



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
CURSO DE OCEANOGRAFIA**

BRUCE BASTOS MELLO

**DESEMPENHO GONADAL DE ADULTOS DO *Penaeus vannamei* ALIMENTADOS
COM DIETAS SEMI-UMIDAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE KRILL FRENTE
A REDUÇÕES DE ALIMENTO FRESCO**

FORTALEZA

2023

BRUCE BASTOS MELLO

DESEMPENHO GONADAL DE ADULTOS DO *Penaeus vannamei* ALIMENTADOS
COM DIETAS SEMI-UMIDAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE KRILL FRENTE A
REDUÇÕES DE ALIMENTO FRESCO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Oceanografia do Instituto de Ciências do
Mar, da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Alberto J. P. Nunes
Coorientadora: Dra. Jordana Sampaio Leite

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B326d Bastos Mello, Bruce.

DESEMPENHO GONADAL DE ADULTOS DO *Penaeus vannamei* ALIMENTADOS COM DIETAS SEMI-UMIDAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE KRILL FRENTE A REDUÇÕES DE ALIMENTO FRESCO / Bruce Bastos Mello. – 2023.

45 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Oceanografia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

Coorientação: Profa. Dra. Jordana Sampaio Leite.

1. Camarão. 2. Carcinicultura. 3. Maturação. 4. Reprodutores. I. Título.

CDD 551.46

DESEMPENHO GONADAL DE ADULTOS DO *Penaeus vannamei* ALIMENTADOS
COM DIETAS SEMI-UMIDAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE KRILL FRENTE A
REDUÇÕES DE ALIMENTO FRESCO.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Oceanografia do Instituto de Ciências do
Mar, da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Oceanografia.

Aprovada em: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Jordana Sampaio Leite
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Esaú Aguiar Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, em especial a minha mãe Susana de Oliveira e ao meu irmão Bruno Bastos pelo apoio e conselhos quando preciso.

Ao Professor Alberto Nunes pela orientação, ensinamentos e conselhos.

A Jordana Sampaio, pelo auxílio durante toda a pesquisa.

A todos os funcionários do LANOA que tornaram essa pesquisa viável, em especial Sandra Maria, Sebastião Junior, Antônio Carlos e Rayssa.

E ao LABOMAR-UFC por possibilitar a graduação.

RESUMO

A maturação de camarões ocorre por meio de manipulação hormonal, ambientais e nutricionais. A principal forma utilizada para a maturação dos reprodutores no setor comercial é a nutricional, pois induz o desenvolvimento ovariano das fêmeas. Novas alternativas de alimentação estão sendo buscadas para eliminar o uso de alimento fresco, que acarreta uma gama de problemas, como risco de biossegurança, contaminação cruzada, baixo estoque de alimento fresco e instabilidade da qualidade. Desse modo, o estudo teve como objetivo avaliar o potencial de redução de alimento fresco na alimentação de reprodutores de *P. vannamei* juntamente com a suplementação com óleo de krill. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) do Centro de Estudos Ambientais Costeiros (CEAC) do Instituto de Ciências do Mar (Labomar/UFC). Foram usados cinco tanques circulares de lona plástica de PVC suspenso com estrutura de aço de carbono galvanizado com 6,37m³ de volume total (2,60 m de diâmetro x 1,20 de profundidade = 5,31 m² de área de fundo) mantidos no ar livre. Um total de 135 camarões com PC de 21,47 ± 1,89g foram obtidos e estocados na densidade de 5,1 camarões/m² (27 camarões por tanque) nos tanques experimentais. Os animais foram cultivados por um período de 23 dias, sendo alimentados com ração comercial contendo 38% Proteína Bruta (PB). Após 76 dias de cultivo, a sobrevivência média dos camarões alcançou 81,7 ± 12,1%. Os camarões sob regime alimentar 80-20-KO foram os únicos a alcançarem 100% de sobrevivência. O maior crescimento semanal foi observado para o regime alimentar KRL (1,80g), seguido do 80-20-KO (1,33g) e 80-20-CTL (1,15g). Através do presente estudo, conclui-se que as condições experimentais, onde os camarões foram alimentados sob diferentes combinações de alimento fresco (lula) e dieta comercial e (ou) laboratorial, com ou sem suplementação de óleo de krill, permitem o desenvolvimento gonadal.

Palavras-chave: carcinicultura, reprodutores, maturação.

ABSTRACT

The maturation of shrimp occurs through hormonal, environmental and nutritional manipulation. The main form used for the maturation of broodstock in the commercial sector is nutritional, inducing the ovarian development of females. New feeding alternatives are being sought to eliminate the use of fresh food, which entails a range of problems, such as biosecurity risk, cross-contamination, low fresh food stock and quality instability. The study aimed to evaluate the potential for reduction of fresh food in the feeding of *P. vannamei* breeders along with krill oil supplementation. The research was carried out at the Laboratory of Nutrition of Aquatic Organisms (LANOA) of the Center for Coastal Environmental Studies (CEAC) of the Institute of Marine Sciences (Labomar/UFC). Five circular tanks of suspended PVC plastic canvas with galvanized carbon steel structure with 6.37m³ of total volume (2.60 m diameter x 1.20 m depth = 5.31 m² bottom area) kept outdoors. A total of 135 shrimps with CP of 21.47 ± 1.89g were obtained and stored at a density of 5.1 shrimps/m² (27 shrimps per tank) in the experimental tanks. The animals were cultivated for a period of 23 days, being fed with commercial feed containing 38% CP. After 76 days of cultivation, the average survival of shrimp reached 81.7 ± 12.1%. Shrimp on an 80-20-KO diet were the only ones to achieve 100% survival. The highest weekly growth was observed for the KRL diet (1.80g), followed by 80-20-KO (1.33g) and 80-20-CTL (1.15g). Through the present study, it is concluded that the experimental conditions, where the shrimps were fed under different combinations of fresh food (squid) and commercial diet and (or) laboratory, with or without krill oil supplementation, may present gonadal development.

Keywords: shrimp farming, breeding, maturation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição (% , base natural) da dieta fabricada em laboratório a base de farinha de krill.	19
Tabela 2	Proporção (%) diária de cada alimento segundo o regime alimentar adotado.	24
Tabela 3	Taxa de alimentação (% da base úmida) adotada para os diferentes regimes alimentares.	25
Tabela 4	Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões cultivados durante 76 dias com alimento fresco, dieta artificial e (ou) dieta laboratorial.	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Superior, dieta comercial (esquerda) e lula (direita). Inferior, óleo de krill (esquerda) e dieta laboratorial (direita).	20
Figura 2	Tanque de lona utilizado no estudo com reprodutores.	21
Figura 3	Processo de seleção de camarões para o estudo.	22
Figura 4	Despesca e repovoamento dos camarões.	23
Figura 5	Manejo adotado durante a alimentação dos reprodutores.	27
Figura 6	A, medição do comprimento do <i>P. vannamei</i> . B, despesca dos camarões ao final da pesquisa. C, pesagem individual dos camarões.	28
Figura 7	A, gônadas femininas. B, espermatóforos. C, fêmea aberta com as gônadas expostas, desde a região cardíaca até o télson. D, macho com espermatóforos expostos. E, gônadas fixadas em AFA Davidson.	29
Figura 8	A, lâmina coradas. B, processo de montagem dos blocos de parafina. C, banho de etanol. D, desbastamento no micrótomo. E, análise em microscópio.	31
Figura 9	Estágios gonadais observados através da histologia. A, em maturação. B, maduro. C, maduro D, maduro.	33
Figura 10	Classificação dos estágios de maturação das fêmeas segundo cor e tamanho dos ovários utilizando um foco de luz.	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Dinâmica dos parâmetros de qualidade de água ao longo do cultivo.	36
Gráfico 2	Peso corporal (g) dos camarões (fêmeas e machos). Valores apresentados como médio \pm erro padrão. Letra em comum nas colunas indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey HSD ao nível de 0,05.	39
Gráfico 3	Peso úmido (g) das gônadas (GND) e do hepatopâncreas (HP) e índice gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) de fêmeas e machos do camarão <i>P. vannamei</i> submetidos a diferentes regimes alimentares.	41
Gráfico 4	Valores apresentados como média \pm erro padrão. Estágios de maturação gonadal de fêmeas não abladadas do <i>P. vannamei</i> segundo avaliações visuais da cor e tamanho dos ovários e em resposta ao regime alimentar.	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DFP	Dieta Floculada Pastosa
DFL	Dieta Floculada Liofilizada
DC	Dieta Controle
PB	Proteína Bruta
PL	Pós-Larva
CTL	Controle
KO	Óleo de Krill
KRL	Farinha de Krill
LANOA	Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos
CEAC	Centro de Estudos em Aquicultura Costeira
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
UFC	Universidade Federal do Ceará
PVC	Policloreto de vinila
PC	Peso Corporal
IGS	Índice Gonadossomático
IHS	Índice Hepatossomático
GND	Gônadas
HP	Hepatopâncreas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivos Gerais.....	15
2.2	Objetivos Específicos.....	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1	Local e Desenho Experimental.....	16
3.2	Alimento Fresco, Dietas Artificiais e Regimes Alimentares.....	16
3.3	Sistema de Cultivo, Povoamento e Manejo.....	19
3.4	Despesca dos Camarões.....	23
3.4.1	Coleta de Gônadas e Hepatopâncreas.....	26
3.4.2	Análises Histológicas.....	28
3.5	Desempenho Zootécnico e Índices Gonadossomático e Hepatossomático.....	31
3.6	Análise Estatística.....	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1	Qualidade de Água.....	32
4.2	Desempenho Zootécnico.....	33
4.3	Desenvolvimento do Hepatopâncreas e das Gônadas.....	34
5	CONCLUSÕES.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros avanços na reprodução de camarões marinhos em cativeiro ocorreram em 1934 no Japão quando o Dr. Motosaku Fujinaga induziu a desova do *Penaeus japonicus* (HUDINAGA, 1942). A partir da década de 1960, os métodos de reprodução e larvicultura existentes foram adaptados em Taiwan para desova e cultivo de larvas de várias outras espécies de camarões peneídeos, incluindo o *Penaeus monodon* (LIAO, 1969). A partir desse momento, a tecnologia de reprodução e larvicultura de camarões foi disseminada em diversos países, aumentando a disponibilidade de pós-larvas (PLs) e impulsionando a produção de camarões. Nas últimas duas décadas, vários programas de reprodução seletiva de reprodutores favoreceu a obtenção de camarões com características específicas de crescimento, resistência e (ou) tolerância (MONTALDO; QUINTANA-CASARES, 2022).

A maturação ovariana e a desova de camarões em laboratório ocorrem pela manipulação de fatores hormonais, ambientais e nutricionais. A manipulação hormonal é realizada com a ablação unilateral do pedúnculo ocular das fêmeas. Esse método induz as fêmeas ao desenvolvimento dos ovários e ao aumento na produção de ovos (BRAY; LAWRENCE, 1992, HARIRISON, 1997), muito embora um estudo recente demonstre o contrário (ZACARIAS *et al.*, 2019). Os fatores ambientais incluem a manutenção da temperatura, salinidade, fotoperíodo, intensidade e espectro da luz dentro de padrões considerados ótimos para a reprodução da espécie.

A nutrição adequada de reprodutores de camarão em condições controladas possui um papel fundamental para maximizar a maturação sexual, reprodução e qualidade da prole. Os alimentos frescos de origem marinha (lula, ostras, mexilhões, ameijoas, biomassa de *Artemia*, poliquetas) são ainda amplamente empregados com reprodutores de camarões devido a sua alta concentração de nutrientes estimuladores da maturação sexual. Segundo Haririson (1997) e Wouters *et al.* (2001) estes nutrientes incluem a proteína e os amino ácidos, diferentes classes de lipídeos (ácidos graxos altamente insaturados da série ômega-3, n-3 HUFA, fosfolipídios e colesterol), carotenóides (astaxantina), vitaminas hidrossolúveis (vitaminas A, C, D e E), minerais (cálcio, magnésio, cobre). Dietas artificiais para reprodutores de camarões estão

comercialmente disponíveis no mercado desde a década de 90 (CAHU, 1998). São dietas compostas geralmente de farinha de peixe, farinha de lula, concentrado protéico de soja, óleo de peixe, lecitina de soja e de um premix de vitaminas e minerais. Geralmente essas dietas apresentam alto teor energético, contendo mais de 50% de proteína bruta (PB), entre 10 e 18% de lipídeos, de 18 a 22% de umidade, com níveis de vitamina C superior a 1.500 mg/kg e 250 ppm de astaxantina. Entretanto, as dietas artificiais constituem apenas entre 16 e 25% do total da alimentação dos reprodutores, sendo o restante composto por alimento fresco (WOUTERS *et al.*, 2001). Em função dos riscos de disseminação de doenças infecciosas decorrentes do uso de alimento fresco, os estudos sobre a nutrição de reprodutores de camarão precisam ser aprimorados. As dietas artificiais possuem fornecimento confiável, qualidade reprodutível e controlada, facilidade de uso, estabilidade aprimorada sob armazenamento, incrustação reduzida do tanque, risco reduzido de introdução de doenças e fácil administração de aditivos funcionais (HARIRISON, 1997).

A farinha e o óleo de krill antártico, *Euphausia superba*, apresentam uma composição rica nos nutrientes necessários para a maturação sexual de reprodutores de camarão. Segundo Nunes *et al.* (2022) a farinha de krill pode conter mais de 57% de PB (% , tal qual) e 25% de lipídeos, sendo 10% de fosfolipídios, 6,250 mg/kg de colesterol, além de 4,32% do ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e 2,20% do ácido docosaenoico (DHA, 22:6n-3). Por sua vez, o óleo de krill pode conter 930 mg/kg de astaxantina, 5,4% de EPA e 1,2% de DHA (NUNES *et al.*, 2021). Assim, presente estudo, teve como objetivo de avaliar o potencial de redução do uso de alimento fresco na alimentação de reprodutores do camarão *Penaeus vannamei* mediante a suplementação de óleo de krill em uma dieta comercial semiúmida e alimentação com uma dieta semiúmida a base de farinha de krill.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar o potencial de redução do uso de alimento fresco na alimentação de reprodutores do camarão *P. vannamei* mediante a suplementação de óleo de krill em uma dieta comercial semiúmida e alimentação com uma dieta semiúmida a base de farinha de krill.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito de cinco regimes alimentares sobre o desempenho zootécnico e desenvolvimento gonadal de adultos do camarão *P. vannamei*. Os regimes combinaram diferentes proporções de alimento fresco e dieta semiúmida, comercial ou fabricada em laboratório, com a suplementação de óleo de krill.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local e Desenho Experimental

A pesquisa foi realizada nas instalações do LANOA (Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos) no CEAC (Centro de Estudos em Aquicultura Costeira), do LABOMAR (Instituto de Ciências do Mar), UFC (Universidade Federal do Ceará). Foram empregados cinco tanques circulares de lona. Camarões adultos da espécie *P. vannamei* foram povoados em tanques de cultivo e submetidos a cinco regimes alimentares: (1) 80% de alimento fresco (lula) com 20% de dieta comercial; (2) 80% de alimento fresco (lula) com 20% de dieta comercial suplementada com 3% de óleo de krill; (3) 60% de alimento fresco (lula) com 40% de dieta comercial suplementada com 3% de óleo de krill; (4) 40% de alimento fresco (lula) com 60% de dieta comercial suplementada com 3% de óleo de krill, e; (5) 100% de dieta produzida em laboratório a base de farinha de krill.

Os camarões foram cultivados durante um período total de 99 dias quando foram despescados, contados e pesados individualmente em balança de precisão para determinação de parâmetros zootécnicos. Adicionalmente, os camarões foram dissecados para pesagem e coletadas de amostras do hepatopâncreas e gônadas para determinação do estágio de maturação sexual e avaliação histológica.

3.2 Alimento Fresco, Dietas Artificiais e Regimes Alimentares

Os regimes alimentares especificados acima foram nomeados com as seguintes abreviações: 80-20-CTL, 80-20-KO, 60-40-KO, 40-60-KO e KRL, respectivamente, sendo CTL, controle; KO, óleo de krill e KRL, farinha de krill (Tabela 1). O alimento fresco consistiu em lula inteira congelada adquirida em loja de pescado no comércio de Fortaleza (Jean Barroso Batista ME, Fortaleza, CE). Para uso, apenas a manta da lula foi utilizada, cortada em pequenos pedaços e congelada. O produto foi descongelado logo antes da alimentação aos camarões.

A dieta artificial foi a Breed-S Fresh (Inve Thailand Ltd., Phichit, Tailândia) uma dieta comercial para reprodutores de camarões, semiúmida ($27,47 \pm 1,64\%$ de umidade), com os seguintes níveis de garantia (% da dieta na base seca) segundo o fabricante: 55% de PB, 13% de lipídeos, 1,0% de EPA, 1,5% de DHA, 3,0% de fosfolipídios, 0,9% de colesterol, 250 mg/kg de astaxantina, 2.600 mg/kg de vitamina C e 700 mg/kg de vitamina E. A dieta comercial foi suplementada com 3% de óleo de krill (Qrill™ Antarctic Phospholipid Oil, Aker BioMarine Antarctic AS, Lysaker, Noruega) contendo as seguintes especificações segundo o fabricante: >30% de fosfolipídios totais, $\geq 8\%$ de EPA, $\geq 5\%$ de DHA e 100 $\mu\text{g/g}$ de astaxantina. Para suplementação, o óleo foi distribuído e misturado manualmente de forma homogênea sobre a dieta comercial.

Uma dieta semiúmida à base de farinha de krill (Qrill™ Aqua, Aker BioMarine Antarctic AS, Lysaker, Noruega) foi formulada e fabricada em laboratório (Tabela 1). A dieta foi formulada para conter (% da dieta na base seca): 52,3% de PB, 20,6% de lipídeos, 1,41% de metionina, 1,83% de metionina + cisteína, 3,38% de EPA, 1,71% de DHA, 7,89% de fosfolipídios, 1.500 mg/kg de vitamina C.

Tabela 1 – Composição (% , base natural) da dieta fabricada em laboratório a base de farinha de krill.

Ingredientes	Inclusão (%)
Farinha de krill	75,46
Farinha de trigo	20,28
Óleo de krill ¹	1,93
Vitamina C ²	1,43
Cloreto de potássio	1,26
Premix vitamínico-mineral ²	0,46
Aglutinante sintético	0,18

¹QRILL Aqua, Aker BioMarine Antarctic AS, Lysaker, Noruega

²QRILL™ phospholipid oil, Aker BioMarine Antarctic AS, Lysaker, Noruega

³Rovimix® Stay C® 35. Mínimo de 35% de atividade de vitamina C fosfatada. DSM Nutritional Products AG (Schweiz, Suíça)

4Rovimix® 2050 Px Camarões VitMin (SAM) VM25L3 (BR4418A025). DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, SP). Níveis de garantia por kg de produto: vitamina A, 2.996.333 UI; vit. D3, 1.080.066 UI; vit. E, 22.344,50 mg; vit. K3, 7.350 mg; vit. B1, 14.560 mg; vit. B2, 13.200 mg; vit. B5, 45.070 mg; vit. B6, 14.560 mg; vit. B12, 7,63 mg; ácido fólico, 1.870 mg; ácido nicotínico, 26.350 mg; biotina, 381 mg; inositol, 83.000 mg; Cu, 11.000 mg; I, 500 mg; Mn, 5.000 mg; Se, 134 mg; Zn, 31.000 mg; Co, 1.350 mg

Figura 1 – Superior, dieta comercial (esquerda) e lula (direita). Inferior, óleo de krill (esquerda) e dieta laboratorial (direita)



Fonte: Alberto Nunes, 2022.

3.3 Sistema de Cultivo, Povoamento e Manejo

Foram empregados cinco tanques de lona plástica de PVC suspensos com estrutura de aço de carbono galvanizado com 6,37 m³ de volume total (2,60 m de diâmetro x 1,20 de profundidade = 5,31 m² de área de fundo) mantidos ao ar livre, porém cobertos com uma tela com 70% de sombreamento (Figura 2). A aeração mecânica da água foi realizada por um sistema de aeração contínua composto por duas mangueiras microperfurada mantidas equidistantes no fundo de cada tanque, atendidos por um soprador de ar com 7,5 cv de potência. O sistema de cultivo foi dotado de um abastecimento e drenagem individual de água. A troca de água foi realizada com água previamente filtrada em filtro de areia na taxa de 25% ao dia para remoção de material orgânico acumulado no fundo.

Figura 2 – Tanque de lona utilizado no estudo com reprodutores



Fonte: Alberto Nunes (2022) e autoria própria (2022).

Os camarões utilizados no estudo foram obtidos durante a despesca de um outro experimento. Nesse caso, os camarões foram pesados individualmente, sendo selecionados os indivíduos com PC superior a 20 g (Figura 3), independente do sexo.

Figura 3 – Processo de seleção de camarões para o estudo.





Um total de 135 camarões com PC de $21,47 \pm 1,89$ g foram obtidos e estocados na densidade de $5,1$ camarões/ m^2 (27 camarões por tanque) nos tanques experimentais. Os animais foram cultivados por um período de 23 dias, sendo alimentados com uma ração comercial contendo 38% de PB (API Camarão Antiestresse, Neovia Nutrição e Saúde Animal Ltda, São Lourenço da Mata, PE). Para início do estudo, os camarões foram novamente despescados, contados e pesados individualmente (Figura 4).

Figura 4 – Despesca e repovoamento dos camarões.





Fonte: Alberto Nunes, 2022.

Um total de 23 camarões de $31,79 \pm 2,83$ g sob $4,3$ animais/m² ou $138,2 \pm 3,7$ g/m² foram estocados em cada tanque experimental. Não ocorreu ablação de pêndulo ocular das fêmeas. Para início da alimentação, o alimento fresco (manta de lula), dieta comercial (com ou sem óleo de krill) e dieta laboratorial, foram ofertadas diariamente para os camarões seguindo proporções distintas (Tabela 2).

Tabela 2 – Proporção (%) diária de cada alimento segundo o regime alimentar adotado.

Regime Alimentar	Proporção (%)			Suplementação (%)
	Manta de lula	Dieta comercial	Dieta laboratório	Óleo de krill
80-20-CTL	80	20	-	-
80-20-KO	80	20	-	3
60-20-KO	60	40	-	3
40-60-KO	40	60	-	3
KRL	-	-	100	-

O regime alimentar controle (20-80-CTL) foi adotado seguindo indicações da literatura (WOUTERS *et al.*, 2001) e prática comercial que sugerem o uso de 80%

de alimento fresco e 20% de dieta comercial. A partir do regime 80-20-CTL, a proporção de alimento fresco em relação à dieta comercial foi reduzida, com ou sem a suplementação de óleo de krill. O uso exclusivo de dieta na alimentação foi adotado apenas no tratamento KRL.

A oferta de alimento, fresco e (ou) dieta artificial, foi calculada seguindo uma taxa alimentar diária fixa de 6,5% (na base úmida) da biomassa inicial de camarões estocados (WOUTERS *et al.*, 2001), dividindo-se proporcionalmente essa taxa em função do regime alimentar adotado (Tabela 3).

Tabela 3 – Taxa de alimentação (% da base úmida) adotada para os diferentes regimes alimentares

Alimento	Taxa Alimentar (% da biomassa ao dia)				
	80-20-CTL	80-20-KO	60-40-KO	40-60-KO	KRL
Alimento fresco	5,20	5,20	3,90	2,60	-
Dieta comercial	1,30	1,30	2,60	3,90	-
Dieta laboratorial	-	-	-	-	6,50
Soma	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50

Os alimentos fresco e artificial nos tratamentos 80-20-CTL, 80-20-KO, 60-40-KO e 40-60-KO foram ofertados separadamente. Todo o alimento foi ofertado exclusivamente em uma bandeja de alimentação (Figura 5). Durante a oferta do alimento, a bandeja foi removida do tanque para escovação e lavagem em água corrente. As sobras de alimento, carapaça ou camarões mortos foram coletados e descartados quando observados. Os camarões foram alimentados duas vezes por dia, às 08:00 e 16:00 h. Os parâmetros de qualidade de água (salinidade, pH e temperatura) foram monitorados diariamente, precedendo a troca diária de água.

3.4 Despesa dos Camarões

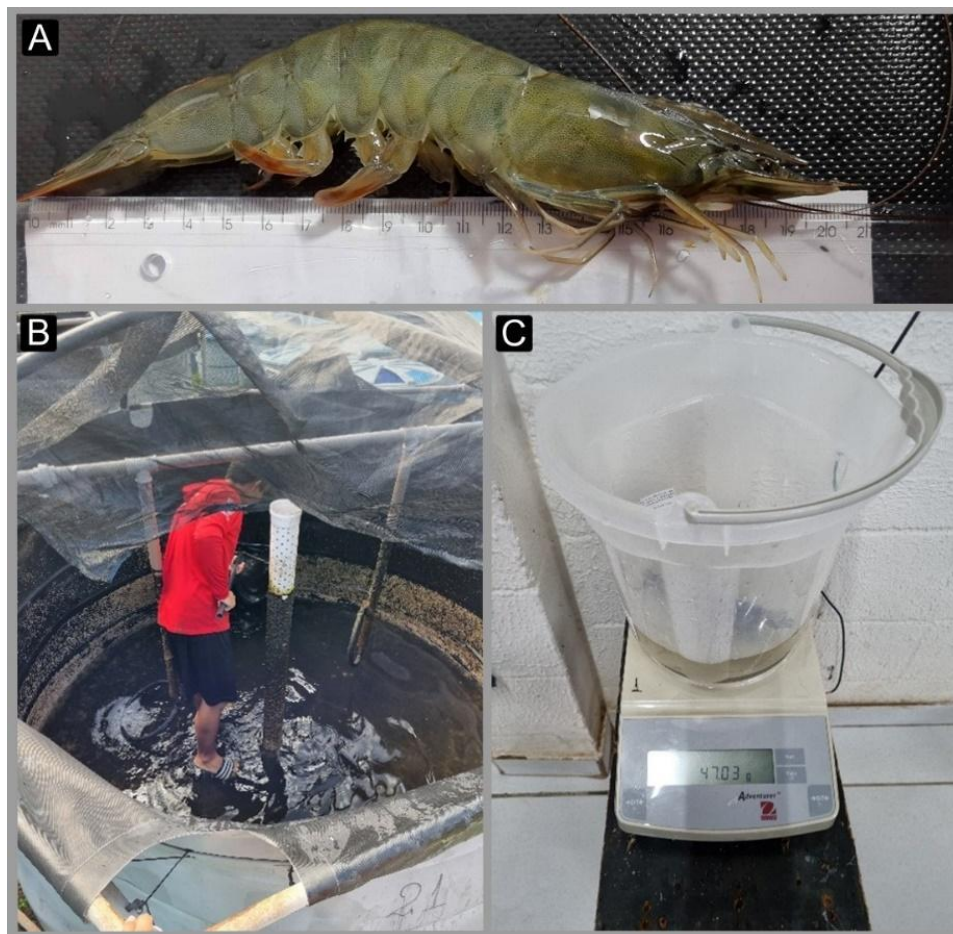
Os camarões foram despescados após 76 dias de alimentação. A despesca ocorreu com a drenagem de água, um tanque por vez. Os camarões foram capturados com o auxílio de um puçá.

Os animais foram separados individualmente, em baldes, pesados em uma balança eletrônica de precisão, medidos com auxílio de uma régua de 30 cm, sexados e fotografados. Em seguida, os camarões foram sacrificados para extração e pesagem das gônadas e do hepatopâncreas (Figura 6).

Figura 5 – Manejo adotado durante a alimentação dos reprodutores.



Figura 6 – A, medição do comprimento do *P. vannamei*. B, despesca dos camarões ao final da pesquisa. C, pesagem individual dos camarões



Fonte: autoria própria, 2022.

3.4.1 Coleta de Gônadas e Hepatopâncreas

Para a remoção das gônadas foram utilizados pinças, bisturis e tesouras. Nas fêmeas, o processo consistia na abertura da região dorsoventral até o télson, para remover completamente as gônadas. Nos machos o processo consistia em extrair as gônadas ventralmente com uma pinça. O hepatopâncreas foi removido acessando a região superior do cefalotórax utilizando uma tesoura cirúrgica (Figura 7).

Figura 7 – A, gônadas femininas. B, espermatóforos. C, fêmea aberta com as gônadas expostas, desde a região cardíaca até o télson. D, macho com espermatóforos expostos. E, gônadas fixadas em AFA Davidson

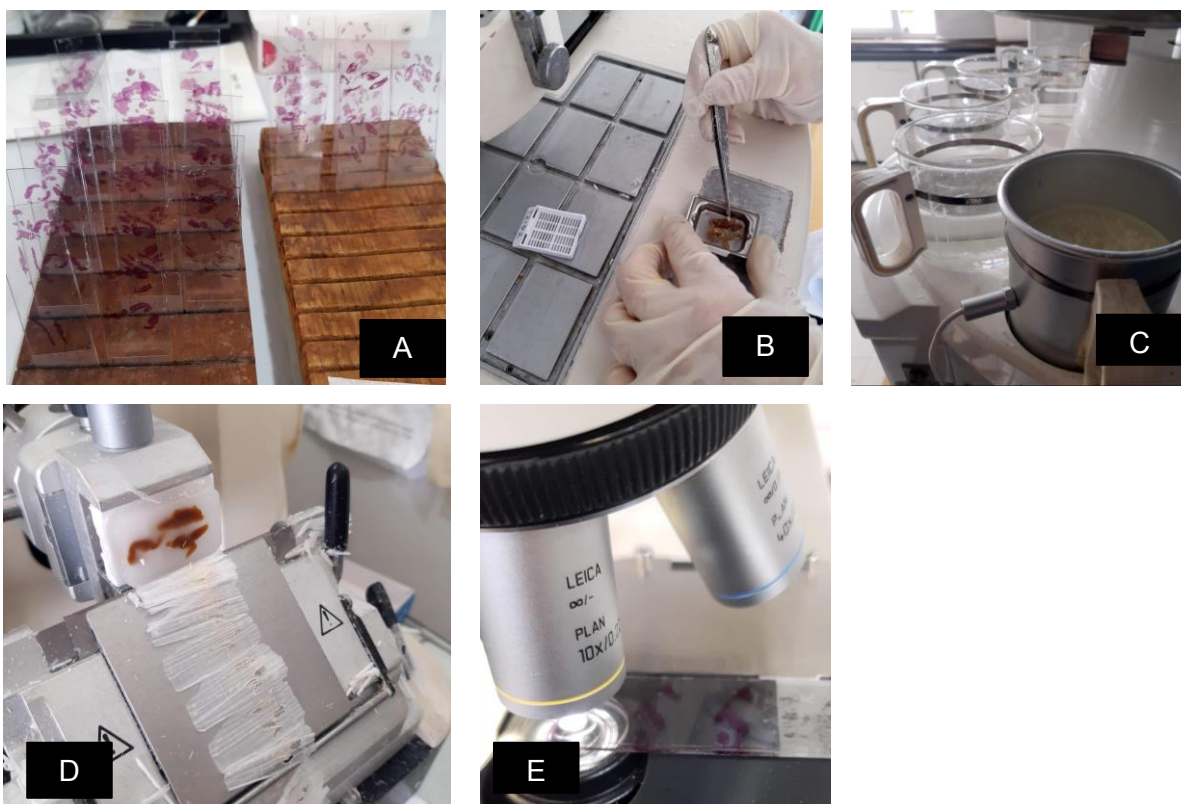


Fonte: autoria própria, 2022.

3.4.2 Análises Histológicas

As gônadas e hepatopâncreas extraídos foram pesados individualmente. As gônadas foram fixadas por injeção e imersas em solução de AFA Davidson (11,5% de ácido acético, 22% de formalina, 33% de etanol) por 24 h. Em sequência, foram transferidas para o etanol 70% em tubo Falcon até o processamento. Um total de 94 gônadas foram fixadas. As gônadas de cinco fêmeas por tratamento foram selecionadas aleatoriamente para a análise histológica (Figura 8). Essas foram seccionadas, montadas em histocassetes e preparadas para microtomia por meio de um processador automatizado de transferência de tecido (Processador Automático de Tecidos Lupetec Modelo PT05 TS, Lupe Indústria Tecnológica de Equipamentos para Laboratório Ltda. ME, São Carlos, SP).

Figura 8 – A, lâmina coradas. B, processo de montagem dos blocos de parafina. C, banho de etanol. D, desbastamento no micrótomo. E, análise em microscópio.



Fonte: autoria própria, 2022.

O protocolo de processamento consistiu em banhos sucessivos de 1 h em etanol em concentrações crescentes (70%, 80% duas vezes, 95% duas vezes, 100% três vezes), seguido de xilol (duas vezes), seguido de parafina líquida (duas vezes). Os blocos resultantes foram desbastados por lâmina de 10 μm . A lâmina foi trocada para uma de 5 μm ao aproximar-se do tecido, sendo este cortado em seções em um micrótomo rotativo para histologia (Leica RM2125 RTS, Leica do Brasil Importação e Comércio Ltda., São Paulo, SP). Em seguida, as amostras foram transferidas para lâminas de vidro revestidas com albumina e colocadas para secar por 24 h. As lâminas resultantes continham de duas a três seções de cada bloco e foram coradas pelo método padrão de hematoxilina e eosina (BELL; LIGHTNER, 1988). As análises foram realizadas em microscópio de luz equipado com câmera digital.

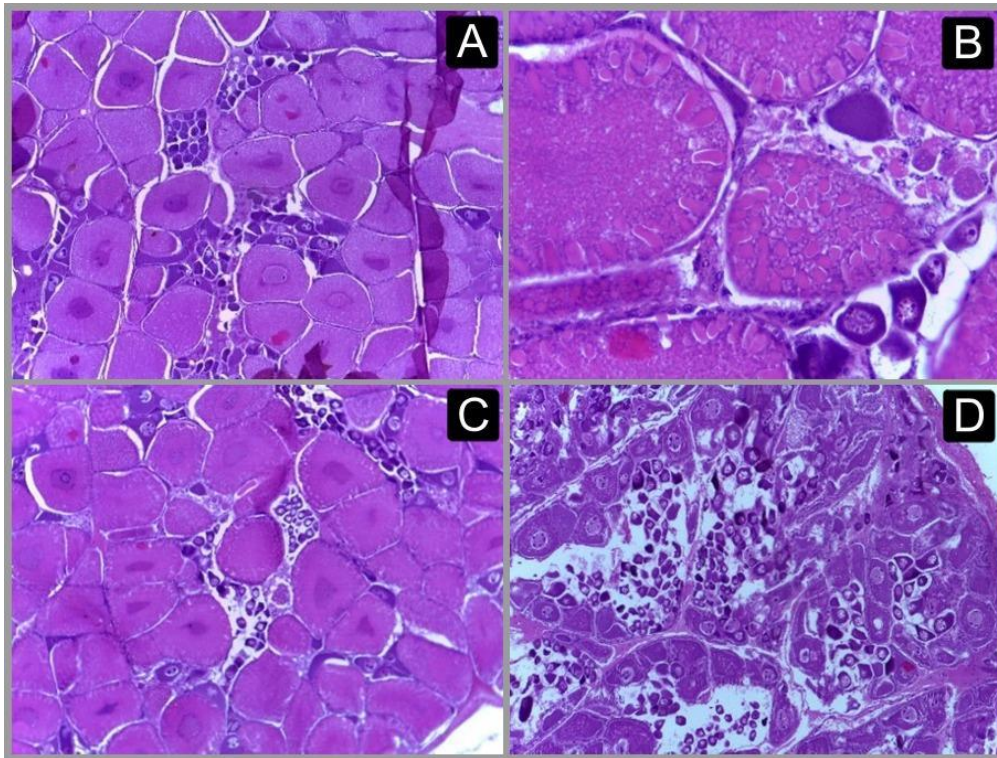
A partir das fotos obtidas em microscópio, pode-se observar os níveis de maturação segundo Tan-Fermin e Pudadera (1989), que consiste em quatro estágios distintos de maturação (imaturo, em maturação, maduro e gasto, Figura 9):

- a) Imaturo I: abundância de ovogônias;
- b) Em maturação II: presença de células desenvolvidas e ovogônias;
- c) Maduro III: células maduras, com folículos de gordura e bastonetes;
- d) Gasto IV: similar ao estágio I mais possui células maduras.

Os estágios de desenvolvimento gonadal das fêmeas foram classificados visualmente com a ajuda de um foco de luz no momento da despesca dos camarões de acordo com Bray e Lawrence (1992):

- a) Estágio 1: ovários subdesenvolvidos, pequenos e translúcidos;
- b) Estágio 2: ovários maiores e em desenvolvimento, opacos ou amarelados, com melanóforos espalhados na superfície;
- c) Estágio 3: ovários quase maduros e maiores, de cor amarelada a amarelo-laranja;
- d) Estágio 4: ovários maduros preenchendo todos os espaços entre outros órgãos, com coloração marrom-oliva;
- e) Estágio 5: ovários desovados, flácidos com uma cor lamacenta.

Figura 9 - Estágios gonadais observados através da histologia. A, em maturação. B, maduro. C, maduro D, maduro.



Fonte: autoria própria, 2023.

Figura 10 – Classificação dos estágios de maturação das fêmeas segundo cor e tamanho dos ovários utilizando um foco de luz.



3.5 Desempenho Zootécnico e Índices Gonadossomático e Hepatossomático

Os camarões foram pesados e contados individualmente no povoamento e despesca. Isso permitiu calcular os seguintes parâmetros zootécnicos:

- a) Ganho de biomassa (g) = biomassa final (g) – biomassa inicial (g);
- b) Sobrevivência final (%) = (número final de camarões ÷ número inicial de camarões) x 100;
- c) Crescimento semanal (g/semana) = ((peso corporal final – peso corporal inicial) ÷ dias de cultivo) x 7.

O índice gonadossomático (IGS) e o índice hepatossomático (IHS) foram calculados pesando-se as gônadas (ovários e testículos) e hepatopâncreas de 20 camarões de cada tratamento e correlacionando esses valores com o PC úmido de cada respectivo indivíduo, de acordo com as fórmulas:

- a) IGS (%) = (peso úmido das gônadas/PC do camarão inteiro) x 100;
- b) IHS (%) = (peso úmido do hepatopâncreas/PC camarão inteiro) x 100.

3.6 Análise Estatística

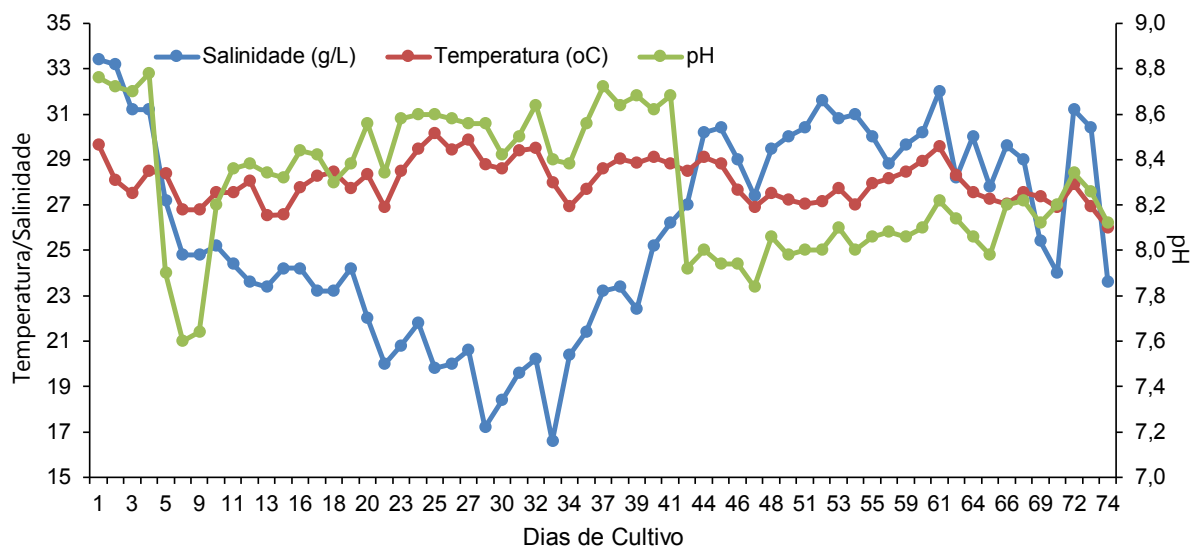
As diferenças das médias obtidas para cada tratamento experimental de qualidade de água (pH, temperatura e salinidade), PC dos camarões (machos e fêmeas), peso úmido das gônadas e do hepatopâncreas, além dos índices IGS e IHS foram comparados através de análise univariada (One-Way ANOVA). Quando diferenças estatísticas significativas foram detectadas, estas foram comparadas duas a duas através do teste *a posteriori* de Tukey HSD. O nível de significância de 5% foi aplicado em todas as análises estatísticas. Foi utilizado o pacote estatístico SPSS 15.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Qualidade de Água

O pH, temperatura e salinidade apresentaram uma média (\pm desvio padrão) de $8,3 \pm 0,3$ ($7,6 - 8,8$, $n = 305$), $28,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ($25,9 - 30,3^{\circ}\text{C}$, $n = 305$) e 26 ± 4 g/L ($16 - 34$ g/L, $n = 305$), respectivamente. Não foi detectada diferença estatística significativas nesses parâmetros entre os tratamentos experimentais ($P > 0,05$). A salinidade apresentou a maior variação entre todos os parâmetros analisados durante o cultivo. Foi observada uma queda progressiva da salinidade logo após o início do estudo até o 33º dia, de um valor médio de 33 para 17 g/L (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Dinâmica dos parâmetros de qualidade de água ao longo do cultivo.



Essa queda coincidiu ao período de chuvas que ocorre na região onde o estudo foi realizado. O povoamento dos camarões ocorreu em 21/03/2022 e avançou até 02/06/2022, ou seja, exatamente no período da quadra chuvosa que ocorre entre os meses de fevereiro a maio no Estado do Ceará. Para evitar essas variações e uma salinidade fora dos intervalos considerados adequados para fase reprodutiva dos camarões marinhos (entre 28 e 36 g/L, BRAY; LAWRENCE, 1992) iniciou-se um

bombeamento e armazenamento de água do estuário somente nas marés altas quando na ausência de chuvas. Isso permitiu restabelecer esse parâmetro aos valores ideais a partir do 44º dia de cultivo. Os demais parâmetros analisados, temperatura e pH, manteve-se relativamente uniforme ao longo do cultivo, com pouca variabilidade, dentro de intervalos considerados adequados.

4.2 Desempenho Zootécnico

Após 76 dias de cultivo, a sobrevivência média final dos camarões alcançou $81,7 \pm 12,1\%$ (Tabela 4). Os camarões sob o regime alimentar 80-20-KO foram os únicos a alcançarem 100% de sobrevivência. Comparativamente, o regime alimentar 40-60-KO alcançou a menor sobrevivência final, de 69,6%. O maior crescimento semanal foi observado para o regime alimentar KRL (1,80 g), seguido do 80-20-KO (1,33 g) e 80-20-CTL (1,15 g). Porém, o maior ganho de biomassa foi observado no regime alimentar 80-20-KO (326,5 g). Houve uma perda de biomassa no regime 40-60-KO de 16,8 g. Isso ocorreu devido a mortalidade de camarões durante o estudo.

Tabela 4 – Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões cultivados durante 76 dias com alimento fresco, dieta artificial e (ou) dieta laboratorial.

Regime Alimentar	Relação ♀:♂	Sobrevivência (%)	Crescimento semanal (g)	Ganho de Biomassa (g)
80-20-CTL	0,7:1	87,0	1,15	150,1
80-20-KO	1,3:1	100,0	1,33	326,5
60-40-KO	3,5:1	78,3	1,29	98,4
40-60-KO	1,7:1	69,6	1,21	-16,8
KRL	1,4:1	73,9	1,80	135,9
Média ± dp	-	$81,7 \pm 12,1$	$1,36 \pm 0,26$	$138,8 \pm 123,7$

A ausência de repetições experimentais impossibilitou a avaliação estatística dos parâmetros zootécnicos apresentados. Adicionalmente, observou-se

que houve uma relação distinta entre o número de camarões fêmeas e machos estocados em cada tanque. Isso também pode ter favorecido as diferenças observadas nos parâmetros apresentados.

Por exemplo, no presente estudo foi possível detectar que as fêmeas apresentaram um PC final superior aos indivíduos machos. Nos regimes 80-20-CTL, 80-20-KO, 60-40-KO, 40-60KO e KRL as fêmeas alcançaram um PC médio de 51,13, 48,81, 48,14, 50,19 e 54,10 g, respectivamente. Nesses mesmos regimes alimentares, os machos alcançaram um PC de 40,11, 42,14, 40,41, 40,21 e 45,39 g, respectivamente.

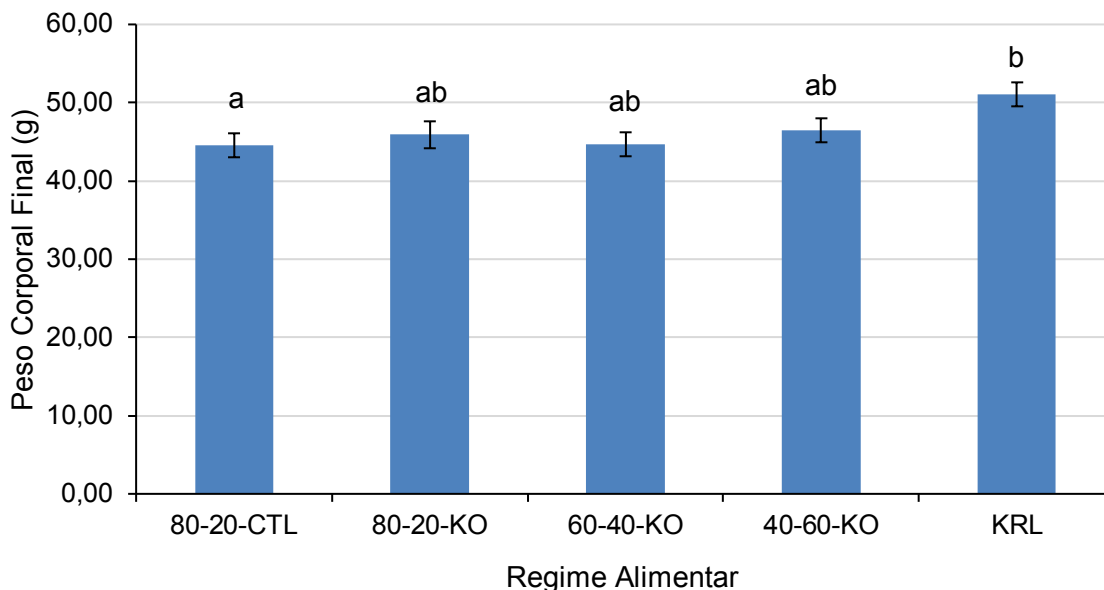
O dimorfismo sexual no crescimento de camarões peneídeos já foi bem documentado na literatura (OTOSHI *et al.*, 2003; PEREZ-ROSTRO; IBARRA, 2003). Consequentemente, uma diferente relação fêmea versus macho nos tanques de cultivo pode ter tido influência sobre os parâmetros zootécnicos analisados, como crescimento semanal e ganho de biomassa. Quando o PC dos machos e fêmeas são agrupados, foi detectado que os animais sob o regime KRL foram os que apresentaram o maior PC final (Gráfico 2) comparado com 80-20-CTL. Não houve diferença estatística ao se comparar os demais regimes alimentares ($P > 0,05$).

4.3 Desenvolvimento do Hepatopâncreas e das Gônadas

O regime alimentar não apresentou efeito estatístico sobre o peso úmido das gônadas e hepatopâncreas dos camarões machos e fêmeas ($P > 0,05$, Gráfico 2). O peso úmido das gônadas e hepatopâncreas dos machos e fêmeas alcançou uma média de $0,37 \pm 0,06$ e $1,03 \pm 0,09$ e $1,45 \pm 0,37$ e $1,73 \pm 0,25$ g, respectivamente. Da mesma forma, também não foi possível estabelecer diferença estatística significativa entre os tratamentos experimentais para os índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS). Esses valores alcançaram uma média de $0,90 \pm 0,11$ e $2,50 \pm 0,14$ e $2,79 \pm 0,59$ e $3,48 \pm 0,33\%$ para machos e fêmeas, respectivamente. Portanto, a suplementação do óleo de krill ou a redução do uso do alimento fresco com um

proporcional aumento do uso de uma dieta comercial semiúmida para reprodutores não teve efeito sobre esses parâmetros.

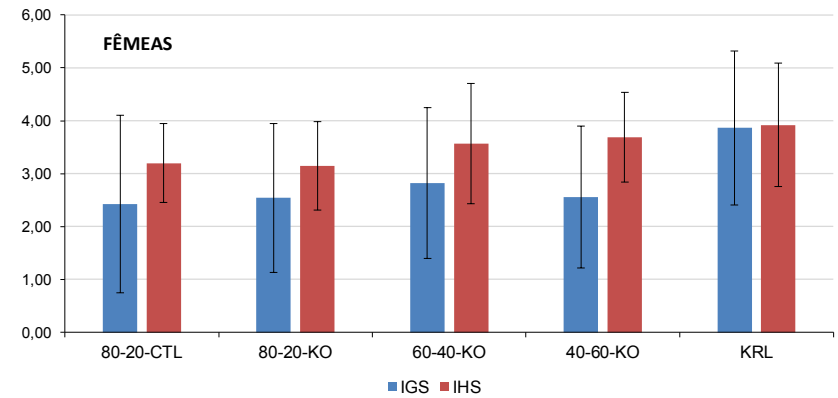
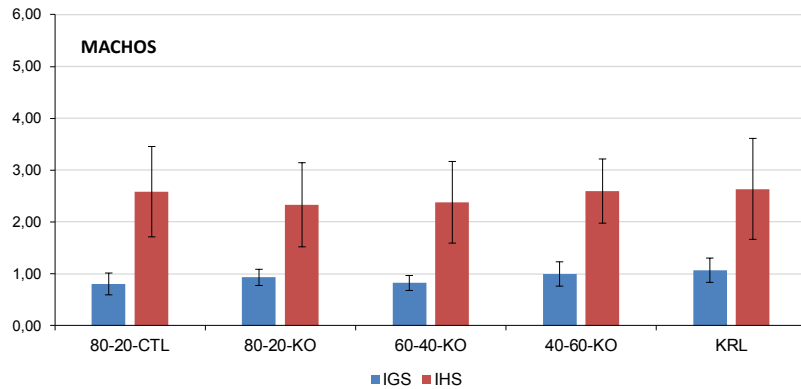
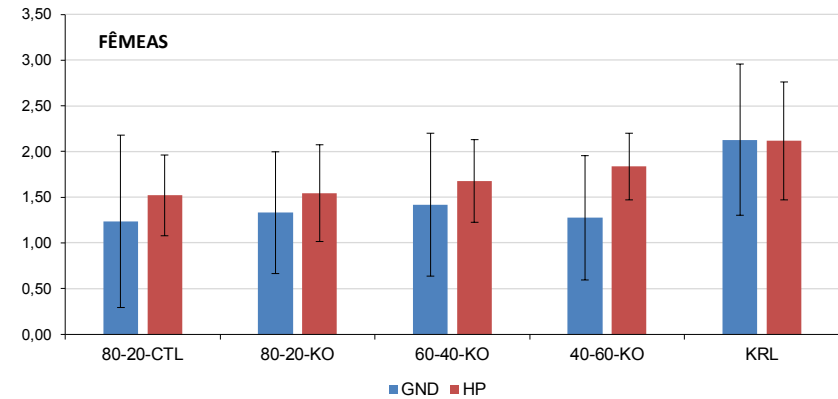
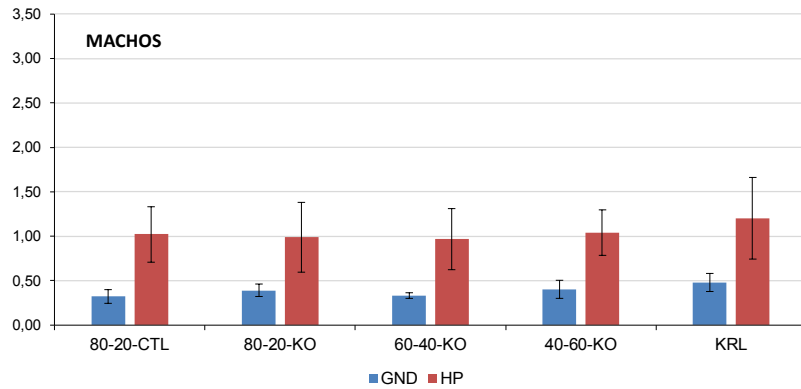
Gráfico 2 – Peso corporal final (g) dos camarões (fêmeas e machos). Valores apresentados como médio \pm erro padrão. Letras em comum nas colunas indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey HSD ao nível de 0,05.



Esses resultados contrastam com o estudo de Liang *et al.* (2022). Os autores suplementaram uma dieta semi-purificada com 4% de diferentes fontes de fosfolípidios (lecitina de soja, lecitina da gema do ovo e óleo de krill). Um total de 160 camarões adultos fêmeas da espécie *P. vannamei* com PC inicial de $34,7 \pm 4,2$ g foram alimentados com as respectivas dietas durante 28 dias. Os autores relataram que o IGS dos reprodutores aumentou significativamente do valor médio inicial de 0,51 para 3,53–4,44%. Adicionalmente, as fêmeas alimentadas com uma dieta suplementada com óleo de krill alcançaram o maior valor de IGS em relação aos demais tratamentos. Por outro lado, IHS dos camarões em todos os tratamentos experimentais diminuíram do valor médio inicial de 6,32 para 3,27–3,64%. Nenhuma diferença significativa foi encontrada nesse índice entre os tratamentos experimentais. Portanto, pode-se observar que tanto os valores numéricos como o efeito das dietas sobre IGS e IHS no estudo de Liang *et al.* (2022) diferem do presente trabalho. É possível que o efeito das

dietas sobre os índices avaliados não tenha sido perceptível devido ao longo período do estudo e a ausência de um monitoramento dos animais durante o trabalho. Portanto, trabalhos futuros devem considerar períodos mais curtos de exposição às dietas.

Gráfico 3 – Peso úmido (g) das gônadas (GND) e do hepatopâncreas (HP) e índices gonadosomático (IGS) e hepatossomático (IHS) de fêmeas e machos do camarão *P. vannamei* submetidos a diferentes regimes alimentares. Valores apresentados como média \pm erro padrão.

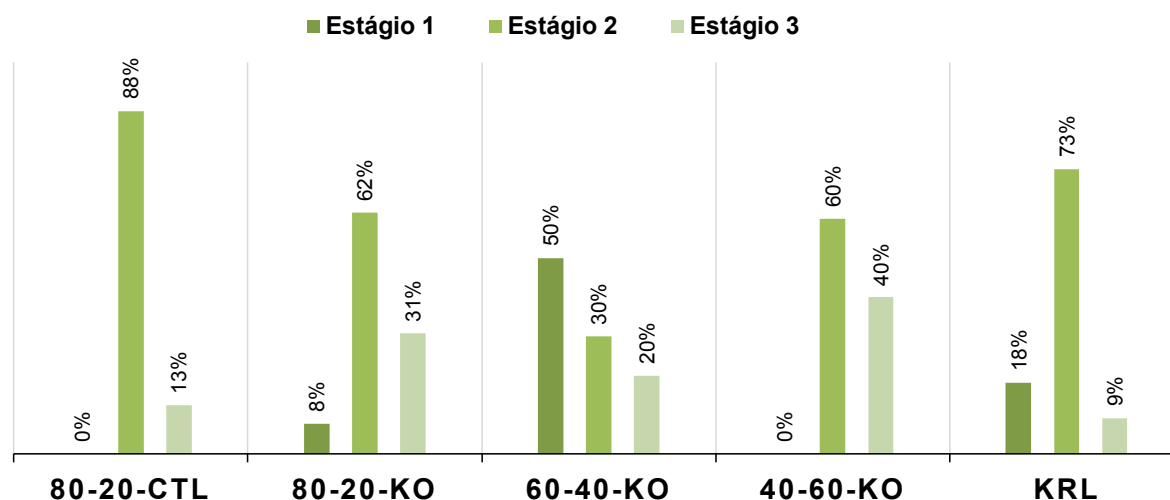


Em um outro estudo, Wouters *et al.* (2002) avaliaram o IGS e IHS de fêmeas abladadas submetidas a dois experimentos distintos durante um período de 21 e 17 dias. No 1º experimento, os animais foram alimentados com dietas isoprotéicas com 52% de PB e um conteúdo de lipídeos de 8,1, 9,0 10,3 e 12,2%. No 2º experimento, as dietas continham 52% de PB e 8,1% de lipídeos, porém níveis de n-3 HUFA de 0,6, 1,3, 2,0, e 2,7% através de uma alteração das proporções dietéticas de óleo de peixe e óleo de coco. Os camarões foram alimentados com uma mistura de alimento fresco (lula e mexilhão na relação 2:1) e dieta artificial na proporção de 75 e 25%, respectivamente, adotando taxas de alimentação diárias de 3-4% (% da base seca).

Os autores encontraram que o IGS e IHS das fêmeas alimentados com a dieta contendo 8,1% de lipídeos foi mais elevado ($3,01 \pm 0,25$ e $2,55 \pm 0,12\%$, respectivamente) do que os demais níveis lipídicos. Porém, os autores não encontraram diferenças no PC final (43,3-45,4 g) e sobrevivência final (86-96%) entre os diferentes tratamentos dietéticos. No 2º experimento, os autores não identificaram diferenças significativas no IGS (2-29-3,20%), IHS (2,35-3,09%), sobrevivência final (95%) e PC final (54,7-61,1 g) em função do conteúdo dietético de n-3 HUFA. Entretanto, a concentração de vitelogenese foi maior nas fêmeas alimentadas com 2,0% de n-3 HUFA.

No presente estudo, a grande maioria das fêmeas (62%) analisadas apresentavam-se no Estágio 2 de maturação gonadal, seguido do Estágio 3 (23%, Gráfico 4). A maior proporção de fêmeas no Estágio 1 de desenvolvimento gonadal foi observado nos regimes 60-40-KO (50%) e KRL (18%). No Estágio 2, os regimes 80-20-CTL (80%), KRL (73%) e 80-20-KO (62%) se destacaram em termos proporcionais. No Estágio 3, a maior proporção foi encontrada para os regimes 40-60-KO (40%), 80-20-KO (31%) e 60-40-KO (20%). Conseqüentemente, os regimes 80-20-CTL e 40-60-KO foram os únicos que apresentaram 100% das fêmeas nos Estágios 2 e 3 de maturação gonadal. Como a relação de fêmeas versus machos foi maior no regime 40-60-KO (3,5:1) em relação aos demais tratamentos, não é possível afirmar que houve um efeito positivo do regime alimentar sob o processo de maturação gonadal das fêmeas.

Gráfico 4 – Estágios de maturação gonadal de fêmeas não abladas do *P. vannamei* segundo avaliações visuais da cor e tamanho dos ovários e em resposta ao regime alimentar.



O desenvolvimento dos ovários de fêmeas adultas de camarões marinhos é rápido e pode ocorrer dentro de 3 a 10 dias após a ablação do pedúnculo ocular (BRAY; LAWRENCE, 1992). Considerando o fato que no presente estudo as fêmeas não foram submetidas a esse procedimento, a maturação ovariana até estágios mais avançados pode ter ocorrido de forma mais tardia, porém múltiplas vezes ao longo do estudo. Em operações comerciais, o desenvolvimento das gônadas é monitorado diariamente, com uma lanterna, diretamente dos tanques de maturação e acasalamento, sem manipulação ou captura dos animais. Devido a alta transparência da água, é possível observar o tamanho e a cor das gônadas através do exoesqueleto, além da presença de espermátóforos nas fêmeas. No presente estudo, este procedimento não foi possível dado a profundidade dos tanques e a baixa visibilidade da água.

Zacarias *et al.* (2019) descreveram o processo de maturação sexual de camarões reprodutores da espécie *P. vannamei* em uma operação comercial em Honduras. Segundo os autores, inicialmente ocorreu uma pré-maturação com duração de 36 dias utilizando machos e fêmeas com um PC de $39,7 \pm 2,6$ e $49,7 \pm 4,3$ g

estocados separadamente em tanques de geomembrana de 41,8 m². A alimentação consistiu em lula descongelada e picada (12:00 e 03:00 h) e de poliquetas (07:00 h) ofertadas na taxa de 5,0 e 2,5% da biomassa estocada, respectivamente. Os reprodutores foram também alimentados com dietas comerciais de maturação: uma dieta contendo 40% PB ofertada a 5% da biomassa (09:00, 15:00 e 22:00 h e outra com 55% PB fornecida a 3,5% da biomassa (20:00 e 05:00 h).

Em seguida, os animais foram transferidos na densidade de 13 animais/m² (relação de 1:2, macho vs. fêmea) para tanques de 22,9 m² de cor escura e com profundidade de 0,5 m. Nesse momento, a ablação pode ou não ser realizada. Os camarões permaneceram nessas condições durante 62 dias e foram alimentados diariamente com poliquetas (5% da biomassa) duas vezes ao dia (07:00 e 22:00 h), lula (12% da biomassa) três vezes ao dia (09:00, 14:00 e 03:00 h) e mexilhões (6% da biomassa) duas vezes ao dia (12:00 e 05:00 h) Adicionalmente, os camarões foram alimentados com uma dieta comercial com 55% PB (2% da biomassa) uma vez ao dia (20:00 h). Nesse intervalo pode ocorrer a maturação e o acasalamento dos animais múltiplas vezes. Segundo os autores, 90,0 ± 7,2% de fêmeas copuladas do *P. vannamei* não abaladas versus 95,5 ± 2,5% de fêmeas abaladas realizaram a desova diariamente nesse intervalo de observação.

5 CONCLUSÕES

Através do presente estudo conclui-se que nas condições experimentais adotadas, camarões adultos da espécie *P. vannamei* alimentados sob diferentes combinações de alimento fresco (lula) e dieta comercial e (ou) laboratorial, com ou sem suplementação de óleo de krill, podem apresentar desenvolvimento gonadal. A suplementação de óleo de krill ao regime alimentar 80-20 (alimento fresco-dieta comercial) resulta em um aumento da sobrevivência e ganho de biomassa dos camarões. A alimentação dos camarões apenas com uma dieta à base de farinha de krill (75,5%) favorece um maior ganho de peso corporal dos camarões em comparação com o regime alimentar tradicional (80-20-CTL). Adicionalmente, os resultados sugerem que a redução de 80 para 40 de alimento fresco com um aumento de 20 para 60 de dieta comercial suplementada com óleo de krill não apresenta impacto sob o desenvolvimento gonadal das fêmeas em estágios mais avançados.

As pesquisas futuras sobre o assunto devem considerar entre outros fatores, o uso de réplicas experimentais associado ao uso de tanques de menor volume, um período mais curto de observação, e.g., 30 dias) e condições experimentais mais próximas da realidade comercial, e.g., área coberta, água com alta visibilidade, machos e fêmeas mantidos separados, monitoramento diário do desenvolvimento gonadal, uso de várias fontes de alimentos frescos e múltiplas refeições ao dia.

REFERÊNCIAS

- Bray, W.A., Lawrence, A.L. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: Marine Shrimp Culture Principles and Practices, A.W. Fast e L. J. Lester (Editores). Elsevier, Amsterdam, Holanda, pp. 93-170.
- Bell, Thomas A., and Donald V. Lightner. "A handbook of normal penaeid shrimp histology." (1988). Disponível em: https://cesarom.files.wordpress.com/2013/08/bell-lightner_1988_handbook-of-shrimp-histology.pdf. Acesso em: 01 de janeiro de 2023.
- Cahu, Chantal. (1998). Diets for shrimp broodstock and their effect on larval quality.
- Haririson, K.E., 1997. Broodstock nutrition and maturation diets. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. (Editores), Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture, The World Aquaculture Society, vol. 6, pp. 390–408.
- Hudinaga, M. 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. *Japanese Journal of Zoology*, 10, 305-393.
- Liang, X., Luo, X., Lin, H., Han, F., Qin, J.G., Chen, L., Xu, C., Li, E. 2022. Effects and mechanism of different phospholipid diets on ovary development in female broodstock Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Frontiers in Nutrition*, 9, 830934.
- Liao, I.C. 1969. Artificial propagation of prawns. *Life Sci.*, 1, 18-20.
- Montaldo, H., Quintana-Casares, J.C. 2022. Shrimp genetics improvement programs. In: Alday-Sanz (Editor), *The Shrimp Book II*. 5m Books Ltd. Essex, UK, pp. 121-158.
- Nunes, A.J.P., Dalen, L.L., Leonardi, G., Burri, Lena. 2022. Developing sustainable, cost-effective and high-performance shrimp feed formulations containing low fish meal levels. *Aquaculture Reports*, 27, 101422.
- Nunes, A.J.P., Soares, A.N., Sabry-Neto, H., Burri, L. 2021. Effect of dietary graded levels of astaxanthin krill oil and high protein krill meal on the growth performance and stress resistance of post larval *Litopenaeus vannamei* under hyper-intensive nursery culture. *Aquacult Nutr.*, 27, 327– 341.

- Otoshi, C.A., Arce, S.M., Moss, S.M. 2003. Growth and reproductive performance of broodstock shrimp reared in a biosecure recirculating aquaculture system versus a flow-through pond. *Aquacultural Engineering*, 29, 93-107.
- Perez-Rostro, C.I., Ibarra, A.M. 2003. Heritabilities and genetic correlations of size traits at harvest in sexually dimorphic Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) grown in two environments. *Aquaculture Research*, 34, 1079-1085.
- Tan-Fermin, Josefa D., Rosario A. Pudadera. 1989. Ovarian maturation stages of the wild giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture* 77.2-3 (1989): 229-242.
- Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J., Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture*, 202, 1-21.
- Wouters, R., Piguave, X., Bastidas, L., Calderón, J., Sorgeloos, P. 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research*, 32, 573-582.
- Zacarias, S., Carboni, S., Davie, A., Little, D.C. 2019. Reproductive performance and offspring quality of non-ablated Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under intensive commercial scale conditions, *Aquaculture*, 503, 460-466.