	260 \pm 34,6	160 \pm 0	
450	226,6 \pm 23	186,6 \pm 23	160 \pm 0	173,3 \pm 23	
600	173,3 \pm 23	173,3 \pm 23	120 \pm 0	120 \pm 0	

Tabela 3 – Tabela de tempo (minutos) de consumo de Oxigênio dissolvido para atingir uma concentração de alerta de $\leq 0,6$ mg/L em diferentes temperaturas com diferentes densidades de floco e densidades de cultivo de juvenis de *L. vannamei*. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão.

Densidade (Camarões/m ³)	Sólidos Suspensos Totais (mg/L)				
	0	100	500	1000	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	286,6 \pm 11,5	30°C
300	206,6 \pm 11,5	220 \pm 20	186,6 \pm 23,9	140 \pm 20	
450	186,6 \pm 11,5	140 \pm 20	73,3 \pm 11,5	60 \pm 0	
600	126,6 \pm 11,5	100 \pm 34,6	46,6 \pm 11,5	33,3 \pm 11,5	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	233,3 \pm 61,1	28°C
300	300 \pm 0	286,6 \pm 23	166,6 \pm 83,2	113,3 \pm 11,5	
450	246,6 \pm 23	206,6 \pm 23	93,3 \pm 23	66,6 \pm 11,5	
600	166,6 \pm 46,1	140 \pm 34,6	50 \pm 14,1	60 \pm 0	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	286,6 \pm 23	226,6 \pm 94,5	26°C
300	300 \pm 0	286,6 \pm 23	153,3 \pm 61,1	106,6 \pm 64,2	
450	266,6 \pm 23	233,3 \pm 23	80 \pm 0	53,3 \pm 23	
600	200 \pm 0	140 \pm 40	80 \pm 34,6	46,6 \pm 11,5	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	24°C
300	300 \pm 0	300 \pm 0	260 \pm 52,9	166,6 \pm 57,7	
450	266,6 \pm 23	226,6 \pm 46,1	120 \pm 28,2	106,6 \pm 30,5	
600	200 \pm 0	186,6 \pm 50,3	106,6 \pm 11,5	86,6 \pm 11,5	
150	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	22°C
300	300 \pm 0	300 \pm 0	300 \pm 0	293,3 \pm 11,5	
450	300 \pm 0	266,6 \pm 23,0	240 \pm 0	200 \pm 0	
600	260 \pm 34,6	226,6 \pm 23,0	173,3 \pm 23,0	146,6 \pm 23	

A temperatura mostrou um papel importante no consumo de oxigênio, pois triplicou e até quadruplicou seus tempos nos tratamentos em que o OD chegou a níveis de alarme e/ou críticos. Nas temperaturas mais altas, 30 e 28°C, o consumo do OD foi, mais rápido em todos os tratamentos quando comparados com as temperaturas mais baixas, 26, 24 e 22°C.

A ANOVA de duas vias mostrou que a densidade e os SST têm um efeito no consumo do oxigênio altamente significativo, como mostrado na tabela 4, ainda assim, a significância da interação entre os dois fatores pode ser afetada pela temperatura de

cultivo, nos efeitos que possuem interação, os resultados mostram problemas no caso de cultivos de bioflocos superintensivo e sem cuidado nos SST. A tabela 5 mostra que existem diferenças significativas em todos os tratamentos, e em conjunto com a tabela 4 demonstra que a temperatura mais alta, 30°C, possui um maior efeito quando comparada as outras temperaturas. As densidades mais elevadas (600 e 450 camarões/m³) possuem um consumo de OD muito mais rápido e demonstra uma maior interação entre os fatores.

Tabela 4 – Tabela de significância do ANOVA de duas vias para densidade e SST no tempo de consumo de oxigênio em diferentes temperaturas de cultivo, para OD ≤0,6 mg/L.

	Densidade Camarões	SST	SST x Densidade Camarões	Valor de P (SST x Densidade Camarões)
30°C	***	***	***	< 0,001
28°C	***	***	*	0,040
26°C	***	***	**	0,011
24°C	***	***	*	0,037
22°C	***	***	***	< 0,001

*** significância <0,001; ** significância <0,01; * significância <0,05.

Tabela 5 – Tabela Estatística ANOVA de duas vias. Letras diferentes mostram as diferenças significativas no consumo de OD (≤0,6 mg/L) no teste de Tukey com p ≤ 0,05.

Tratamento	Densidade Camarões/m ³	BFT mg/L	30°C	28°C	26°C	24°C	22°C
1	150	0	F	F	DE	C	F
2	300	0	DE	F	DE	C	F
3	450	0	CE	DF	CE	BC	F
4	600	0	B	ABCDE	ABC	AC	DEF
5	150	100	F	F	DE	C	F
6	300	100	DE	EF	DE	C	F
7	450	100	BC	BF	BE	BC	DEF
8	600	100	B	ABCD	AB	AC	CD
9	150	500	F	F	DE	C	F
10	300	500	CD	ABCDE	ABC	BC	F
11	450	500	AB	AB	A	AB	CE
12	600	500	A	AB	A	A	AB
13	150	1000	F	CF	BCD	C	F
14	300	1000	BC	ABC	A	AB	F
15	450	1000	AB	A	A	A	BC
16	600	1000	AB	A	A	A	A

Os parâmetros de qualidade da água que antecederam os testes de consumo de oxigênio em diferentes temperaturas estão apresentados na tabela 6. Onde não foram detetadas diferenças significativas para pH, nitrito e amônia, em todos os tratamentos ($p > 0,05$).

Tabela 6 – Parâmetros da qualidade da água para testes de consumo de oxigênio em camarão *L. vannamei* cultivado em diferentes temperaturas. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão. (Experimento 1 de consumo de OD)

	30°C	28°C	26°C	24°C	22°C
Temperatura	30,3 \pm 0,5	28,4 \pm 0,3	26,1 \pm 0,1	24,4 \pm 0,3	21,8 \pm 0,4
OD (aclimatação)	5,9 \pm 0,2	6,2 \pm 0,2	6,5 \pm 0,2	7,0 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1
pH	8,1 \pm 0,11	8,1 \pm 0,1	8,1 \pm 0,1	8,1 \pm 0,09	8,2 \pm 0,09
Amônia total (mg/L)	0,48 \pm 0,17	0,24 \pm 0,07	0,19 \pm 0,06	0,2 \pm 0,08	0,4 \pm 0,07
Nitrito (mg/L)	0,01 \pm 0,007	0,1 \pm 0,07	0,06 \pm 0,01	0,06 \pm 0,04	0,03 \pm 0,02

O consumo de OD ao longo do tempo é representado na Figura 3 para a temperatura experimental de 30°C, na figura 4 para 28°C, na figura 5 para 26°C, na figura 6 para 24°C e na figura 7 para 22°C, em todos os 16 tratamentos experimentais. De acordo com o padrão de comportamento do OD em todos os tratamentos experimentais, foram identificados 3 grupos de consumo do oxigênio dissolvido (Figura 8), onde os tratamentos experimentais em caso de falha na suplementação da aeração tem um comportamento: a) Crítico, onde o consumo do oxigênio pela biomassa do tanque demora não mais que 90 minutos para atingir níveis críticos de OD (<0,6 mg/L), geralmente nos tanques com densidade superintensivo e SST superiores a 500 mg/L; b) Alerta, onde o consumo do oxigênio pela biomassa do tanque demora entre 90 minutos a 3 horas para atingir níveis críticos de OD (<0,6 mg/L) nos cultivos com densidade intensiva e SST de moderados a altos (100-500 mg/L) ; c) Precaução; onde o consumo de oxigênio pela biomassa do tanque demora mais de 3 horas para atingir níveis críticos de OD (<0,6 mg/L), nos cultivos com densidades extensivas a intensivas com SST de controlados a altos (0-500 mg/L).

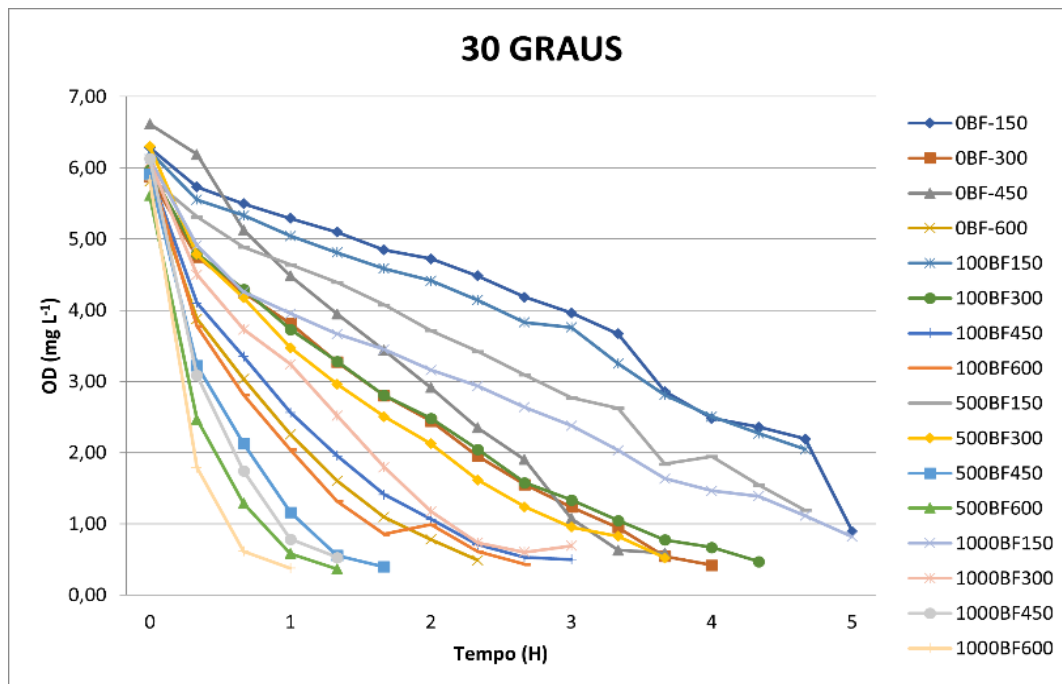


Figura 3 - Consumo de oxigênio dissolvido em 30°C com diferente concentração de SST e de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

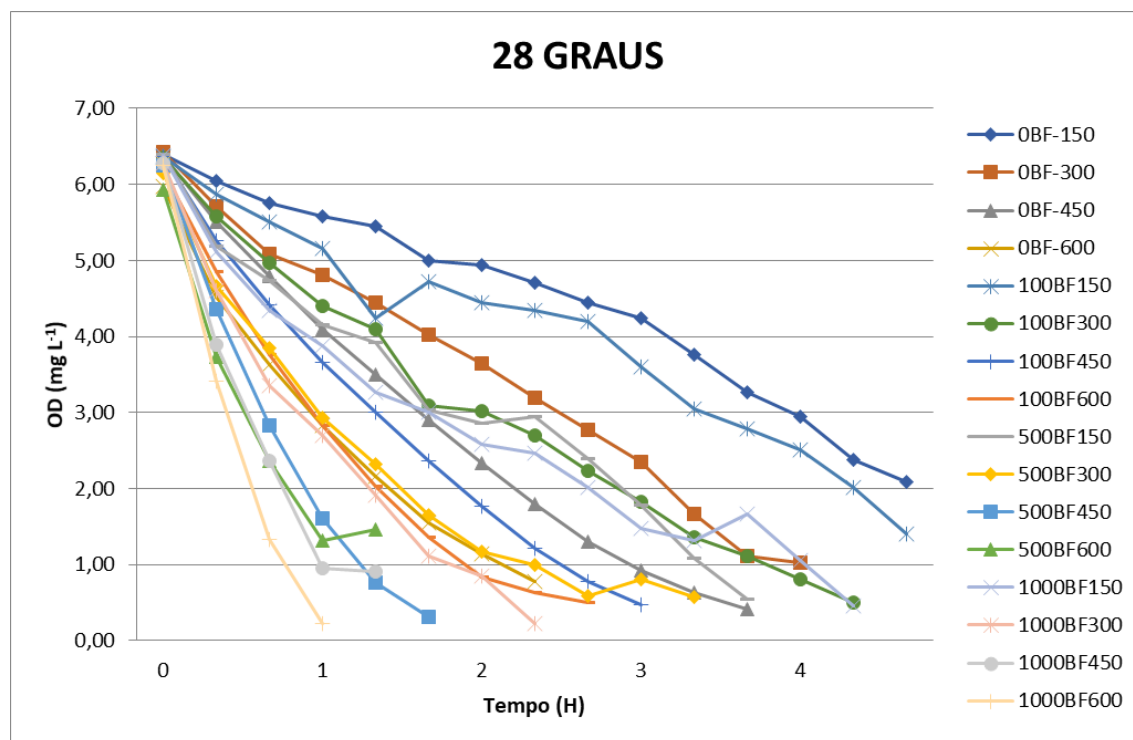


Figura 4 - Consumo de oxigênio dissolvido em 28°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de

cultivo em camarões/m³.

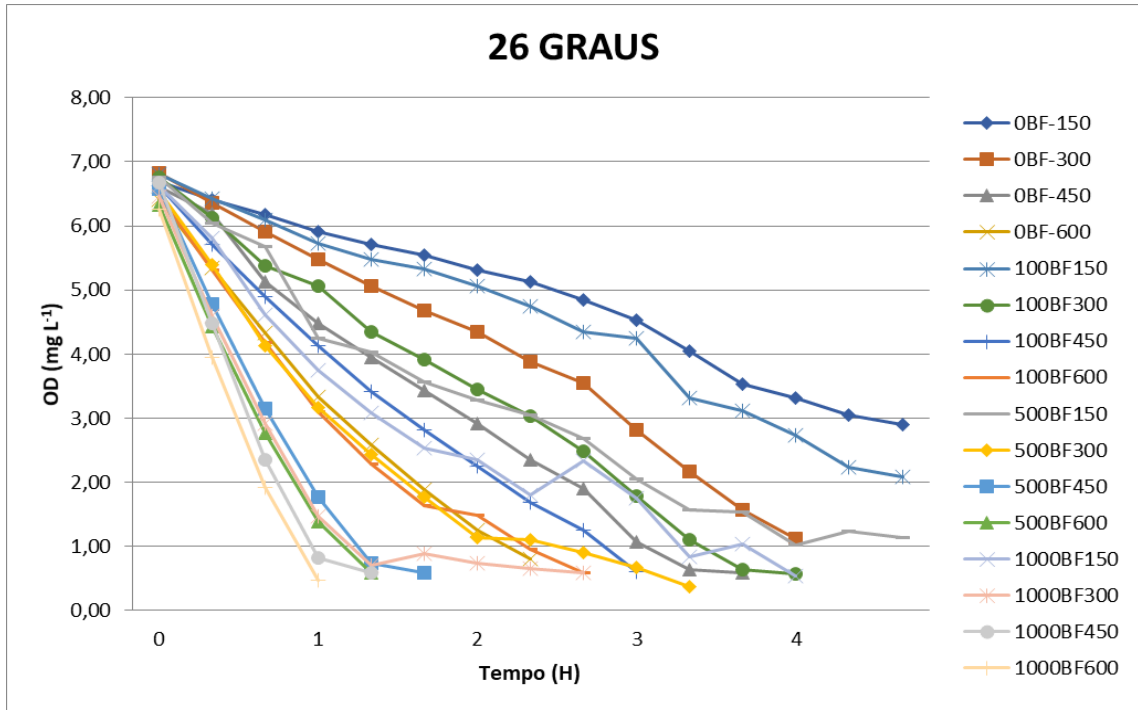


Figura 5 - Consumo de oxigênio dissolvido em 26°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

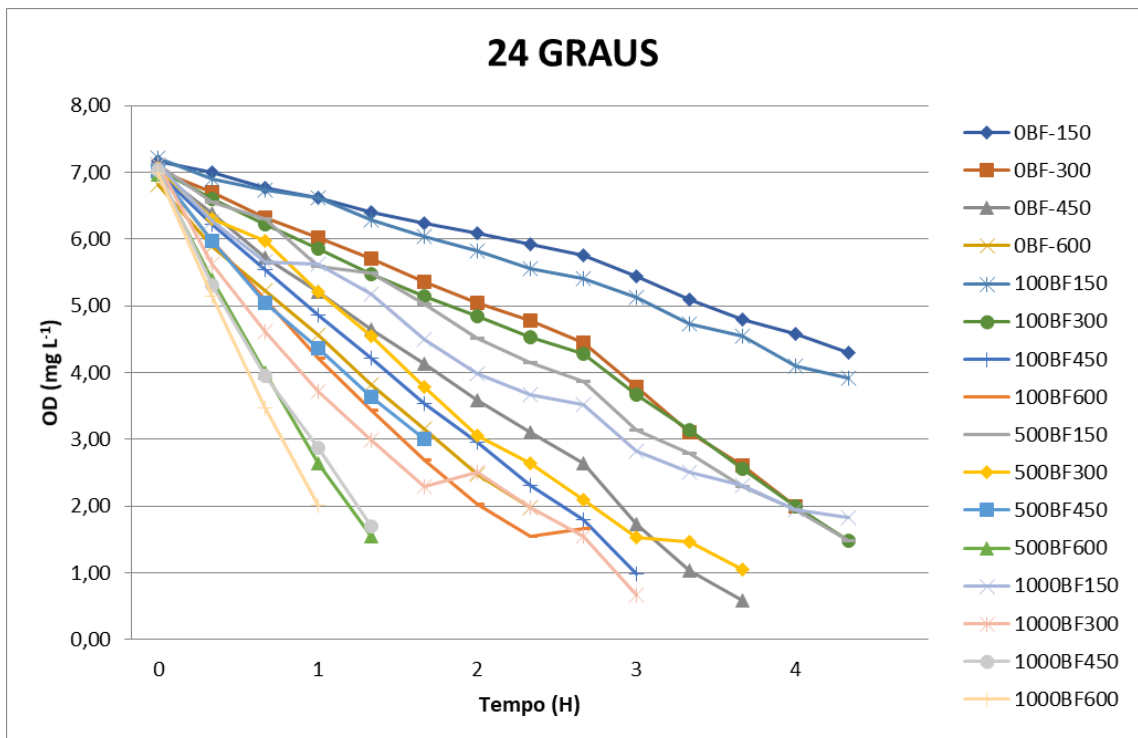


Figura 6 - Consumo de oxigênio dissolvido em 24°C com diferente concentração de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

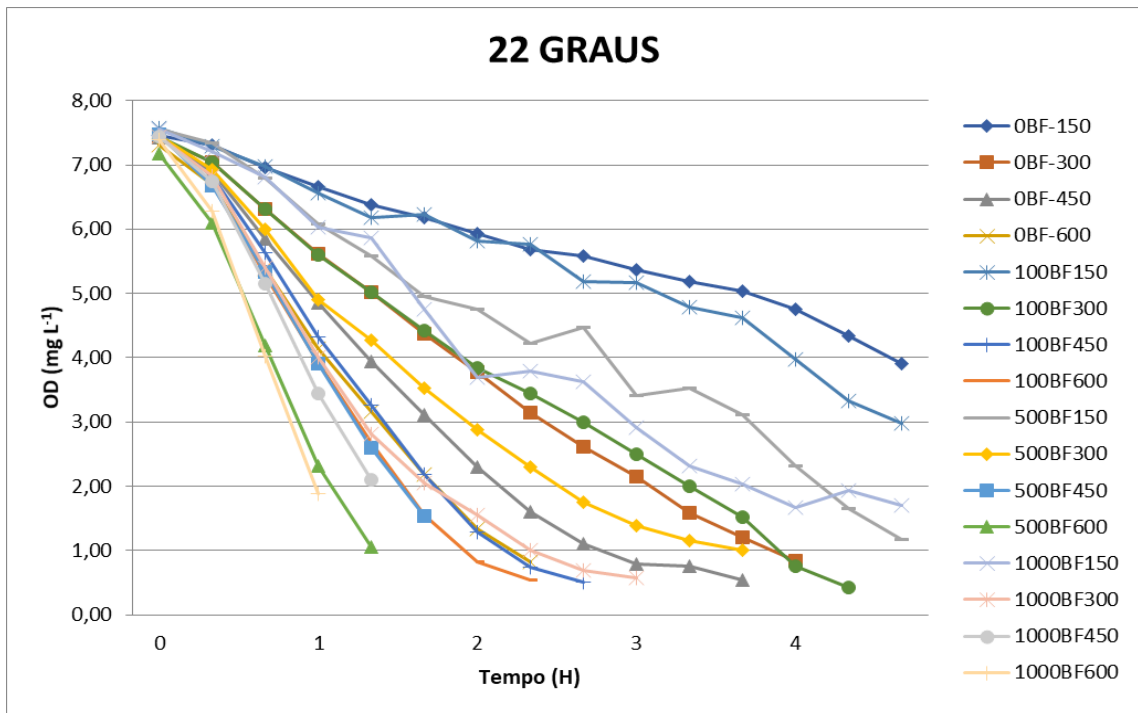


Figura 7 - Consumo de oxigênio dissolvido em 22°C com diferentes quantidades de SST e de densidade de camarões/m³, de um cultivo de juvenis de *L. vannamei*. * Os tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

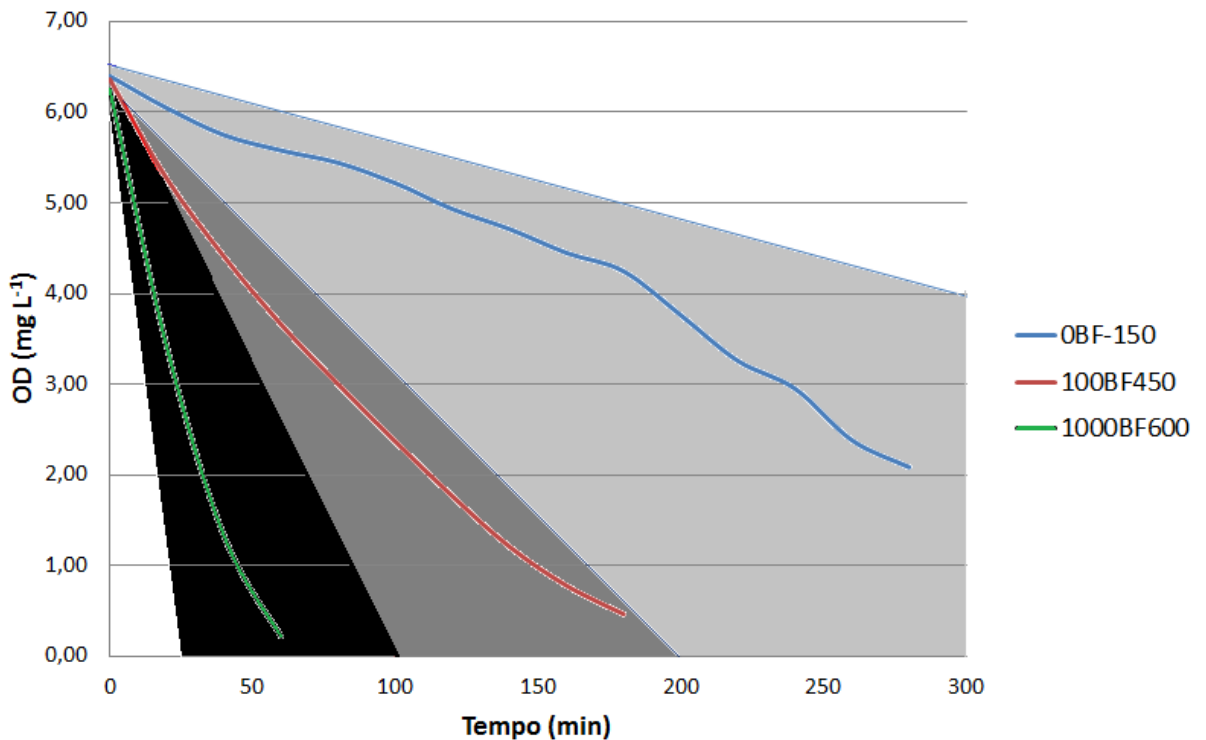


Figura 8 - Determinação das faixas de manejo para o consumo do oxigênio dissolvido em diferentes densidades de cultivo e de bioflocos, para o cultivo de juvenis de *L. vannamei* em 30°C. ● Faixa crítica; ● Faixa de alerta; ● Faixa de precaução. * Os

tratamentos experimentais representam BF=SST mg/L seguidos por densidade de cultivo em camarões/m³.

4.2 Experimento 2 - Efeito da hipóxia e reoxigenação no camarão branco *Litopenaeus vannamei*

Nas figuras 9 e 10, estão representados o dano da peroxidação lipídica (nmol de TMP por g tecido úmido) para os diferentes tratamentos experimentais. O músculo mostrou significativo dano lípido em 24h, e uma recuperação considerável em 72h diminuindo o dano oxidativo, pelo contrário no hepatopâncreas em 72h o seu dano oxidativo se manteve maior nos tratamentos com uma elevada carga de SST (Figura 9C). No músculo a peroxidação é maior nas primeiras 24h e o dano oxidativo vai diminuindo ao longo do tempo, o que representa uma recuperação por parte dos organismos, além disso, o dano oxidativo é maior nos tratamentos com maiores densidades dos camarões (Figura 10B). A peroxidação lipídica se mostra maior conforme a densidade aumenta.

A sobrevivência dos animais foi amplamente afetada pela queda crítica do oxigênio, mostrando uma diferença significativa nas primeiras 24h, com uma maior mortalidade nos tratamentos com maior densidade e maior quantidade de SST (sobrevivência menor a 80%). Ao atingir 48 horas a sobrevivência caiu para valores entre 70 e 50% nos tratamentos de menores densidades. E ao completar as 72 horas de recuperação após o OD atingir um ponto crítico (<0,6 mg/L) levou a uma sobrevivência não maior que 50% em 72 horas, e para os tratamentos de maior densidade dos camarões e bioflocos a sobrevivência oscilou entre 30 e 0%, como demonstradas na tabela 7.

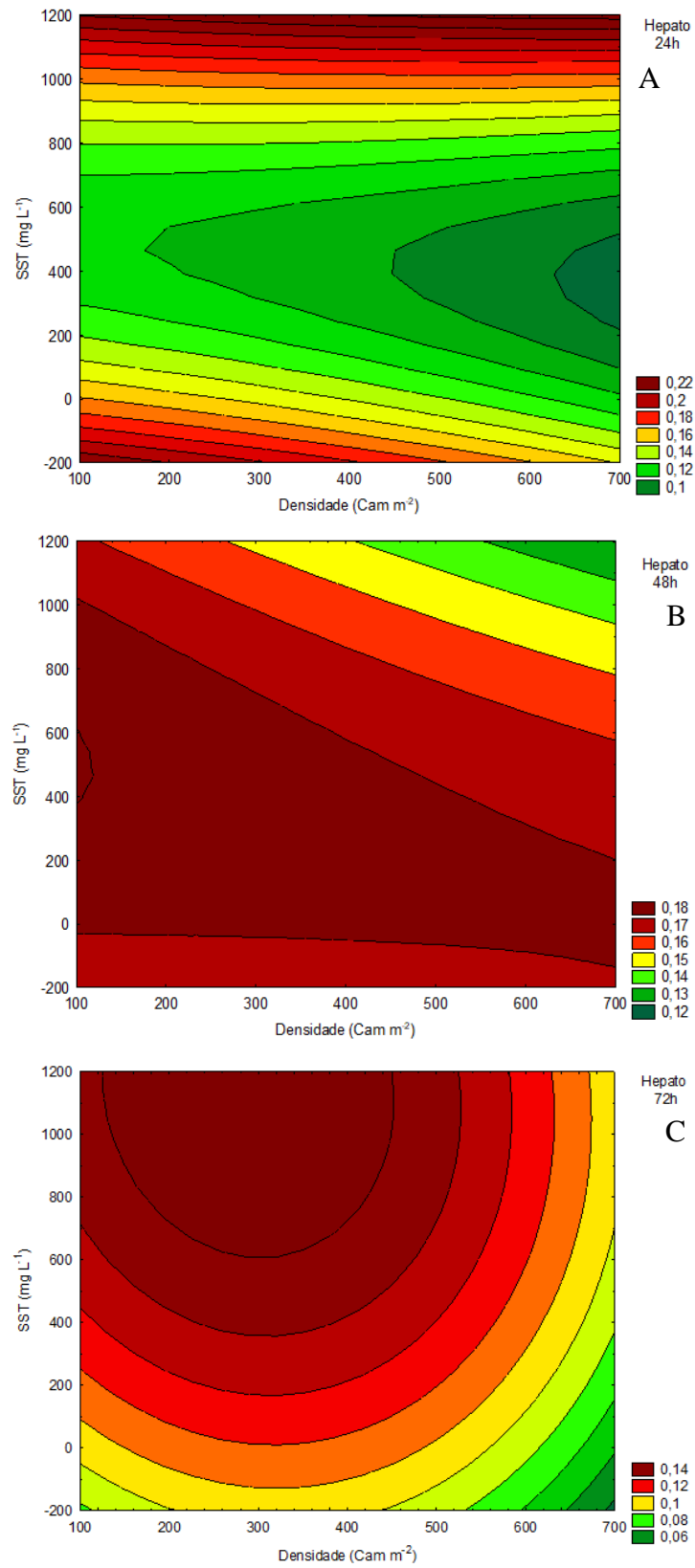


Figura 9 - TBARS – peroxidação lipídica do hepatopâncreas em 24h (A), 48h (B) e 72h (C), medido em nmol de MDA mg⁻¹ de proteína.

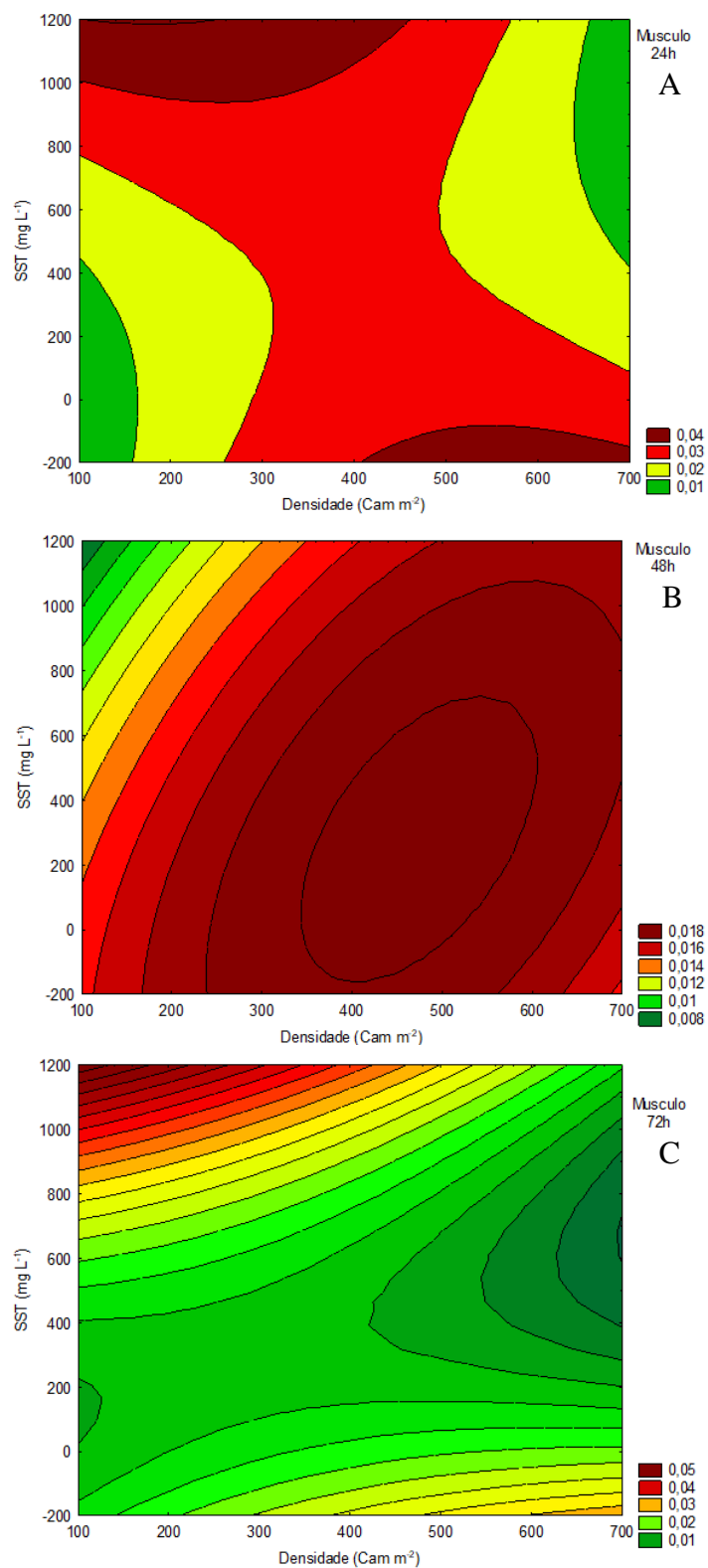


Figura 10 - TBARS – peroxidação lipídica do músculo em 24h (A), 48h (B) e 72h (C), medido em nmol de MDA mg⁻¹ de proteína.

Tabela 7- Sobrevivência ao longo dos diferentes tempos do camarão *L. vannamei* após exposição a hipóxia e reoxigenação, com diferentes quantidades de bioflocos (0, 100, 500 e 1000 mg/L) e densidades (150, 300, 450 e 600 cam/m³).

Tratamento	Densidade Camarões/m ³	BFT mg/L	24h	48h	72h
1	150	0	77,8 ± 19,2 ^a	44,4 ± 19,2	0 ± 0
2	300	0	83,3 ± 0 ^a	66,6 ± 0,03	22,2 ± 19,24
3	450	0	85,12 ± 6,4 ^a	55,5 ± 19,22	22,2 ± 19,22
4	600	0	77,7 ± 7,8 ^a	22,2 ± 15,6	0 ± 0
5	150	100	100 ± 0 ^a	66,6 ± 0	38,8 ± 19,2
6	300	100	94,4 ± 9,6 ^a	66,6 ± 16,6	38,8 ± 25,45
7	450	100	81,4 ± 6,4 ^a	55,53 ± 9,5	44,4 ± 9,6
8	600	100	83,3 ± 16,7 ^a	49,96 ± 16,65	33,3 ± 16,7
9	150	500	88,86 ± 19,2 ^a	62,9 ± 16,9	51,8 ± 16,9
10	300	500	83,3 ± 16,7 ^a	40,7 ± 38,9	49,9 ± 23,5
11	450	500	81,4 ± 6,4 ^a	62,9 ± 6,4	48,1 ± 12,8
12	600	500	66,63 ± 8,35 ^{ab}	49,9 ± 39,2	14,8 ± 25,63
13	150	1000	55,5 ± 19,22 ^b	66,6 ± 14,4	47,1 ± 17,3
14	300	1000	66,63 ± 16,65 ^{ab}	61 ± 17,3	47,2 ± 4,8
15	450	1000	44,4 ± 40 ^b	47,2 ± 4,8	36,06 ± 4,8
16	600	1000	72,2 ± 4,84 ^{ab}	52,7 ± 12,7	36,1 ± 12,73

5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que as temperaturas, densidades e quantidades de SST influenciam significativamente no consumo de OD. As temperaturas influenciaram diretamente no metabolismo que demanda o consumo e requerimento do OD, e que pode resultar numa alta produção de ROS (Reynolds, et al., 1979; Armitage e Wall, 1982).

Não foram encontradas diferenças nos parâmetros pH, nitrito e amônia durante os experimentos, estando os valores dentro da faixa recomendada para o bom crescimento da espécie (Ponce-palafox et al., 1997; Jiang e Pan, 2005; Furtado et al., 2014). Isso se deve a utilização de um biofloco já maduro para a realização dos experimentos e também por se tratar de experimentos rápidos. Não houve diferenças significativas na salinidade, que se manteve a mesma durante todo o período experimental, 30, devido a água do mar utilizada para diluir os bioflocos utilizados.

Durante os experimentos foi observado o rápido consumo de oxigênio em temperaturas mais altas como pode ser vista na tabela 3 aonde nas temperaturas mais

altas como 30 e 28°C o OD chegou a 0,6 mg/L em 30 minutos para o tratamento T16 (maior densidade e SST) enquanto nas temperaturas mais baixas como 22°C o mesmo tratamento levou cerca de 2 horas, isso pode se dar pela solubilidade dos gases na água, pois o calor aumenta a mobilidade das moléculas levando-as para a superfície e assim diminuindo a sua solubilidade (Hill et al., 1993). Resultados similares foram reportados por Vinatea (2010) onde em juvenis de *L. vannamei* com $13,2 \pm 1,42g$ com uma densidade de 1000 cam/m³ levou 30 min para alcançar a anóxia (caso extremo de hipóxia) numa temperatura de 30°C.

A taxa de consumo de OD entre as temperaturas é altamente significativa, destacando-se os 30°C onde ocorre o consumo mais rápido. Na aquicultura podemos experimentar oscilação na temperatura e drásticas condições de hipóxia por diversos fatores relacionados com as flutuações térmicas, o consumo de OD ligado ao metabolismo acelerado dos organismos (Boyd, 1990) é um fator a ser considerado quando se planeja um protocolo de segurança, pois a temperatura considera ótima para o cultivo da espécie com maiores crescimentos varia entre 28 e 30°C (Kubitza, 2003).

No presente trabalho foi determinado o OD $\leq 0,6$ mg/L como nível crítico para *L. vannamei* considerado um nível letal ou com efeito de mortalidade rápida que leva os organismos cultivados a apresentarem comportamentos erráticos, de escape, apresentando sinais de estresse e a mortalidade de animais maiores (Mandenjjan et al., 1987). Em Seidman e Lawrence (1985) estabeleceram a concentração de 1,91 mg/L de OD como nível crítico para *L. vannamei*. O metabolismo elevado nas altas temperaturas que são as consideradas ideais para o cultivo da espécie podem explicar o rápido consumo, além da baixa solubilidade encontrada nessas temperaturas. Já para o nível de alerta foi utilizada uma concentração de OD $\leq 2,0$ mg/L considerado o estado prévio ao ponto crítico (Boyd, 1990). Alguns autores têm reportado que para o camarão, se considera em estado de hipóxia na concentração abaixo de 2,8 mg/L (Mugnier e Soyez, 2005), onde os camarões começam a ter uma depressão compensatória do seu metabolismo para conseguir se manter no ambiente de estresse, e conseguir se manter reduzindo a mortalidade desde que não tenha nenhum outro problema associado a privação de oxigênio (Seidman e Lawrence, 1985; Vinatea et al., 2004). Similar ao aconselhado por Boyd (1990), o presente trabalho detetou 3 tipos de comportamento quanto ao consumo de OD quando ocorre a queda da aeração nas diferentes condições

de produção criadas pelo presente trabalho. Os primeiros 2 grupos têm um consumo de oxigênio que se encaixa numa tendência potencial, enquanto o terceiro grupo se comporta com uma tendência linear a qual nos permite ter mais tempo para reagir tendo em vista uma eventualidade, esses grupos podem ser modificados de acordo com a temperatura de cultivo para prolongar a vida dos camarões caso ocorra uma queda de energia, e conseqüente quebra na suplementação da aeração do sistema.

As densidades de estocagem foram o fator mais significativo no consumo de OD no meio, já que no sistema BFT é comum a utilização de altas densidades isso se torna um fator chave que afeta toda a dinâmica de cultivo. Krummenauer et al., (2011) reportaram que uma densidade de 300 cam/m³ seria o ideal em cultivos BFT pela limitação de oxigênio dissolvido no sistema. Posteriormente, Silveira et al. (2020) relataram que a densidade de 500 cam/m³ pode ser utilizada, mas que o OD é um ponto crucial a ser planejado. O presente trabalho mostra que uma densidade entre 450 e 600 cam/m³ representa um risco latente num cultivo superintensivo onde a queda de energia pode pôr em risco toda a produção. Otoshi et al. (2007) já relatavam problemas com altas densidades de estocagem (600 cam/m³) causando problemas na sobrevivência, saúde e crescimento dos animais. Em 2013 Silva et al. trabalharam com densidades de 450 cam/m³ com grandes sobrevivências e alta produtividade, ainda que não recomenda a densidade maiores, pois teria um efeito direto sobre o crescimento e sobrevivência dos animais.

Nos experimentos utilizando juvenis com $12,2 \pm 1,7$ g, já tinha sido relatado por Vinatea e Bett (2009) que a anóxia pode ser atingida em menos de uma hora utilizando altas densidades, o que confirma o papel essencial da densidade nesse consumo, pois o requerimento de oxigênio vai se incrementando conforme o animal vai crescendo, por isso a mortalidade na ausência de oxigênio é sempre maior nos organismos maiores pois eles tem um maior requerimento para cumprir suas funções metabólicas (Wasielesky et al., 2006; Li et al., 2007; Santa e Vinatea, 2007; Vinatea e Bett, 2009; El-Sayed, 2020).

Como reportado por Silveira et al. (2020), chegaram em uma biomassa do camarão por m³ de 5,27 Kg m³ em sistema de bioflocos. Somado a isso, o valor reportado de SST representa mais 341g m³, totalizando uma biomassa de 5,6 Kg m³. Os tratamentos com maior biomassa no presente estudo representam uma biomassa total equivalente a 8,2 e 6,4 Kg m³ (tratamento 16 e 15 respectivamente), tais biomassas

representam inclusive um risco em condições normais de cultivo. Ainda assim é importante determinar o tempo crítico a ser considerado, pois fatores como SST podem sair do controle e se mostram como fatores de risco num cultivo controlado. Por outro lado, quando os SST são devidamente controlados como o caso do tratamento 7 (450 cam/m³ - 100 mg/L), a biomassa total do tanque não excede os 5,6 Kg/m³, isso sem considerar que a matéria orgânica em decomposição também gera consumo de oxigênio (Avnimelech, 2009).

Já os sólidos suspensos totais foram retirados de um cultivo maduro e mantidos para a concentração e a diluição durante todas as temperaturas. Não houve diferenças significativas entre as quantidades desejadas para as unidades experimentais, que se mantiveram em 100, 500 e 1000 mg/L ao longo de todos os experimentos.

Como reportado por Ebeling et al. (2006), a comunidade bacteriana responsável de converter amônia em biomassa bacteriana precisa do uso de oxigênio para a geração de uma nova biomassa, onde 1 g de amônia total a utilização de aproximadamente 4 g de oxigênio tanto das bactérias heterotróficas como das autotróficas. Por esse motivo, os bioflocos bacterianos reportados como SST representam um risco para o cultivo do camarão. Como esperado após a quebra do fornecimento de oxigênio a concentração do gás dissolvido na água começa a cair bruscamente nos tratamentos que possuem maiores valores de SST como 500 e 1000 mg/L, Gaona et al. (2011) recomendaram manter os SST em valores abaixo de 500 mg/L pois esses valores podem causar um possível prejuízo quando não é realizado um manejo adequado. As possíveis estratégias de controle em caso de uma alta concentração de SST podem ser a clarificação, a troca de água ou a diminuição da temperatura (geralmente associada a troca de água) (Boyd, 1990; Gaona et al., 2017). Já como observado no presente trabalho quando a temperatura diminui, como em 22°C a queda no OD disponível ocorre mais lentamente triplicando quase em todos os tratamentos o tempo de queda de oxigênio, pois o metabolismo dos organismos cultivados está mais lento e a disponibilidade de oxigênio é maior pela difusão maior do gás em temperaturas mais baixas (Hill et al., 1993; Cheng et al., 2005; Chen et al., 2019).

Estes resultados mostram que em um sistema de produção de bioflocos a densidade e a temperatura são os fatores determinantes para o consumo de oxigênio e

são altamente significativos, com isso podemos criar protocolos de segurança para demonstrar quanto tempo leva para o sistema consumir em uma variada gama de condições que podem ser utilizadas durante a produção.

Em alterações da temperatura e quando ela foge da faixa de tolerância da espécie, entre 28 e 30°C, acaba induzindo o animal a um cenário pró oxidante (Feng et al., 2012), que combinado ao estresse provocado pela hipóxia que pode causar dano oxidativo podendo ser letal para a espécie (Reynolds et al., 1979) e aumentando a produção de ROS (Hamanaka e Chandel, 2010).

A produção de ROS compreende diversas espécies químicas, formados durante os processos normais de metabolismo, e podem desencadear a peroxidação lipídica (Pisoschi e Pop, 2015). Além disso, de todo o oxigênio consumido é estimado que 0,1 a 0,2% venha a se transformar em ROS e, portanto, é acompanhado de uma toxicidade latente (Fridovich, 2004), que pode resultar em dano às proteínas, DNA e lipídeos, comprometendo a sobrevivência dos organismos (Bandyopadhyay et al., 1999). Durante o período de reoxigenação do presente estudo, foi percebido que o hepatopâncreas teve uma maior peroxidação lipídica que o músculo provavelmente relacionado ao teor lipídico e somado a uma alta atividade metabólica, que resulta em um dano maior a outros tecidos em períodos de hipóxia (Lehmann et al., 2015). Geihs, et al. (2013) relataram que mesmo após a retomada do oxigênio nos tanques ou reoxigenação danos permanentes podem ser gerados principalmente em atividades que demandam muita energia.

O estresse oxidativo pode ser indicado por elevados níveis de produtos da peroxidação lipídica (TBARS) que se acumulam no hepato dentro de minutos após o estresse (Hermes-Lima et al., 1998), o que explicaria os resultados obtidos nas análises do hepatopâncreas onde encontramos dano em 24h que continua se fazendo presente até o final do período de 72 h (Figura 9), ao contrário do músculo onde foi notado dano em 24 h e 48 h , porém em 72 h foi visto uma recuperação principalmente nos tratamentos com menores densidades de camarões e menores quantidades de como se pode observar na figura 10.

Altas densidades causam dano oxidativo aos animais cultivados pois conforme o crescimento do animal ao longo da produção o requerimento de OD necessário vai sendo ampliado, chegando a um momento onde a capacidade de suporte do meio será

atingida e não mais atenderá as necessidades do animal causando uma situação estressora e levando o animal a aumentar a sua produção de ROS levando a um dano como a peroxidação lipídica, por isso a grande mortalidade nos organismos maiores é observada quando são submetidos a situações como a parada de fornecimento de oxigênio (Wasielesky et al., 2006; Li et al., 2007; El-Sayed, 2020)

Gaona et al. (2017) mostraram que elevadas quantidades de SST podem causar um excesso de matéria suspensa no tanque o que além de diminuir a qualidade de água também pode ocasionar o tamponamento das brânquias dos animais cultivados, esse tamponamento poderia explicar o por que tratamentos com SST elevados (1000 mg/L) continuaram causando dano após as 72h de reoxigenação, o estresse causado aos organismos pelo excesso de bioflocos microbianos disponíveis pode ser uma das causas do dano oxidativo que causa a peroxidação lipídica, no mesmo trabalho os autores recomendam uma faixa entre 100 – 300 mg/L para o sucesso no sistema BFT.

O sistema antioxidante, segundo Kaur et al. (2005), pode ser induzido pelo estresse oxidativo ou suprimido/inibido em situações de oxidação severa causadas por um estresse crítico. Em situações de estresse fora da zona crítica os antioxidantes ajudam o organismo na recuperação dos tecidos atingidos pelo dano oxidativo. A produção de peroxidação lipídica nesse trabalho parece estar diretamente relacionada com a densidade de cultivo, o estresse causado pelas altas densidades foi significativamente diferente mostrando que o estresse pode acabar enfraquecendo o sistema antioxidante, incrementando o dano e o aparecimento de ROS.

A sobrevivência dos animais foi muito afetada pelo estresse causado pelos períodos de hipóxia com uma diferença significativas nas primeiras 24h, nos tratamentos que possuíam densidades de SST e camarão maiores mostrando uma sobrevivência abaixo de 80%. Em 48 h as diferenças começaram a aparecer nos tratamentos com menores densidades de camarão e SST, o que pode ser explicado pelo requerimento de OD ser maior em animais maiores como os utilizados no experimento. Animais de $12,2 \pm 1,78g$, já considerado um tamanho comercial, com a chegada das 72h após a exposição a hipóxia a sobrevivência não foi maior que 50%, enquanto nos tratamentos de maiores densidades e SST ela ficou entre 30 e 0%. Nonwachai et al. (2011) relataram que quando os camarões são expostos a concentrações de OD menores que 2 mg/L a sobrevivência foi de pouco mais que 50%.

A elevada concentração de SST pode ainda explicar as grandes mortalidades nos tratamentos com bioflocos elevados (500 e 1000 mg/L), pois afeta diretamente o crescimento e a sobrevivência (Ray et al., 2010), além de afetar a qualidade de água pode ocasionar uma oclusão nas brânquias como relatado por Gaona et al., (2017), que faria o dano oxidativo se prolongar mesmo com o retorno da aeração. A falta de oxigênio combinado com a reoxigenação é um fator estressante para os animais podendo afetar a sua capacidade de manter a sua homeostasia e o seu metabolismo afetando diretamente na sua sobrevivência (Zhou et al., 2009). Levando em consideração que os animais conseguem se manter no estado basal para prevenir a mortalidade desde que não tenha nenhum outro problema associado a privação de OD acreditamos que o estresse de altas densidades de estocagem, combinado aos alto níveis de SST acabaram por causar altas mortalidades quando esses organismos foram expostos ao estresse da deficiência de oxigênio (Seidman e Lawrence, 1985; Vinatea, 2004; Ferreira, 2010).

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, um protocolo de segurança de oxigênio para cultivo de camarão em sistema de bioflocos deve considerar como críticos os seguintes parâmetros de cultivo: densidade de cultivo, temperatura de cultivo, quantidade de SST, além disso, é ressaltamos a importância de não sair da faixa de segurança de OD em 2mg/L.

Recomendamos a utilização da tabela do Anexo 1 para estimar o tempo de segurança, nos cultivos em sistema BFT atualmente os produtores utilizam densidades variando entre 300-450 cam/m³, em temperaturas de 28 a 30°C e SST em 500 mg/L o OD pode diminuir drasticamente após a quebra no fornecimento de aeração causando grandes mortalidades entre 60 minutos e 100 minutos.

De acordo com os resultados encontrados em ambos os experimentos, observamos que a densidade de cultivo e de bioflocos no sistema BFT, assim como a temperatura pode influenciar diretamente no consumo do oxigênio dissolvido no meio e no desempenho dos camarões.

Para cultivos em maiores densidades recomendamos que um sistema de controle dos SST seja feito rigorosamente para evitar um maior consumo de OD. Assim

como um sistema de alarme que permita identificar a queda de oxigênio o mais rápido possível, o que permitirá uma rápida tomada de decisões.

O segundo experimento mostrou que durante o período de 72h após a exposição dos organismos cultivados ocorre uma recuperação fisiológica dos animais, porém mesmo podendo se recuperar do dano fisiológico, a sobrevivência após ter atingido um nível crítico pode causar severos danos aos parâmetros produtivos e consequentemente à lucratividade da produção.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos experimentos demonstra-se, que tanto a densidade de cultivo quanto a densidade dos bioflocos (SST) tem um índice de risco numa produção de camarão, pelo que se recomenda deve-se considerar tanto a carga da biomassa no sistema como um protocolo que permita controlar a produção de SST nos tanques. O que poderá evitar grandes perdas em caso de um problema elétrico. Porém, é recomendado detectar e evitar cultivar organismos na faixa crítica de cultivo sem ter um sistema auxiliar de oxigenação em casos de falhas no suprimento.

Mais estudos relacionados à influência dessas variáveis são encontrados no sistema BFT, mas essas variáveis aplicadas ao consumo de oxigênio ainda não foram pesquisadas. Sobre o consumo de oxigênio pelo bioflocos mais estudos devem ser realizados para o total entendimento para que os controles sobre todos os processos dentro da produção sejam conhecidos. Os efeitos da reoxigenação nesses sistemas ainda são escassos, recomenda-se maiores estudos em relação à reoxigenação gradual e com adição de substâncias como o peróxido de hidrogênio.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMADO L., GARCIA M., RAMOS P.B., FREITAS R.F., ZAFALON B., FERREIRA L., YUNES J.S., MONSERRAT J.M., A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the Total Environment**. 407: 2115–2123, 2009.
- AMINOT, A. E., CHAUSSEPIED, M. **Manuel des analyses chimiques en milieu marin**. Centre National pour l'Exploitation des Océans: Brest. ISBN 2-902721-10-2. 395 pp, 1983.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington. v. 2, cap.35, 1-30, 1999.
- APHA AWWA WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC, 1998.
- ARMITAGE K. B. AND WALL T. J. The effects of body size, starvation and temperature acclimatization on the oxygen consumption of the crayfish *Orconectes nais*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 73A 63-68, 1982.
- AVNIMELECH, Y. **Biofloc Technology. A Practical Guidebook**, 3rd edn. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, LA, 2015.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture** 264, 140–147, 2007.
- AVNIMELECH, Y; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using N-15 tracing. **Aquaculture**. 287 (1-2), 163-168, 2009.
- BANDYOPADHYAY, U., DAS, D., BANERJEE, R.K. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. **Current Science**. India 77, 658–666, 1999.
- BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G., Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, 23(4):629-643, 2010.

- BETT, C.; VINATEA, L. Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. **Brazil Journal of Oceanography**, 57, (4): 305-314, 2009.
- BIRBEN E, SAHINER UM,SACKESEN C, ERZURUM S,KALAYCI O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**, 5, 9-19, 2012.
- BOYD, C. Water quality in warmwater fishponds. **Agricultural Experiment Station**. Opelika, Alabama, USA: Auburn University. 359p, 1990.
- CHEN B.-J., FU, S.-J., Effect of temperature on critical oxygen tension (Pcrit) and gill morphology in six cyprinids in the Yangtze River, China. **Aquaculture**. 508: 137-146, 2019.
- CHENG, W., WANG, L., CHEN, J. Effect of water temperature on the immune responses of whiter shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. **Aquaculture**, 250: 592-601, 2005.
- COYLE S.D., BRIGHT, L.A., WOOD, D.R., NEAL, R.S., TIDWELL, J.H. Performance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in zero-exchange tank systems exposed to different light sources and intensities. **Journal of the world aquaculture society**. 42 (5): 687–695, 2011.
- DONG, X. Y., QIN, J. G., ZHANG, X. M. Fish adaptation to oxygen variations in aquaculture from hypoxia to hyperoxia. **Journal of Fisheries and Aquaculture**, 2(2): 23-28, 2011.
- EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**. 257: 346 –358, 2006.
- EL-SAYED, A. M. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade. **Reviews in Aquaculture**, (13):1–30, 2020.

- EMERENCIANO M., GAXIOLA G, CUZON G. Biofloc technology (BFT): A review for aquaculture application and animal food industry. **Matovic (ed.) Biomass Now-Cultivation and Utilization**, pp. 301 – 328. Rijeka, Croatia: InTech Open, 2013.
- FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. **Sustainability in action**. Rome, 2020.
- FENG, G.P., ZHUANG, P., ZHANG, L.Z., DUAN, M., LIU, J.Y. Effects of temperature on oxidative stress biomarkers in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) under laboratory conditions. **Advanced Materials Research**. 343: 497 – 504, 2012.
- FERREIRA, L. M. Cancer metabolism: the Warburg effect today. **Experimental and molecular pathology**, 89: 372-80, 2010.
- FONDEVILA, C., BUSUTTIL, R. W.; KUPIEC-WEGLINSKI, J. W., Hepatic ischemia/reperfusion injury: a fresh look. **Experimental and molecular pathology**, New York, 2 ,(74): 86 - 93, 2003.
- FRIDOVICH, I. Mitochondria: are they the seat of senescence? **Aging Cell** 3: 13 – 16, 2004.
- FRY, F. E. J. The effect of environmental factors on the physiology of fish. Pages 1-98. In: W. S. Hoar and D. J. Randall (eds.), *Fish Physiology*, Vol. 6. **Academic Press**, New York, 1971.
- FURTADO, S., SERRA, F. P., POERSCH, L.H., WASIELESKY, W., Acute toxicity of hydrogen peroxide in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology systems. **Aquaculture International**. 22:653 – 659, 2014.
- GAONA, C. A. P.; DE ALMEIDA, M. S.; VIAU, V.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JR, W. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. **Aquaculture Research**, 48,(3):1070 - 1079, 2017.
- GAONA, C.A.P., POERSCH, L.H., KRUMMENAUER, D., FOES, G.K.,

- WASIELESKY, W.J. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. **International Journal of Recirculating Aquaculture**. 12:54 – 73, 2011.
- GEIHS, M. A., MACIEL, F. E., VARGAS, M, A., CRUZ, B. P., NERY, L. E. M. Effects of hypoxia and reoxygenation on the energetic metabolism of the crab *Neohelice granulata* (Decapoda, Varunidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 445: 69-79, 2013.
- GRANGER, D. N. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. **American Journal of Physiology**, 255:1269 - 1275, 1998.
- HAMANAKA, R. B.; CHANDEL, N. S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. **Trends in Biochemical Sciences**, 35:505 – 513, 2010.
- HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K. B. (Ed.). **Functional metabolism: regulation and adaptation**. New Jersey: John Wiley & Sons. p. 319-368, 2004.
- HERMES-LIMA, M., STOREY, J.M., STOREY, K.B. Antioxidant defenses and metabolic depression. the hypothesis of preparation for oxidative stress in landsnails. **Comparative Biochemistry and Physiology**. B 12: 437 – 448, 1998.
- HERMES-LIMA, M.; ZENTENO-SAVÍN, T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 133: 537 - 556, 2002.
- HILL, J. W., FEIGL, D. M., BAUM, S. J. Chemistry and life. An introduction to general, organic, **Biological chemistry**. 4^a Ed. Nova York: Macmillan, 1993.
- JACKSON, C.J., WANG. Modelling growth rate of *Penaeus monodon* Fabricius in intensively managed ponds: effects of temperature, pond age and stocking density. **Aquaculture Research**., 29: 27–36, 1998.
- JIANG, L., PAN, L. Effect of dissolved oxygen on immune parameters of the white

- shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology** 18(2):185-8, 2005.
- KAUR, M., ATIF, F., ALI, M., REHMAN, H., RAISUDDIN, S. Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch. **Journal of Fish Biology**. 67: 1653 – 1665, 2005.
- KRUMMENAUER, D., PEIXOTO, S., CAVALLI, R. O., POERSCH, L. H., WASIELESKY JR, W. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42(5): 726 - 733, 2011.
- KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. (1º edição) Jundiaí: F. Kubitza, 2003.
- LARA, G., KRUMMENAUER, D., ABREU, P. C., POERSCH, L. H., WASIELESKY, W. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. **Aquaculture International**, 25, (1): 147 - 162, 2017.
- LEHMANN, M., SCHLEDER, D. D., JATOBÁ, A., Suscetibilidade do camarão-branco do Pacífico à infecção com *Vibrio alginolyticus* em diferentes saturações de oxigênio. **Revista Agropecuária Catarinense**., 28, (2): 67 - 70, 2015.
- LI, E., CHEN, L., ZENG, C.; CHEN, X., Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. **Aquaculture** 265: 385-390, 2007.
- LIMA, J. P. V.; BRITO, L.O.; COSTA, W.M.; COSTA, W. M.; GÁLVEZ, A. O. Utilização de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no incremento de oxigênio dissolvido em cultivo de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.17: 73-77, 2012.
- LOBATO, R. O.; CRUZ, L. C.; JOSENDE, M. E.; TAVARES, P. B.; WASIELESKY, W.; MACIEL, F. E.; VENTURA-LIMA, J. Lipoic acid modulates energetic metabolism and antioxidante defense systems in *Litopenaeus vannamei* under

- hypoxia/reoxygenation conditions. **Aquaculture**. 497: 396 - 404, 2018.
- LUSHCHAK, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**. 101: 13 – 30, 2011.
- MANDENJIAN, C., ROGERS, G., FAST, A., Predicting night time dissolved oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: part II. A new method. **Aquacultural Engineering**, 6:209-285, 1987.
- MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (Hemocytin). **Journal of Biological Chemistry**, v. 244, p. 6049–6055, 1969.
- MUGNIER, C., SOYEZ, C. Response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to temperature decrease and hypoxia in relation to molt stage. **Aquaculture**. 244: 315–322, 2005.
- NONWACHAI, T., PURIVIROJKU, W., CHUCHIRD, N. E LIMSUWAN, C., Effects of dissolved oxygen levels on growth, survival and immune response of juvenile Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Kasetsart University Fisheries Research Bulletin**. 35, (2) 2011.
- OAKES K.D, VAN DER KRAAK G.J. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. **Aquatic Toxicology**. 63:447 – 463, 2003.
- OTOSHI, C. A., SCOTT, M. S., NAGUWA, F. C., MOSS., S. M., Shrimp behavior may affect culture performance at super-intensive stocking densities. **Global Aquaculture Advocate** 2: 67 – 69, 2007.
- PISOSCHI, A.M., POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 97: 55 - 74, 2015.
- PONCE-PALAFOX, J., MARTINEZ-PALACIOS, C.A., ROSS, L.G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture**. 157, (1–2): 107 - 115, 1997.

- RAY, A.J., LEWIS, B.L., BROWDY, C.L., LEFFLER, J.W. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture** 299 (1-4): 89–98, 2010.
- REYNOLDS W.W. Perspectives and introduction to the symposium: thermoregulation in ectotherms. **Integrative and Comparative Biology**. 19: 193-194, 1979.
- SANTA, K. D.; VINATEA, L. Evaluation of respiration rates and mechanical aeration requirements in semi-intensive shrimp *Litopenaeus vannamei* culture in ponds. **Aquacultural Engineering** 36:73-80, 2007.
- SCHVEITZER, R. ARANTES, R., COSTÓDIO, P. F. S., B, SANTOS, C. M. E., ARANA, L. V. SEIFFERT, W. Q., ANDREATTAA E.R. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering** 56: 59 – 70, 2013.
- SEIDMAN, E. R., LAWRENCE, A. L. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. **Journal of the world aquaculture society**. 16:333-346, 1985.
- SIES, H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. **Current Opinion in Toxicology**. 7: 122 – 126, 2018.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **EJB Reviews**, 101-107, 1993.
- SILVA, F. A.; LARA, G. R.; BALLESTER, E. C.; KRUMENNAUER, D.; ABREU, P. C.; WASIELESKY, W. J. Efeito das altas densidades de estocagem no crescimento e sobrevivência de *Litopenaeus vannamei* na fase final de engorda, cultivados em sistemas de Bioflocos (BFT). **Ciência Animal Brasileira**, 14, (3): 279 - 287, 2013.
- SILVA Jr., O. C.; CENTURION, S.; PACHECO, E. G.; BRISOTTI, J. L.; OLIVEIRA, A. F.; SASSO, K. D. Aspectos básicos da lesão de isquemia e reperfusão e do pré

- condicionamento isquêmico. **Acta Cirurgica Brasileira**, 17, (c3): 96 - 100, 2002.
- SILVEIRA, L. G. P.; KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L. H.; ROSAS, V. T.; WASIELESKY, W. Hyperintensive stocking densities for *Litopenaeus vannamei* grow-out in biofloc technology culture system. **Journal of the World Aquaculture Soc.** 1–11, 2020.
- SOUZA, D.M., KUTTER, M.T., FURTADO, P.S., ROMANO, L.A., WASIELESKY, W., MONSERRAT, J.M., GARCIA, L. Growth, antioxidant system, and immunological status of shrimp in bioflocs and clear water culture systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 54: 2019.
- STRICKLAND, JDH, PARSONS. T.R., A practical handbook of seawater analysis. **Fisheries Research Board of Canada**. 1972.
- TAHIM, E. F.; DAMACENO, M. N.; ARAÚJO, I. F. Trajetória tecnológica e sustentabilidade ambiental na cadeia de produção da carcinicultura no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 57,(1): 093 - 108, 2019.
- TIAN, X.; DONG, S.; WANG, F.; WU, L. The effects of temperature changes on the oxygen consumption of juvenile Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* Osbeck. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 310, 59-72, 2004.
- UNESCO. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, **Intergovernmental Oceanographic Commission**. Paris, France, 1983.
- VINATEA, L. Fundamentos de Aquicultura. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, p. 349, 2004.
- VINATEA, L.; GALVEZ, A.O.; BROWDY, C.L. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering** 42. 17–24, 2010.

WASIELESKY, W., ATWOOD, H., STOKES, A., BROWDY, C.L. Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture** 258: 396 – 403, 2006.

ZAR, JH. Biostatistical Analysis. Upper Saddle River: Prentice Hall. 2010.

ZHOU, J., WANG, W., WANG, A., HE, W., ZHOU, Q., LIU, Y., XU, J., Glutathione S-transferase in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Characterization and regulation under pH stress. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C** 150: 224- 230, 2009.

ANEXO 1. Tempo limite recomendado de reação (minutos) para evitar que o OD na água de cultivo atinja valores < 2,0 mg/L em diferentes temperaturas e em diferentes condições de cultivo.

(Camarão/m ³)	SST (mg/L)				
	0	100	500	1000	
150	270	150	200	150	Temperatura 30°C
300	120	120	100	100	
450	100	80	50	50	
600	70	60	40	40	
150	300	260	180	150	Temperatura 28°C
300	170	160	90	80	
450	120	120	60	60	
600	80	60	40	40	
150	300	280	180	150	Temperatura 26°C
300	260	160	100	80	
450	140	120	60	60	
600	100	100	60	60	
150	300	300	260	240	Temperatura 24°C
300	280	250	160	120	
450	200	160	100	80	
600	120	120	80	60	
150	300	300	300	280	Temperatura 22°C
300	280	280	260	180	
450	200	180	160	160	
600	180	160	120	120	