

1. INTRODUÇÃO

Aprenada Fácil Editora

14.7. SALA PARA DESCAPSULAÇÃO E ECLOSOO DE ARTEMIA	216
14.8. SALA DE DESINFECÇÃO	217
14.9. SALA DE AVALIAÇÃO	217
14.10. SALA DE PROBIÓTICOS	218
15. CAPTAÇÃO E FILTRAÇÃO DE ÁGUA	219
15.1. CAPTAÇÃO	220
15.2. SISTEMAS DE FILTROS	221
16. PLANILHAS DE CONTROLE	225
16.1. PLANILHA DE CONTROLE DE REPRODUTORES	226
16.2. RELATÓRIO DE MATURAÇÃO	227
16.3. PLANILHA DE MONITORAMENTO DE LARVICULTURAS	228
16.4. RELATÓRIO DE TOTALIZAÇÃO DAS LARVICULTURAS	229
16.5. RELATÓRIO DE REMESSA DE NAÚPLIOS	230
17. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA/RECOMENDADA	231

Segundo a FAO, órgão das Nações Unidas que se dedica à agricultura e à produção de alimentos, há mais de 340 espécies de camarões sendo pescadas comercialmente no mundo todo. Dessas, 110 espécies pertencem a uma mesma família (Penaeidae) e respondem por aproximadamente 80% da produção pesqueira de camarões.

A produção de camarões através de cultivos vem crescendo em ritmo acelerado (700.000 Ton/99). Estima-se que em poucos anos, a produção de camarões cultivados irá superar a produção oriunda da pesca (1.800.000 Ton/99). Nem todas as espécies de camarões são adequadas para cultivo em cativeiro. Estima-se que 8 espécies (*Farfantepenaeus chinensis*, *Penaeus monodon*, *Litopenaeus vannamei*, *Farfantepenaeus merguensis*, *Fenneropenaeus indicus*, *Marsupenaeus japonicus*, *Litopenaeus stylirostris*, *Metapenaeus ensis*) respondam por cerca de 90% da produção de camarões cultivados.

No Brasil, a história da carcinicultura pode ser dividida em dois períodos: antes e depois da introdução do camarão branco do Pacífico, *L. vannamei*, o que aconteceu durante a década de 80.

L. vannamei é uma espécie que originalmente se distribuiu do leste do Pacífico, de Sonora (México) até Tumbes, no norte do Peru. Apresenta grande rusticidade e tem possibilitado a obtenção dos melhores índices zootécnicos alcançados no Hemisfério Ocidental. Tanto que, em 1999, *L. vannamei* foi responsável por 20% da produção mundial de camarões, com aproximadamente 140 mil toneladas produzidas.

1.1. IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO

Filo	Arthropoda
Sub-filo	Crustácea
Classe	Malacostraca
Subclasse	Eumalacostraca
Superordem	Eucarida
Ordem	Decapoda
Subordem	Dendrobranchiata
Superfamília	Penaeoidea
Família	Penaeidae
Gênero	Litopenaeus
Espécie	<i>Litopenaeus vannamei</i>

É relativamente comum haver uma confusão no momento de se identificar camarões marinhos e de água doce. Camarões de água doce estão agrupados em uma subordem diferente dos marinhos (Pleocyemata). Os camarões de água doce de importância comercial costumam pertencer à infra-ordem Carídea, destacando-se os camarões do gênero *Macrobrachium* (*M. rosenbergii* - o gigante da Malásia -, *M. acanthurus* - o camarão pitu, etc.).

Esse grupo não será tratado neste livro, mas, apenas a título ilustrativo, é bastante fácil diferenciar um camarão peneídeo de um carídeo. Nos peneídeos, a placa do primeiro segmento abdominal recobre a segunda, que recobre a terceira. Nos carídeos, a segunda placa recobre a primeira e a terceira (Figura 1).

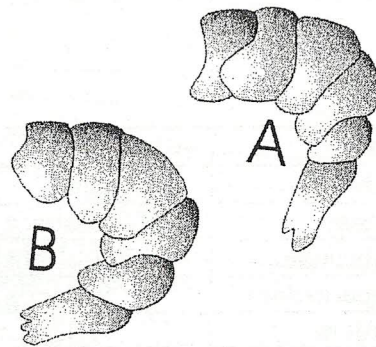


Figura 1. Representação esquemática de um camarão carídeo (A) e de um peneídeo (B).

2. MORFOLOGIA

2.1. DIVISÕES DO CORPO

O corpo dos camarões peneídeos é comprimido (achatado) lateralmente e coberto por um exoesqueleto calcificado, constituído de quitina e proteínas, articulado por meio de membranas articulares. Esses camarões possuem um corpo alongado, segmentado, dividido em três regiões distintas: a cabeça (também chamada de céfalon), o tórax (péleon) e o abdômen (pléon). Cada uma dessas regiões é composta por somitos, onde estão inseridos os apêndices dos camarões.

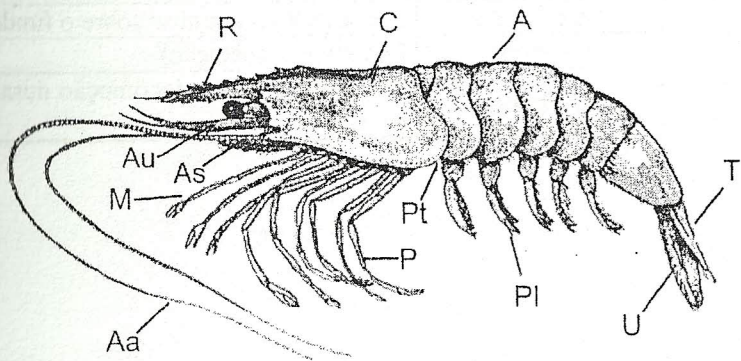


Figura 2. Vista lateral de um camarão *Litopenaeus vannamei* macho. A, abdômen; Aa, antena; As, escama antenal; Au, antênula; C, carapaça; M, terceiro maxilípide; P, pereiópode (pata usada para caminhar); Pl, pleópodo (pata usada para nadar); Pt, petasma; R, rostro; T, telson; U, urópodo.

A cabeça e o tórax dos peneídeos estão fundidos em uma estrutura única, chamada de cefalotórax, localizada na porção anterior do animal, onde, morfológicamente, três estruturas se

destacam: a) a carapaça, uma placa que corresponde à fusão de seis somitos cefálicos e oito torácicos, cobre as brânquias e os demais órgãos vitais e é fundida ao corpo na sua parte dorsal, mas livre em sua porção lateral; b) os olhos pedunculados, que se articulam com a cabeça e são móveis; c) o rostro, uma espécie de “espinho” que serve como estrutura de defesa contra predadores. No caso de *L. vannamei*, o rostro é uma estrutura fundamental para identificação da espécie, apresentando 8 ou 9 dentes dorsais e 1 a 3 dentes ventrais. As laterais da carapaça servem como estrutura de proteção para as brânquias.

O abdômen constitui-se na parte posterior do corpo. Estende-se desde a parte final do cefalotórax até a porção terminal do animal, onde se encontra o telson; possui seis segmentos (somitos), que vão reduzindo o seu diâmetro paulatinamente até chegar ao último que é um pouco mais largo que os anteriores (característica dos peneídeos). Além disso, o abdômen concentra a maior parte da musculatura dos camarões.

2.2. APÊNDICES

Os apêndices dos camarões são altamente desenvolvidos e modificados para exercerem as mais variadas funções, como locomoção, alimentação, escavação, limpeza das brânquias e funções sensoriais. Os apêndices localizados na cabeça têm basicamente a função sensorial (táctil, olfativa e de equilíbrio), como é o caso das antênulas e antenas, ou função alimentar (corte, manipulação e trituração de alimentos), como é o caso das mandíbulas, maxílulas e maxilas (os camarões possuem dois pares delas). Na base das maxilas há uma estrutura, chamada de escafognatito, que, ao se movimentar, força a circulação de água

pelas brânquias, possibilitando a realização das trocas gasosas (respiração).

Os três primeiros apêndices do tórax são chamados maxilípedes e a sua função também é sensorial (tato e paladar) e alimentar (manipulação do alimento); os cinco últimos são apêndices locomotores, chamados pereiópodos ou patas ambulacrais. Em função desses cinco pares de patas que são utilizadas para caminhar, os camarões peneídeos são classificados como Decapoda (dez patas). Nos decápodos, o primeiro par de pereiópodos apresenta a forma de pinça e é chamado de quelípodo. Em vários crustáceos, como é o caso do camarão gigante da Malásia, os quelípodos são fortes e desenvolvidos, mas nos camarões marinhos são pequenos e frágeis. O segundo e o terceiro par de pereiópodos dos camarões peneídeos também são quelados e os dois últimos são simples (não quelados).

Os cinco últimos pares de patas estão localizados no abdômen, são chamados de pleópodos (pleo = natação, podos = patas) e são utilizadas pelos camarões para nadar. Cada um desses pares de pleópodos está associado a um somito abdominal, sendo que não há nenhum pleópodo associado ao sexto somito, chamado de urópodo (uro = cauda), mas sim um par de apêndices laminares. Esses apêndices, em conjunto com o telson, uma estrutura pontiaguda, também utilizada na defesa contra predadores, localizada na porção terminal do abdômen, funcionam como um "leme" para o camarão, direcionando o movimento durante a natação dos animais e auxiliando, em conjunto com um forte músculo abdominal estriado, a impulsão do camarão, principalmente quando ele realiza movimentos de fuga.

Tabela 1. Morfologia funcional do camarão

Apêndices	Função Principal
Antênulas	Sensorial (quimiorrecepção, tátil, equilíbrio)
Antena	Sensibilidade tátil (detecção do predador)
Mandíbula e lábio mandibular	Sensibilidade tátil, captura das partículas de alimento
Maxílula	Manipulação do alimento
Maxila e escafnognatitos	Manipulação do alimento, limpeza branquial, movimentação da água sobre as brânquias
Maxilípede	Tato, paladar e manipulação dos alimentos
Pereiópodo	Locomoção (caminhar sobre o fundo)
Pleópodo	Locomoção (natação)
Urópodo	Direcionamento da locomoção durante a natação

as precauções necessárias. Outro problema que geralmente ocorre é ocasionado pela diferença de salinidade na água da larvicultura e a água de transporte, problema responsável por cerca de 19% das perdas geralmente ocorridas durante esse processo. Um terceiro fator responsável por perdas de náuplios é a excessiva redução da temperatura na água de transporte, que causa, em média, perdas de 14% dos náuplios transportados.

8. LARVICULTURA

8.1. SISTEMA DE LARVICULTURA

Dois sistemas de larvicultura vêm sendo empregados no país: monofásico ou bifásico.

O sistema monofásico é aquele no qual se utiliza apenas um tanque de larvicultura, do começo ao fim do ciclo de produção. Já no sistema bifásico são empregados dois tanques de larvicultura. O primeiro é utilizado para levar as larvas até Pl_I ou Pl_{II} , em aproximadamente 12 dias de cultivo. Nesse caso, são usualmente utilizados tanques de 10.000 a 20.000 l. Depois, na segunda fase, as Pl 's são transferidas para tanques externos de até 60.000 l, onde são mantidas por cerca de 8 a 12 dias, até chegarem a Pl_{VIII} ou Pl_{XII} .

Apesar do aumento da carga de trabalho envolvido na utilização desse segundo método e da necessidade de possuir uma infra-estrutura adequada para sua aplicação, ele possui duas vantagens básicas sobre o sistema monofásico: a) a primeira é o fato de o laboratório conseguir realizar um maior número anual de ciclos de produção, uma vez que os tanques internos ficam rapidamente disponíveis para um novo ciclo; b) a segunda é o fato de se conseguir produzir Pl 's maiores e mais fortes, uma vez que a densidade final é sempre menor que no sistema monofásico.

8.2. RECEPÇÃO DE NÁUPLIOS

Nem sempre um laboratório de produção de pós-larvas desenvolverá todo um trabalho de manutenção de um banco de reprodutores e de produção de ovos em suas próprias instalações. Laboratórios pequenos costumam comprar náuplios de outros laboratórios e apenas realizar a larvicultura em suas instalações. Esse procedimento não possibilita um controle muito rigoroso da qualidade das pós-larvas produzidas, uma vez que não há nenhum

controle sobre o histórico dos náuplios recebidos, mas, em contrapartida, é possível reduzir bastante os custos de investimento e de produção com tal metodologia.

Uma vez no laboratório, o primeiro passo é a contagem dos náuplios, para averiguação do número de larvas efetivamente entregue, posto que em algumas ocasiões podem haver diferenças entre o número de náuplios adquiridos e o número entregue pelo laboratório onde foram produzidos. Para essa averiguação, a contagem pode ser feita nos próprios sacos de transporte, observando-se os seguintes passos:

- Homogeniza-se a água contida no saco e retira-se, com auxílio de uma pipeta de 0,1 ml, uma amostra da água;
- Depois, contra a luz, procede-se à contagem das larvas presentes na pipeta;
- Repete-se esse procedimento amostral por três vezes;
- Calcula-se o valor médio e faz-se a extrapolação, por meio de regra de três simples, do número de larvas presente no volume total contido no saco de transporte.
- Depois, os náuplios devem ser aclimatados, obedecendo à seguinte cronologia:
 - Temperatura: os sacos com as larvas devem ser colocados, ainda fechados, sobre a água, nos tanques onde serão realizadas as larviculturas. A temperatura deverá então ser monitorada, com auxílio de um termômetro, para se identificar o momento em que a temperatura da água nos sacos se equilibra com a temperatura da água dos tanques de larvicultura.
 - pH: é fundamental a aclimação de pH, uma vez que a água de transporte de náuplios, em decorrência dos metabólitos produzidos durante o transporte, tende a reduzir

o valor do pH da água. Portanto, deve-se adicionar algas nos sacos com os náuplios durante o transporte das larvas ou utilizar ácido muriático na água dos tanques de larvicultura para onde as larvas serão transferidas.

- Salinidade: caso a água do transporte esteja com uma salinidade diferente da água dos tanques de larvicultura, deve-se promover uma alteração de, no máximo, 1 ppmil/hora na água de transporte.

Depois de aclimatados, os náuplios deverão passar pelo tratamento de desinfecção apresentado no item 10,5 antes de se iniciar a larvicultura propriamente dita.

*Salinidade: Sabendo-se que apesar do *Litopenaeus vannamei* ser uma espécie bastante resistente às baixas salinidades, é possível conseguirmos realizar uma larvicultura com uma salinidade de 23ppmil.*

8.3. DENSIDADES

Durante o desenrolar da larvicultura, à medida que as larvas vão evoluindo, elas passam a necessitar de mais espaço para crescer. Assim, há uma necessidade de diminuição da densidade durante esse processo. No entanto, a densidade também pode variar em função de aspectos como o tipo de tanque utilizado e a própria disponibilidade de náuplios no laboratório.

Tabela 7. Densidades sugeridas para os diferentes estádios larvais

Estádio larval	Densidade larvas/ l
N _V / Z _{II}	90-150
Z _{III} / M _I - III	70-90
A partir de P _I	50-70

8.4. ALIMENTAÇÃO

Antes de tudo, é preciso saber que o tamanho da partícula alimentar deve ser sempre proporcional ao tamanho da boca das larvas.

Tabela 8. Tamanho da partícula alimentar nos diferentes estádios larvais

Estádio Larval	Tamanho do Alimento
N _I - VI	Não se alimenta
Z _I - II	Menor que 53 µm
Z _{III} - M _{II}	53-125 µm
M _{III} - PL	125-250 µm

Na Tabela 9, é apresentado um panorama completo sobre o manejo alimentar ideal na larvicultura. Nessa tabela, alguns aspectos chamam a atenção:

- É recomendável que as microalgas sejam utilizadas durante toda a larvicultura, ainda que seu papel principal na alimentação de larvas de camarões se dê na fase de protozoéa;
- Pode-se estimular a ocorrência de um "bloom" de diatomáceas ainda antes da estocagem dos náuplios nos tanques;
- Os alimentos artificiais ganham, cada vez mais, espaço na larvicultura de camarões. Apesar disso, a artêmia ainda é um alimento imprescindível;
- Apesar da maioria dos laboratórios comerciais não adotar essa prática, os náuplios de artêmia podem ser parcialmente substituídos ou suplementado por rotíferos;
- Os alimentos devem ser oferecidos em pelo menos quatro doses diárias, sendo que o ideal é oferecê-los seis vezes ao dia.

6. "Bloom" de alga é um aumento rápido (explosão) no número de células da população.

Tabela 9. Tabela de alimentação e manejo de larvicultura

Estágio	Dias de cultivo	Algas <i>Chlorella</i> (cel/ml)	Nippa BPTM	Plancton	Fripak™ # 1	Fripak™ # 2	Ração (42-50% de PB)	Náuplios de Artêmia (náuplios/ml)	Rotíferos** (Nº/Larva/dia)	Alimento Natural	
										Náuplios de Artêmia Congelados	Biomassa de artêmia
N	1	100,000									Peixes, Moluscos e sítis
N	2	100,000									
P ₁	3	100,000	0,1 ppm								
P ₁	4	100,000	0,2 ppm								
P ₁	5	100,000	0,2 ppm								
P ₁	6	100,000	0,2 ppm								
P ₁	7	100,000	0,2 ppm								
M ₁	8	100,000	0,2 ppm					10/ml	1,8/ml		
M ₁	9	100,000	0,3 ppm					1,5	1,5/ml		
M ₁	10	100,000	0,3 ppm					2,0	1,4/ml		
M ₁	11	100,000	0,3 ppm					3,0	1,2/ml		
M ₁	12	100,000	0,3 ppm					4,5	1,2/ml		
P ₁	13	100,000	0,4 ppm					4,5	1,0/ml		
P ₁	14	100,000	0,45 ppm					4,5	1,0/ml		
P ₁	15	100,000	0,5 ppm					5,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	16	100,000	0,5 ppm					5,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	17	100,000	0,5 ppm					2,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	18	100,000	0,5 ppm					2,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	19	100,000						2,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	20	100,000						1,0	6,0 ppm	6,0 ppm	
P ₁	21	100,000						1,0	6,0 ppm	6,0 ppm	

OBS.: Atualmente se utilizam alimentos líquidos para substituir os alimentos secos.
** Rotíferos: suspensão para utilização em substituição ou como complemento aos náuplios de artêmia.
* Fripak: alimento microencapsulado, fabricado pela Sapro.

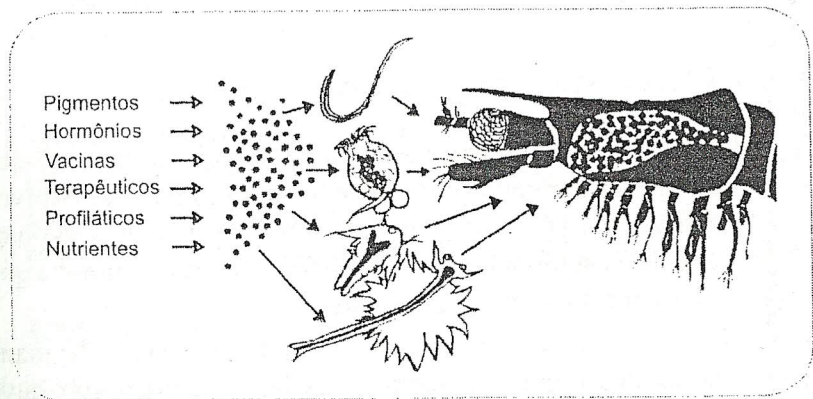


Figura 30. Representação esquemática da bioencapsulação. Nutrientes ou produtos químicos são filtrados, absorvidos ou ingeridos por organismos que servem de alimento para as larvas de camarões. Assim, de maneira indireta, esses compostos acabam sendo ingeridos e aproveitados pelos camarões.

Apesar da grande eficiência dos alimentos naturais (microalgas e artêmia) e da existência de alimentos industrializados (líquidos ou secos), é possível também utilizar uma ração caseira, formulada conforme sugestão abaixo.

Tabela 10. Ingredientes utilizados para se fazer uma ração caseira para uso na larvicultura de camarões marinhos.

Ingrediente	Quantidade
Cápsulas de ácido graxo ômega 3	2
Cápsulas de óleo de fígado de bacalhau	2
Carne de lula	100 g
Farinha de trigo	20 g
Filé de peixe	100 g
Leite em pó	40 g
Ovos	8
Premix mineral	8 g
Premix vitamínico	8 g
Água doce	400 ml

Modo de preparo:

- bater tudo no liquidificador por 10 minutos;
- colocar a mistura em uma forma de bolo;
- esquentar a forma de bolo com o conteúdo em banho-maria, durante 20 a 30 minutos. A mistura deve atingir um ponto em que, ao se colocar uma colher, ela saia praticamente seca;
- deixar esfriar;
- partir em porções equivalentes às doses que serão utilizadas em cada alimentação;
- as doses a serem utilizadas nas próximas 24 h poderão ser armazenadas na geladeira, as demais deverão ser estocadas no freezer;

- no dia da utilização da ração, ela deve ser passada por uma malha proporcional ao tamanho da larva, com água sem muita pressão.

8.5. RENOVAÇÃO DA ÁGUA

Estádio	Taxa de Renovação
Náuplio	Sem renovação
Protozoéa I	30%/dia
Protozoéa II	50%/dia
Protozoéa III	80%/dia
Misis	100%/dia
Pós-larva	Troca diária 100% com fluxo contínuo de 15'

Observação: Em caso de ocorrência de alguma enfermidade, deve-se realizar duas trocas de água diárias.

Tabela 11. Abertura de malha das telas para renovação de água

Estádio	Abertura de Malha
Náuplio - Protozoéa I	200 μm
Protozoéa II-III	215 μm
Protozoéa III	300 μm
Misis I - III	400 μm
Pl I-X	500 μm

8.6. AMOSTRAGEM E CONTAGEM

As amostragens das larvas nos tanques de larvicultura devem ser diárias e envolver praticamente todas as fases de cultivo, desde náuplio até pós-larva, pois possibilitam avaliar a evolução dos estádios e subestádios larvais, bem como determinar a qualidade e o estado sanitário dos animais.

As amostragens devem ser feitas logo pela manhã, em diferentes pontos do tanque. As larvas amostradas devem ser criteriosamente avaliadas, tanto a olho nu quanto em microscópio. É importante que pelo menos 15-20 larvas sejam avaliadas diariamente em cada tanque.

Em primeiro lugar, avalia-se a forma de natação e o nível de atividade das larvas. Depois, determina-se o estágio e o subestádio em que se encontra cada uma das larvas amostradas. Esses dados devem ser registrados em planilhas de monitoramento do cultivo.

A estimativa do número de larvas presentes no tanque também é feita por amostragens:

- Com um recipiente de 2 litros, retiram-se 5 amostras de diferentes pontos do tanque e se conta o número de larvas presentes.
- Depois, o valor médio obtido é utilizado em uma regra de três simples, para estimar o número de larvas existentes no tanque de larvicultura, tomando-se como base o volume total de água existente nesse tanque.
- Caso o número de larvas presentes em cada amostra varie muito, deve-se aumentar o número de amostras coletadas.

8.7. QUALIDADE DAS LARVAS

O verdadeiro teste de qualidade das larvas será o seu desempenho durante a engorda em viveiros. No entanto, esse processo de definição da qualidade das larvas não é e nem pode ser encarado como uma loteria. Há diversos indicadores e procedimentos que podem ser utilizados em cada estágio larval:

8.7.1. Náuplio⁷

- Percentagem de náuplios mortos em uma amostra;
- Percentagem de náuplios defeituosos;
- Resposta à luz (calcular a percentagem de náuplios que não se desloca em direção à luz).
- Limpeza das setas e sétulas;
- Uniformidade do lote (percentagem de larvas no mesmo subestádio naupliar);
- Grau de contaminação por protozoário ou outros organismos.

8.7.2. Protozoéa e miosis

A maioria dos critérios apresentados para avaliação da qualidade dos náuplios pode ser empregada para a avaliação dos demais estádios larvais. Soma-se, ainda, a presença ou não de alimentos no trato digestivo.

7. Saber avaliar a qualidade dos náuplios é muito importante, pois, como já foi dito, um laboratório pode iniciar a sua produção de pós-larvas a partir de náuplios produzidos por outro laboratório. Assim, é necessário que se saiba avaliar a qualidade do produto adquirido.

8.7.3. Pós-larva

A avaliação da qualidade das pós-larvas, assim como a dos náuplios, também merece destaque, pois esse é o produto que o laboratório colocará no mercado. Uma pós-larva de má qualidade deprecia contra o próprio laboratório que a produziu.

Como já foi explicado anteriormente, um dos melhores índices para avaliação da qualidade das pós-larvas é a taxa final de sobrevivência obtida nos cultivos em viveiros. Não se pode esperar que cultivos larvais que apresentaram péssimas taxas finais de sobrevivência na larvicultura, dêem origem a pós-larvas de excelente qualidade.

Mas existem outras evidências da qualidade das pós-larvas produzidas e que podem ser checadadas por seus eventuais compradores. Em geral, as pós-larvas poderão ser consideradas aptas para serem comercializadas se atenderem a uma série de pré-requisitos.

Análise visual/microscópica

Pl's de boa qualidade costumam apresentar:

- pigmentação característica;
- cromatóforos nos urópodos;
- sistema branquial completamente formado;
- cromatóforos bem definidos (sem expansão);
- alimentos no trato digestivo;
- hábito bentônico;
- ausência de organismos epibiontes aderidos;
- musculatura transparente (não opaca);

- o sexto segmento mais curto que o comprimento da carapaça;
- relação intestino-músculo no sexto somito abdominal de 1:4 (ou seja, o intestino, na porção terminal do último somito, deve ter uma espessura aproximada de 25% da espessura total do próprio somito);
- ausência ou baixa incidência de erosões externas;
- musculatura abdominal transparente e limpa, devendo também estar bem junto ao exoesqueleto, pois se a musculatura apresentar espaço entre ela e o exoesqueleto isso pode significar a ocorrência de alguma doença ou problemas nutricionais;
- elevado teor de lipídios: o teor de lipídios deve ser observado no hepatopâncreas, através de microscópio. Normalmente, quanto menores forem as gotas de lipídios no hepatopâncreas, maior será a quantidade de ácidos graxos insaturados e polinsaturados disponíveis e, conseqüentemente, melhor a saúde e maior a resistência do animal.

Teste de estresse

Outro detalhe importante a ser observado é o resultado apresentado pelas Pl's nos testes de estresse, que podem ser realizados da seguinte maneira:

- Transferir 100 Pl's para um recipiente contendo 1 l de água doce (zero ppmil), em presença de aeração;
- Esperar 1 hora e retorná-las a um recipiente contendo água com a salinidade original;
- Esperar por 30 minutos e anotar o número de larvas sobreviventes;

- Opcionalmente, o teste também pode ser feito com adição de formol à água doce, em uma concentração de 100 ppm.

Interpretação dos resultados obtidos nos testes de estresse:

Caso a sobrevivência seja superior a 75%, pode-se considerar as laryas como de boa qualidade. Se a sobrevivência ficar abaixo desse número, pode-se tentar alterar as condições de cultivo adicionando náuplio de artêmia durante 24 h, repetindo-se o teste no dia seguinte.

Importante: Não se deve baixar a temperatura da água durante o teste de estresse, pois esse procedimento provoca uma diminuição do metabolismo das Pl's, podendo mascarar os resultados finais. Outro cuidado é realizar o teste de estresse sempre com água filtrada sem a presença de cloro.

8.8. DESPESCA

Inicialmente, deve-se drenar o tanque de larvicultura, deixando apenas 50% do volume inicial sob um regime de intensa aeração. Depois, com auxílio de um puçá, com malha apropriada (1.000 µm), faz-se a despesca das Pl's, que devem ser transferidas para um tanque de contagem.

Quando o número de Pl's capturadas com o puçá passar a ser reduzido, o restante da despesca deverá ser feito através da drenagem total do tanque. Para isso, deve-se utilizar um recipiente para filtrar a água e reter as Pl's (Figura 39), que deverão ser posteriormente transferidas para o tanque de contagem.

8.9. CONTAGEM

Para a contagem das Pl's, deve-se:

- Concentrá-las em um tanque com capacidade para 300 l, sob um regime de aeração intensa;
- Depois, duas ou mais pessoas promovem, com as próprias mãos, uma agitação intensa e contínua da água, para homogeneização das Pl's na caixa. Uma outra pessoa retira uma amostra em um béquer de 110 ml;
- Realiza-se a contagem do número de larvas presentes no béquer;
- Repete-se todo o procedimento por 5 vezes;
- O número médio obtido deve ser dividido por 100 e multiplicado pelo volume final do tanque, para se obter o número total de Pl's existente.

8.10. TRANSPORTE

- Em sacos plásticos de 30 litros, contendo 12 litros de água e o restante preenchido com oxigênio puro;
- Densidade durante o transporte: 800 – 1500 Pl_x/l;
- Alimento: náuplios de artêmia em densidade de 25 a 80 N/l;
- Temperatura da água: 24°C (para transportes curtos, de até 4 h), de 22°C (para transporte com duração de até 12 horas) ou 20°C (para transportes com durações superiores a 12 h);
- Salinidade: aproximadamente a mesma dos viveiros de engorda;

- Utilizar carvão ativado⁸ em proporção de 0,3 g/l e microalgas em proporção de 80.000 cel/ml;
- Se possível, levar sempre sacos plásticos adicionais, contendo água do laboratório, sem larvas, para ajudar no processo de aclimação na fazenda.

Dicas:

- *Se a distância for inferior a 8 horas e o trajeto puder ser feito por via terrestre, é preferível transportar as Pl's em tanques abertos, com aeração, em uma razão de 180.000 Pl's por tanque de 200 l. Nesse caso, deve-se utilizar de 20-30 N/artêmia/l e checar essa densidade alimentar a cada 4 horas. Caso a densidade de náuplios de artêmia seja baixa, deve-se complementar a alimentação com Frippak #3, em razão de 1,5 g por tanque.*
- *A redução da temperatura para o transporte de Pl's deve seguir uma relação de 1 °C a cada 15 minutos.*
- *Outra substância que pode ser colocada nos sacos de transporte, para evitar a variação de pH, é o Tris (Hydroximetil Amino-Metano), em concentração de 1,0 g/saco*
- *No transporte das Pl's em caixas de isopor, por períodos superiores a 12 h, deve-se colocar 2 a 3 kg de gelo em sacos plásticos e acondicioná-los juntos aos sacos contendo larvas, nas caixas de isopor.*

⁸ É altamente recomendável a utilização de carvão ativado e algas nos sacos de transporte de Pl's. O carvão ativado reduz o impacto causado sobre a qualidade da água pela degradação de camarões e náuplios de artêmia mortos e dos resíduos nitrogenados liberados na água. As algas evitam uma redução excessiva do pH da água durante o transporte.

9. NOÇÕES BÁSICAS SOBRE A OCORRÊNCIA DE DOENÇAS EM CAMARÕES DURANTE A LARVICULTURA

A saúde dos camarões cultivados é fruto direto da sua interação com o ambiente e da presença de agentes patogênicos. Em uma determinada população, sempre haverá indivíduos mais afetados pelas condições ambientais estressantes. Se esses indivíduos entram em contato com agentes patogênicos (bactérias, protozoários, fungos etc.) é provável que fiquem doentes. Por isso, em uma situação considerada normal, é aceitável e até provável que cerca de 3% dos indivíduos de uma determinada população apresentem algum problema sanitário.

Esse problema passa a ser preocupante quando a percentagem de camarões doentes passa a superar esse patamar de 3% ou nos casos em que a doença diagnosticada apresente elevado potencial infeccioso, mesmo se a percentagem de organismos afetados for inferior a 3%.

Em geral, as doenças ocorrem quando o tripé camarão-agentes patogênicos-ambiente entra em desequilíbrio. Algumas das razões relacionadas a esse possível desequilíbrio dizem respeito:

- a) **em relação ao camarão:** à espécie cultivada, à fase de vida, ao sexo dos animais, à densidade de cultivo, ao estado nutricional, às características comportamentais e sociais, à capacidade imunológica, à qualidade das larvas e/ou dos reprodutores, etc.
- b) **em relação ao agente patogênico:** à virulência, à resistência, à densidade do agente patogênico no meio, à presença de vetores, à habilidade para sobreviver (mutações adaptativas).
- c) **em relação ao ambiente:** à temperatura, ao pH, à alcalinidade, à salinidade, ao oxigênio dissolvido, à presença de compostos nitrogenados, à intensidade luminosa, ao fotoperíodo, etc.

Para se identificar a presença de camarões doentes em um plantel de larvas ou de reprodutores, o carcinicultor deve inicialmente prestar atenção a alguns importantes sinais clínicos, tais como alterações anatômicas morfológicas ou comportamentais. No entanto, para confirmação de qualquer suspeita, amostras desses animais deverão ser submetidas à análise microscópica e, em casos especiais, poderá ser necessária a realização de análises histológicas e até de bioensaios laboratoriais. Importante também que o produtor possua um banco de dados atualizado sobre o histórico de seu plantel.



Figura 31. Interações que determinam a ocorrência de doenças em camarões marinhos

9.1. REPRODUTORES ⁹

Produtores menos experientes poderão encontrar dificuldades para identificar e até para adotar medidas imediatas para a correção dos problemas sanitários existentes com o plantel. Mas, em qualquer caso, a rapidez na tomada de decisão é fundamental, pois os eventos relacionados à ocorrência de enfermidades podem ocasionar a perda completa de larvas e até de reprodutores em questão de algumas horas, principalmente no caso das enfermidades ambientais (físicas ou químicas).

Quando os reprodutores transferidos para o laboratório apresentarem algum sinal de "black-spot" (enfermidade cujos sinais clínicos são o aparecimento de manchas negras externas, a nível cuticular), brânquias negras ou colonizadas por protozoários, o carnicultor deverá fazer o tratamento à base de cal hidratada (CaOH), com 40 a 60 g de cal hidratada para cada 8.000 l de água. Ao mesmo tempo, os viveiros onde esses camarões se encontravam previamente estocados deverão ser tratados com 50kg de Cal (CaOH/ha) e 300kg de calcário (CaCO₃)/ha ou calcário doméstico (Ca Mg(CO₃)₂).

Reprodutores com diagnóstico de NHP (Necrose do Hepatopâncreas - uma doença provocada por rickettsia), devem ser medicados, com OTC (Oxi-tetraciclina) à razão de 6g/kg de ração úmida, suplementada com 0,5 g de vitamina C/kg de ração e 2,0 g de vitamina E/kg de ração. Essa dieta medicamentosa deve ser fornecida quatro vezes ao dia durante 14 dias. Depois, interrompe-se o tratamento por 10 dias, ao final dos quais ele deverá ser novamente repetido.

⁹ O tema "enfermidade de camarões" durante a fase de engorda será discutido de modo mais específico no volume II.

9.2. LARVICULTURA: PRINCIPAIS PROBLEMAS SANITÁRIOS, MEDIDAS PREVENTIVAS E CURATIVAS

As enfermidades podem ser classificadas em dois grupos: infecciosas (causadas por algum agente biológico) e não infecciosas (que não são ocasionadas por um agente biológico).

As doenças infecciosas já descritas para camarões podem ser causadas por: vírus, clamídia, rickettsia, bactérias, fungos, protozoários e metazoários. Já as doenças não infecciosas podem ter causas físicas, químicas, nutricionais ou neoplásicas (tumoraes).

Estresse: *O estresse é o agente imunossupressor mais potente que existe na aquicultura, principalmente no cultivo de vertebrados. Animais estressados têm maiores probabilidades de contrair doenças infecciosas. Entretanto, no caso dos camarões, apesar dessa afirmação ser amplamente aceita, ela não foi comprovada experimentalmente.*

9.2.1 VIROSES

As viroses são as mais temíveis e danosas enfermidades que afetam os camarões marinhos. Como os vírus se encontram no interior das células, é muito difícil eliminá-los sem eliminar as próprias células infectadas. Doenças, como a BVP (*Baculovirus penaei*) e a MBV (*Monodon baculovirus*), IHHNV e WSSV TSV (Síndrome de Taura) podem afetar todos os estádios vitais de camarões e causar grandes prejuízos, ainda que esse tipo de doença geralmente cause mais prejuízos na engorda que na larvicultura.

9.2.2. DOENÇAS BACTERIANAS

Grande parte das bactérias que causam problemas às larvas de camarões são encontradas no ambiente natural, onde elas desempenham um importante papel na decomposição de matéria orgânica (bactérias saprófitas). Esse, por exemplo, é o caso das bactérias filamentosas epicomensais, que colonizam a superfície externa dos camarões, podendo afetar a sua movimentação, diminuir a eficiência alimentar, causar morbidez e mortalidade. Por outro lado, há bactérias que estão naturalmente presentes tanto na água quanto na flora interna dos camarões, como é o caso das bactérias do gênero *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*), que podem alterar o comportamento natatório dos camarões, causar anorexia, letargia e até mortalidades de 100% dos animais cultivados.

LUMINESCÊNCIA: é provocada por um grupo de bactérias do tipo vibrionáceas, principalmente da espécie *Vibrio harveyi*, que produz uma luz verde fosforescente nos tanques de larvicultura. Esse fenômeno costuma ocorrer nos estádios de Z_{III} e M_I. Não se tem registro da ocorrência do problema em estádios anteriores. A principal via de transmissão é a água, de forma que a contaminação de todo o laboratório pode ocorrer em 6 a 8 horas. Embora ainda haja dúvidas sobre isso, outra forma de transmissão seria a vertical¹⁰, ou seja, as bactérias seriam transmitidas por líquidos liberados pelas fêmeas durante a desova. O tratamento pode ser feito tanto com o uso de probióticos quanto com antibióticos.

10. Transmissão vertical : aquela que ocorre de mãe para filho. Transmissão horizontal: a que ocorre entre os indivíduos da população.

BOLITAS (bolinhas): Aparentemente, essa doença também está relacionada ao fenômeno de luminescência. Caracteriza-se pela eliminação (descamação) das células da parede do hepatopâncreas e do intestino. Provoca a dificuldade de digestão e retenção de alimentos, levando as larvas à morte por inanição. Acredita-se que a doença seja causada por toxinas bacterianas, possivelmente oriunda do *Vibrio harveyi*. O mecanismo de transmissão é horizontal e praticamente todas as espécies de camarões estão sujeitas à contaminação.

NECROSE BACTERIANA: as necroses costumam afetar principalmente as extremidades dos apêndices, causando erosões profundas. Os sintomas são a formação de uma coloração marrom nos apêndices e a musculatura pode se tornar opaca.

9.2.3. FUNGOS

Lagenidium e sirolopidium: esses fungos são comumente encontrados no sistema de ar, em locais de maior condensação de água, onde se desenvolvem e liberam esporos. Os esporos, por sua vez, são bastante resistentes, podendo resistir ao cloro em concentrações de até 500 ppm. Esse tipo de agente ataca todos os estádios larvais de camarões. Em condições normais, apenas alguns indivíduos da população costumam ser afetados, mas há casos em que a doença pode ser devastadora. Os fungos se aproveitam da existência de lesões cuticulares (normalmente, lesões bacterianas) para colonizar e danificar os tecidos, principalmente os tecidos musculares. O mecanismo de transmissão é horizontal e a doença afeta todos os estádios larvais. O tratamento passa pela desinfecção do sistema de ar (conforme apresentado no item 10.7, ou pelo uso de Treflan (trifluralina) na água, em concentrações diárias de 0,05 ppm.

9.2.4. PROTOZOÁRIOS

Os mais comuns são *Zoothamnium*, *Vorticella*, *Acineta*, *Epystils*, que são organismos epicomensais (que se fixam nos camarões, em praticamente todos os estádios vitais) e que, quase sempre, estão vinculados à má qualidade da água. Mas existem grupos como os Suctoria, que causam problemas semelhantes aos provocados por bactérias filamentosas. As gregarinas, um grupo de protozoários, podem infectar as Pl's, invadindo o seu intestino, competindo pelos nutrientes internos e até causando danos ao epitélio intestinal. A transmissão é horizontal e todos os estádios vitais dos camarões podem ser contaminados. No caso de reprodutores, o tratamento poderá ser feito com a adição de 40 a 60 g de cal hidratada para cada 8.000 l de água (ou 8 toneladas), ou seja, o equivalente a uma quantidade de 5 a 7,5 ppm de cal. O combate às infestações de protozoários nos tanques de larvicultura deve ser sempre feito de maneira preventiva, com a intensa renovação de água e a utilização de elevadas concentrações de microalgas nos tanques.

9.2.5. CLAMÍDIA (SÍNDROME DE ZOÉA)

Essa é uma doença que ocorre principalmente no estágio de Z_{II}. As larvas afetadas se tornam letárgicas e moribundas, com uma marcada variação da espessura do epitélio mucoso do tubo digestivo médio e células necrosadas soltas no lúmen (luz ou canal) do mesmo tubo digestivo. Normalmente, ocorrem elevadas taxas de mortalidade, sem que hajam sintomas muito bem definidos. Porém, internamente, pode-se observar que animais doentes apresentam baixa vacuolização no hepatopâncreas e separação das células epiteliais do tubo digestivo. Externamente, pode-se observar a

presença de necrose multifocal do epitélio cuticular e apêndices quebrados ou deformados.

Tabela 12. Principais agentes causadores de doenças e tratamentos químicos na larvicultura

Agente Causador da Doença	Droga ou Químico	Dose (PPM)
Bactéria Luminescente	Eritromicina	2-5
	Furazolidona	5-10
	Cloranfenicol + Furazolidona (Nitrofuranos)	0,5-2,5
	Neomicina + Furazolidona (Nitrofuranos)	0,4-2,0
Vibriose Externa	Kanamicina + Furazolidona (Nitrofuranos)	0,4-2,0
	Oxi-tetraciclina	5-10
	Cloranfenicol	7-10
	Eritromicina	2-5
	Cotrimoxazol	até 4
Bactéria Filamentosa	Furazolidona ou Nitrafurazona	até 3
	Cutrine Plus™	0,25-1,0
Micose ou Fungos	Treflan (trifluralina)	Até 0,07
Protozoários	Formalina	15-30
	Verde de malaquita	até 0,07

9.2.6. Medidas Preventivas

A seguir são apresentados alguns produtos que apresentam importantes papéis como agentes profiláticos na prevenção de doenças.

Prevenção: *A carcinicultura é uma atividade particularmente suscetível à ocorrência de doenças. Por isso, a prevenção é, ou pelo menos deveria ser, o objetivo principal de qualquer área da produção de animais aquáticos, especialmente quando se trata de camarões marinhos.*

EDTA: É um agente quelante, ou seja, que se liga a elementos químicos de alta toxicidade (como os metais pesados, por exemplo), formando compostos de reduzidos riscos para os camarões cultivados. O EDTA é uma molécula orgânica que é solúvel em água e que possui duas ou mais cargas iônicas. A estabilidade química é a sua grande característica. O EDTA sofre reações com os íons metálicos, seqüestra metais pesados disponíveis na água e evita incrustações de CaCO_3 . Ao eliminar parte dos íons Ca e Mg da água, reduz também a sua dureza. É também um agente bacteriostático, pois elimina metais que são essenciais para algumas bactérias, impedindo assim a sua proliferação no meio. O EDTA geralmente é utilizado em duas formas químicas: o EDTA dissódico desidratado (mais eficiente) e o EDTA tetrassódico desidratado. O EDTA deve ser utilizado em tanques de eclosão e de larvicultura, em concentrações de até 10 ppm.

Trifluralina (treflan): É um produto amplamente utilizado na agricultura. Possui ação antifúngica e deve ser utilizado em concentrações máximas de 0,01-0,07 ppm.

Vitamina C: Apresenta função oxirredutora (transporte biológico de elétrons) no metabolismo celular, pois está presente em praticamente todos os tecidos vivos. É também importante na

formação de substâncias que compõem tecidos conjuntivos e cartilagens. A vitamina C é ainda responsável por processos fisiológicos relacionados ao funcionamento normal das brânquias dos camarões; ajuda na produção de enzimas; aumenta o apetite e melhora a digestibilidade. A falta de vitamina C quase sempre é originada pela ausência de microalgas durante os cultivos ou devido a utilização de alimentos velhos. A vitamina C evita que as moléculas orgânicas se degenerem. Nos camarões, estimula as funções de defesa do organismo (atividade fagocitária dos leucócitos, sistema retículo endotelial e formação de anticorpos). Através do seu incremento, é possível se reduzir a produção ou a atividade dos hormônios estressantes, reduzindo seus efeitos e aumentando a resistência dos camarões às infecções. O ácido ascórbico pode ser utilizado durante a larvicultura, a partir de Z_1 , em concentrações de até 2 ppm.

Carotenóides (precursores da vitamina A): São compostos anti-oxidantes, encontrados principalmente em algas. Os principais carotenóides são: β - caroteno (pigmento laranja), astaxantina (pigmento azul), xantofilas (pigmento amarelo) e fucoxantinas. Os carotenóides atuam como medida profilática quando presentes em doses adequadas nas rações. Por exemplo, pode-se adicionar 100 mg de astaxantina em 100 g de ração para reprodutores e oferecer aos camarões durante dois meses.

Também são utilizados para modificarem a coloração dos camarões, agregando-lhes valor de mercado.

Ácidos Graxos: Os ácidos graxos polinsaturados $\omega 3$ (ômega três) são componentes essenciais na formação de membranas (como as brânquias), na osmoregulação, na síntese da prostaglandina na

ativação do sistema imunológico. Assim como as vitaminas, os ácidos graxos devem ser oferecidos via alimentação, o que só reforça a importância de se oferecer uma dieta balanceada aos camarões cultivados nas mais variadas etapas do seu processo produtivo. É por isso que se recomenda a utilização do ácido graxo ômega 3 na elaboração da ração caseira. Já nas rações comerciais utilizadas na larvicultura, esse é um composto rotineiramente utilizado.

9.3. ANTIBIÓTICOS

Antibióticos são substâncias químicas, produzidas por microorganismos ou sintetizadas em laboratório, que podem tanto destruir quanto inibir o crescimento de outros microorganismos. Os antibióticos podem ser classificados como de largo espectro (que são ativos para um grande número de microorganismos), ou de curto espectro (que são específicos para um determinado grupo de microorganismos, interferindo diretamente nos seus processos metabólicos).

Em função da ocorrência de um grande número de enfermidades, tanto durante a larvicultura quanto na engorda de camarões, o uso indiscriminado de antibióticos se popularizou em várias regiões do mundo, com sérias e negativas consequências ambientais e também econômicas. Por esse motivo, a proposta desse capítulo é abordar, da forma mais didática possível, o assunto "antibióticos", uma vez que o conhecimento técnico é a forma mais eficiente de se evitar que os erros já cometidos em outros laboratórios voltem a se repetir.

9.3.1. Princípios gerais de terapia antimicrobiana

Há uma grande multiplicidade de nomes para as drogas antimicrobianas, no entanto, só existem, na realidade, alguns poucos tipos de drogas dentre os muitos produtos que são comercializados. Para a terapia, é necessário estar familiarizado com, pelo menos, três drogas de cada uma das principais classes de antibióticos:

- Sulfonamidas e suas misturas
- Eritromicinas e macrolídeos
- Penicilinas e cefalosporinas
- Aminoglicósidos ou Aminosídeos
- Cloranfenicol
- Tetraciclina
- Anti-sépticos urinários (nitrofurans, etc)

9.3.2. Mecanismos de ação das drogas antimicrobianas

A principal característica de uma droga antimicrobiana é a sua toxicidade seletiva. Esse aspecto diferencia esse tipo de drogas dos desinfetantes. Toxicidade seletiva significa que uma droga é mais tóxica para microorganismos que para as células do animal hospedeiro. Uma ação seletiva leva, portanto, a vantagem de permitir a diferenciação estrutural e/ou funcional entre os microorganismos e as células do hospedeiro.

9.3.3. Ação antimicrobiana das drogas

Inibição do crescimento por antagonismo competitivo: As drogas que exercem seu efeito por antagonismo competitivo o fazem

através dos seguintes mecanismos gerais: Enzimas bacterianas catalizam apenas uma única reação. Isso ocorre quando uma molécula de substrato se liga a um sítio ativo na enzima, o substrato é ativado, metabolizado e liberado. Uma droga competitiva, inibe ou restringe essa reação ao se combinar tanto com a enzima quanto com o substrato.

Inibição da síntese da parede celular: Algumas drogas antimicrobianas bloqueiam efetivamente a síntese da parede da célula bacteriana. Bactérias gram-positivas, que têm uma pressão externa de 3 a 5 vezes maior que os organismos gram-negativos, também têm uma parede celular muito mais grossa. Bactérias gram-positivas são geralmente mais susceptíveis a drogas que inibem a síntese da parede celular que as bactérias gram-negativas.

Inibição da função da membrana plasmática celular: A membrana citoplasmática serve como uma importante barreira seletiva no controle da composição interna da célula. A membrana celular de determinados microorganismos é mais rapidamente destruída por certos agentes químicos do que as membranas das células do hospedeiro. Isto constitui o fundamento da toxicidade seletiva de certos tipos de drogas antimicrobianas.

Inibição da síntese das proteínas: As proteínas celulares são sintetizadas nos ribossomos, que são estruturas localizadas nas próprias células. Os ribossomos das bactérias são estruturalmente diferentes daqueles presentes em organismos superiores. Muitos compostos antibióticos combinam-se com ribossomos bacterianos mais rapidamente que com os ribossomos de organismos superiores, esse é o fundamento da sua toxicidade seletiva.

9.3.4. Ação bacteriostática vs. ação bactericida nas drogas

Uma droga que tem uma ação bacteriostática impede a multiplicação do organismo alvo. Uma droga bactericida mata ou destrói os microorganismos, reduzindo o número total da população.

Bacteriostática = Evita a multiplicação bacteriana

Bactericida = Mata as células bacterianas

9.3.5. Resistência a drogas antimicrobianas

A resistência a drogas antimicrobianas tem sido um problema freqüente nos laboratórios de camarões marinhos, particularmente em sistemas de cultivo em que certos tipos de componentes, por exemplo, antibióticos, são aplicados rotineira e indiscriminadamente. Em muitos casos, o tratamento com antibióticos acontece mesmo na ausência de um trabalho de diagnose, ou seja, de identificação do problema que está afetando as larviculturas. Em outros casos, antibióticos são aplicados em baixas concentrações como "medida preventiva" para o controle das bactérias.

Apesar dessas estratégias de manejo costumarem funcionar em primeira instância, elas acabam levando consigo um enorme potencial para o desenvolvimento de inóculos bacterianos resistentes no sistema de cultivo. Geralmente, as probabilidades de que microorganismos resistentes a drogas se desenvolvam é muito maior com o uso de drogas do tipo antibiótico. Por outro lado, são bastante reduzidas as possibilidades dessa resistência vir a ser gerada pelo uso de químicos, como sulfato de cobre e formalina.

A origem da resistência a drogas pode ser genética ou não. Exemplos de mecanismos não-genéticos de resistência a drogas incluem: a) ausência de multiplicação; b) perda da estrutura objetiva específica. Exemplos de resistência genética a drogas: a) resistência cromossômica; b) resistência extra-cromossômicas (plasmídios)

Têm sido descritos diferentes mecanismos, através dos quais os microorganismos demonstram forte resistência a drogas:

- Surgimento de novas enzimas microbianas;
- Mudança de permeabilidade celular;
- Alteração da estrutura celular;
- Alteração de trilhas metabólicas;
- Alteração química ou funcional das enzimas dos microorganismos.

O desenvolvimento de resistência a antibióticos tem sido encarado como um grande problema em laboratórios de camarão. Se uma terapia com antibióticos é aplicada em um laboratório, provavelmente e com o tempo, acontecerá alguma resistência à droga utilizada. Contudo, é possível minimizar ou moderar a resistência aos antibióticos aplicando as seguintes estratégias:

- Manter sempre as práticas sanitárias recomendadas como parte da rotina em um laboratório de produção de larvas de camarão.
- Somente usar uma terapia à base de antibiótico quando for realmente necessário e somente após ter sido formulado um diagnóstico de infecção microbiana para um determinado problema sanitário (medida metafilática ou pontual, que requer grande conhecimento das doenças por parte do técnico responsável). Não devemos utilizar o mesmo antibiótico por de três dias seguidos.

9.3.6. Determinação do tipo de tratamento a ser seguido

Preventivo: É de fácil aplicação, pois os antibióticos são utilizados mesmo sem a identificação de uma enfermidade no laboratório. Apesar dessa prática ser adotada por alguns profissionais, é totalmente desaconselhada, pois apresenta grandes desvantagens, como: custo elevado; mascaramento da doença; risco de dosagem excessiva; desenvolvimento de resistência.

Metafilático: Exige experiência e conhecimento por parte do técnico responsável, pois a droga só é utilizada quando realmente necessária. Apresenta as seguintes vantagens: a) diminui a chance de desenvolver resistência (pois só se medica quando a doença começa a aparecer); b) minimiza a mortalidade. Desvantagens: a) deve-se conhecer previamente o padrão da doença; b) requer atuação imediata, sincronismo e monitoramento constante.

Terapia curativa: Tratamento aplicado quando a doença já está estabelecida, ou seja, necessita de diagnóstico positivo. Vantagens: limita a resistência e também o próprio uso da droga. Para se aplicar esse tipo de terapia, é preciso:

- Usar um antibiótico em uma dose suficientemente alta e por um período e intervalos específicos (usualmente 2 – 5 dias e a cada oito horas, respectivamente) para controlar o problema.
- Quando o tratamento estiver completo, retirar a droga e não continuar administrando a mesma, ainda que em baixas concentrações, por um novo período.
- Se for necessário repetir tratamentos com antibióticos, as drogas utilizadas devem ser alternadas e com apenas uma

única droga sendo utilizada em um dado momento, ou com o uso concomitante de químicos do tipo não-antibiótico (ex. sulfato de cobre, formalina, iodo, etc.).

- Monitorar periodicamente os padrões de sensibilidade antibiótica das bactérias, no sistema que as drogas estão sendo aplicadas, para definição das concentrações mínimas inibitórias (MIC).
- Se a resistência bacteriana vier a se converter em um problema, deverão ser tomadas medidas de limpeza e desinfecções periódicas das instalações, para erradicação das populações microbianas e eliminação dos focos ("pockets") de bactérias resistentes.
- Substituir, sempre que possível, o uso de antibióticos por probióticos. Com isso, reduzem-se custos e se dificulta o desenvolvimento de bactérias resistentes (ver ítem 9.4).

9.3.7. Principais grupos de antibióticos ou compostos microbianos

SULFONAMIDAS

- Espectro da atividade: Amplo espectro.
- Modo de ação: Bacteriostático: antagonismo competitivo em síntese essencial para bactéria, necessidade pura para a síntese do ácido nucléico.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Moderado.
- Solubilidade na água: Variável dependendo do tipo. Sulfamerazina, Sulfadiazina e Sulfasoxazol (gantricina), são classificadas como altamente solúveis.
- Influência do pH: Pode ser mais ativo em pH alcalino.

- Dose: Dosagem adequada varia de 10 a 100 ppm (mg/l).
- Compostos relacionados: Existem muitas drogas à base de sulfas. As mais importantes e com potencial para uso em água foram listadas acima. Trimetropina é um tipo similar de composto.

ERITROMICINA OU MACROLÍDEOS

- Espectro da atividade: Muito ativos contra bactérias gram-positivas.
- Modo de ação: Bacteriostático em baixas dosagens e bactericida em altas dosagens. Inibição da síntese protéica das bactérias.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Alto. Também apresenta uma alta tendência para desenvolver resistência cruzada com drogas à base de eritromicinas.
- Solubilidade na água: Baixa.
- Influência do pH: Mais ativo em pH básico.
- Dose: Dosagem adequada varia de 0,2 a 4 ppm (mg/l).
- Compostos relacionados: As principais são: eritromicina, Lincomicina e Clindamicina.

PENICILINAS

- Espectro da atividade: Muito ativos contra bactérias gram-positivas, porém algumas bactérias gram-negativas podem ser susceptíveis a altas dosagens de penicilinas.
- Modo de ação: Bactericida, através da inibição da síntese da parede celular.

- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Moderado. A resistência cruzada entre as penicilinas é alta.
- Solubilidade na água: Varia entre os diferentes tipos. Uma vez dissolvidas, as penicilinas não são estáveis na água por mais de 24 horas.
- Dose: Dosagem adequada varia de 0,02 a 1 ppm (mg/l) para bactérias gram-positivas, porém para gram-negativas as dosagens requeridas são de 10 a 100 vezes maior.
- Compostos relacionados: Penicilina G, Meticilina, Nafcilina, Oxacilina, Ampicilina, Cefalotina, Cefaloridina, Cefalexina e Cefaloglicina.

CLORANFENICOL

- Espectro da atividade: Amplo espectro.
- Modo de ação: Bacteriostático através da inibição da síntese protéica.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Baixo. Não existe resistência cruzada entre Cloranfenicol e outros antibióticos.
- Solubilidade na água: Apenas Cloranfenicol Succinato é altamente solúvel em água. As outras formas são insolúveis.
- Dose: Dosagem adequada varia de 0,2 a 10 ppm (mg/l).
- Cuidados: Exposição ou manipulação com esta droga pode ser fatal ao ser humano, é recomendado extremo cuidado. Apresenta toxicidade hematológica.

AMINOSÍDEOS OU AMINOGLICOSÍDEOS

- Espectro da atividade: Amplo espectro, principalmente contra organismos gram-negativos.
- Modo de ação: Bactericida, pela inibição da síntese protéica. Atuam ao nível dos ribossomos, sendo ineficazes em meio anaeróbico.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Tendência moderada. O potencial para o desenvolvimento de resistência cruzada entre aminoglicosídeos é alto.
- Solubilidade na água: Altamente solúvel e estável em água.
- Dose: Dosagem adequada varia de 0,5 a 20 ppm (mg/l), dependendo da especificidade da droga.
- Compostos relacionados: Os mais comuns são: Streptomicina, Sulfato de Neomicina, Sulfato de Kanamicina, Viomicina, Gentamicina e tobramicina.

TETRACICLINAS

- Espectro da atividade: Amplo espectro.
- Modo de ação: Bacteriostático, pela inibição da síntese protéica. Pode penetrar em certas células eucariotes.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Alta. O potencial para o desenvolvimento de resistência cruzada no grupo também é alto.
- Solubilidade na água: Alguns são solúveis em água, porém podem combinar com íons bivalentes e serem quelados.
- Dose: Dosagem adequada varia de 2,0 a 100 ppm (mg/l).
- Compostos relacionados: Oxitetraciclina, Clortetraciclina, Tetraciclina, Metaciclina, Doxiciclina e Minociclina.

NITROFURANOS

- Espectro da atividade: Amplo espectro.
- Modo de ação: Bacteriostático e bactericida, dependendo da dosagem. O mecanismo de ação acredita-se ser através do antagonismo competitivo no metabolismo de carboidrato das bactérias.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Baixo. Não desenvolve resistência cruzada.
- Solubilidade na água: São pobremente solúveis na água e mais ativos em pH baixo (5,5 ou menos).
- Dose: Dosagem adequada varia de 0,5 a 10 ppm (mg/l)
- Compostos relacionados: Nitrofurantoina, Furanace (prefuran), Nitrofurazone (Furacin) e Furazolidone.

ÁCIDO NALIDÍXICO

- Espectro da atividade: Organismos gram-negativos.
- Modo de ação: Mecanismo de ação desconhecido.
- Potencial para o desenvolvimento de resistência bacteriana: Alto. Não desenvolve resistência cruzada com outros compostos antimicrobianos.
- Solubilidade na água: São pobremente solúveis na água.
- Dose: Dosagem adequada varia de 1 a 50 ppm (mg/l).

9.4. PROBIÓTICOS

Um dos fatores mais importantes na produção comercial de camarões peneídeos é a habilidade de se controlar os organismos patogênicos, particularmente as bactérias introduzidas pela água.

Até poucos anos atrás, o controle das populações de patógenos e bactérias indesejadas era feito através de práticas baseadas na exclusão ou eliminação dos patógenos oportunistas, pela aplicação das técnicas já apresentadas de desinfecção ou filtração da água.

Além disso, vários produtos quimioterapêuticos e biocidas eram utilizados indiscriminadamente na tentativa de se controlar tais bactérias, uma prática quase sempre perigosa e que acarreta uma série de efeitos colaterais, incluindo a seleção de bactérias resistentes aos próprios químicos, a presença de resíduos desses químicos na carne dos camarões e poluição ambiental.

Mais recentemente, o uso de probióticos em larviculturas de camarões passou a ser uma técnica amplamente adotada por laboratórios do mundo todo. O princípio é simples: promover o crescimento de bactérias benéficas ou, pelo menos, não patogênicas, para que elas colonizem os tanques de cultivo e não deixem espaço disponível para o crescimento de bactérias prejudiciais aos camarões.

Na verdade, o que se faz é estudar o perfil bacteriano dos cultivos (principalmente das *vibrionáceas*), para verificar o padrão de distribuição das bactérias presentes nos tanques de larvicultura. Isso é feito com técnica de inoculação das bactérias em placa de Ágar TCBS (meio seletivo específico para vibrioses), que permite a observação de quais tipos de colônias são mais ou menos abundantes no sistema. Depois, escolhe-se um dos tipos de bactérias que está presente em pequenas quantidades e que não é patogênica. Essa bactéria passa então por um processo de cultivo semelhante ao adotado na produção de microalgas e de rotíferos, até que se atinjam grandes volumes, que passam a ser inoculados diariamente nos tanques de larvicultura.

Além de competir por espaço com as bactérias patogênicas, as bactérias utilizadas como probióticos podem servir: a) como fonte de alimento para as larvas; b) para melhorar a digestão dos camarões (fornecendo enzimas essenciais); c) para reduzir a carga de matéria orgânica no ambiente de cultivo; d) para produzir e liberar no ambiente substâncias que inibem o crescimento de espécies patogênicas.

9.4.1. Cronograma de Bacteriologia

Os procedimentos envolvidos na inoculação de probióticos são muito semelhantes aos adotados durante a produção de microalgas. As principais etapas do processo e suas respectivas escalas temporais são descritas a seguir e sumarizadas na Figura 32.

- As cepas, que serão utilizadas como probióticos, deverão ser obtidas a partir de inóculos coletados na água do mar (no ponto de captação do laboratório) e na água dos tanques de larvicultura. É importante que as cepas sejam renovadas mensalmente;
- Fazer a cultura bacteriana contida nas amostras de água em placa de Petri em meio TCBS, durante 24 h;
- Separar as colônias amarelas, que são novamente inoculadas em ágar TCBS, para garantir a pureza da cepa;
- Esperar de 12-24 h para que as colônias se desenvolvam;
- Inocular essas colônias em um tubo de ensaio de 10 ml, contendo o meio de cultura de água de peptona tamponada, promovendo uma diluição de 1/10 (uma parte de cepas e 10 partes de meio de cultura);

- Esperar de 4-5 h, sem promover aeração da cultura, em uma temperatura entre 30-32 °C;
- Transferir a cultura para um Erlenmeyer de 1 l contendo meio de cultura de água de peptona tamponada, sem promover aeração da cultura.
- Esperar de 8-12 horas;
- Inocular a cultura em recipiente de 15 l, contendo água de mar (tratada com cloro e filtrada em malha de 0,44µm) e mantê-lo tampado, preferencialmente, já no setor de larvicultura do laboratório, por pelo menos 5 h, em temperatura de 28-33 °C, sob vigorosa aeração e uso de pedra porosa.
- Depois de 5 h, a cultura estará pronta para ser inoculada nos tanques de larvicultura.

Densidade Ideal: Os probióticos só começam a ser utilizados a partir de Z_t . Quando a ocorrência de bactérias é naturalmente elevada, deve-se utilizar 1,5-3,0 l da cultura de probiótico/1.000 l de água de larvicultura. Antes de proceder a inoculação dos probióticos, é importante verificar se o meio de cultura se encontra turvo. Se isso ocorrer, ele deve ser descartado.

É igualmente importante ajustar o volume de incubação, o tempo de cultivo e a densidade de larvas durante o cultivo. A concentração de probióticos na água deve ser de 5×10^7 /l.

Caso se queira ser mais rigoroso em relação à escolha das colônias a serem utilizadas como probióticos, dois procedimentos adicionais podem ser empregados:

- Realizar antibiograma para a identificação de bactérias não resistentes aos diferentes antibióticos;

- Utilizar, nas placas de Petri, o meio de cultura "Sygma Flake Powder™" (que é composto por casca de caranguejo e quitina de camarão purificada), para verificar se existe crescimento das bactérias. Deve-se selecionar justamente aquelas colônias que não apresentam crescimento expressivo.

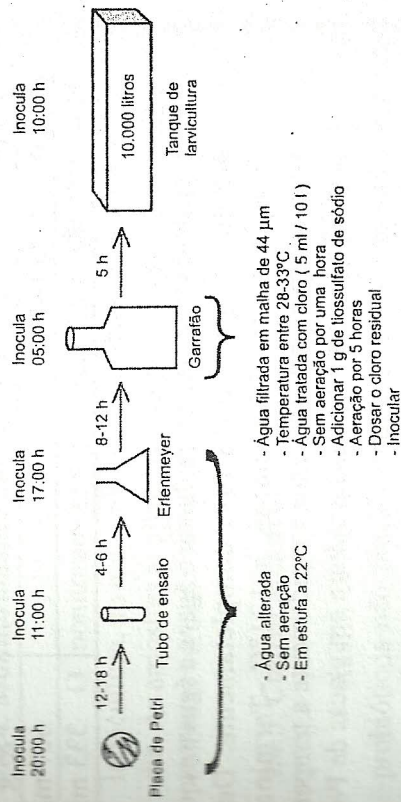


Figura 32. Síntese do processo de obtenção e utilização de probióticos para uso na larvicultura de camarões marinhos.

Deve-se ficar atento, pois o número de colônias verdes presentes na placa de Petri, no início do processo, não deve ser superior a 20-30% do número total de colônias existentes. Caso esse número seja maior, ou em casos extremos, chegar a 100%, certamente esse será um indício de que o tanque está com problemas e que não poderá ser utilizado como fonte de inóculos.

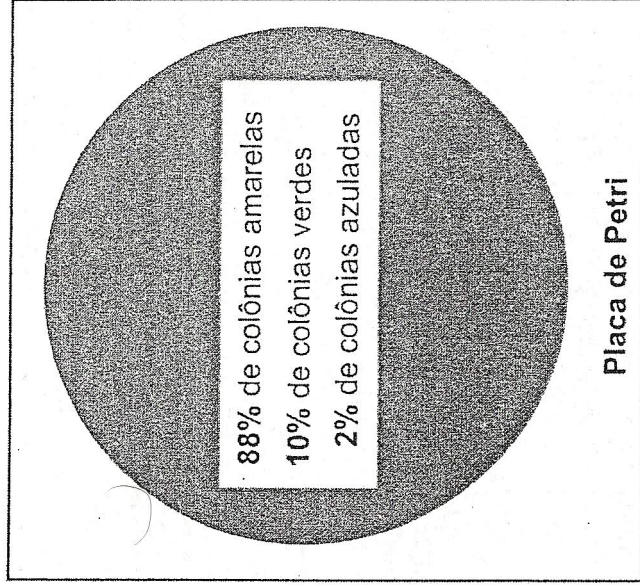


Figura 33. Exemplo de uma cultura ideal para obtenção de inóculos de probióticos.

9.4.2. Meios de Cultura

Ágar TCBS

Produto Químico	Quantidade
Ágar TCBS (marca Difco)	89 g
Água do mar filtrada e autoclavada	333 ml
Água destilada	667 ml

- Preparo do meio de cultura: Esquentar a mistura até ferver. A seguir, reduzir rapidamente a temperatura para 55°C e verter para as placas de Petri. Deixar secar com a placa tampada. Quando atingir o ponto de gelatina, desenformar.

Caldo NFS

(para um volume de 1,5 l em Erlenmeyer).

Produto Químico	Quantidade
Nitrato de Sódio PA	1,5 g
Dihidrogenofosfato de sódio monohidratado	333 ml
Sacarose	15 g
Água do mar filtrada	1000 ml
Água destilada	500 ml

- Preparo do meio de cultura: A água deve ser esterilizada em autoclave, a 121°C, por 15 minutos. Após esse período, a temperatura deve ser rapidamente reduzida para 65°C. Dissolve-se então o nitrato, o fosfato e a sacarose (nessa ordem). A solução deve atingir a temperatura ambiente para poder ser usada.

Ágar "Tryptic Soy"

Produto Químico	Quantidade
Tryptic Soy broth (marca Difco)	30 g
Bacto Ágar (marca Difco)	18 g
Sacarose	15 g
Água do mar filtrada	667 ml
Água destilada	333 ml

- Preparo do meio de cultura: Juntar o ágar e a água e esquentar até que o ágar se dissolva completamente. Depois, autoclavar por 15 minutos, a 121°C. Terminada a autoclavagem, deve-se reduzir rapidamente a temperatura para 55°C e verter o meio de cultura em placas de Petri.

Água de Peptona tamponada

Produto Químico	Quantidade
Água de peptona tamponada (marca Merck)	15 g
Água do mar filtrada	667 ml
Água destilada	333 ml

- Preparo do meio de cultura: Esquentar, até que o ágar se dissolva completamente na água. Depois, autoclavar por 15 minutos, a 121°C. Terminada a autoclavagem, deve-se reduzir rapidamente a temperatura para 55°C.

Importante: As melhores fontes de nutrientes para bactérias marinhas em geral são a peptona e a levedura.

9.4.3. Manutenção das Cepas

A cepa se mantém viável por vários meses à temperatura ambiente. Para isso, deve ser mantida em meio de cultura de ágar de "Tryptic soy", coberto com óleo mineral estéril.

9.4.4. Monitoramento das bactérias

O monitoramento das bactérias presentes nos tanques de larvicultura, no mar e nas placas de Petri deve ser feito uma vez ao dia. As amostras analisadas não devem apresentar mais de 20% de colônias verdes.

9.4.5. Cultivo Massivo

Assim como o cultivo de microalgas, a produção de probióticos não precisa ficar limitada a pequenos volumes. Por exemplo, para se produzir probióticos em escala massiva, pode-se utilizar tanques de 500 l, contendo 400 l de água de mar sem cloro, filtrada em filtro de carvão ativado e filtro cuño de 1 µm. Nesse caso, o meio de cultura recomendado para cultivo massivo é o seguinte:

Meio de cultura para cultivos massivos

Produto Químico	Quantidade
Açúcar (sacarose)	1 kg
Nitrato de sódio (NaNO ₃)	10 kg
Fosfato de sódio (Na ₂ PO ₄)	300 mg

9.5. VACINAS E IMUNOESTIMULANTES

O sistema imunológico de crustáceos é relativamente primitivo, não produz anticorpos e suas respostas imunológicas não são específicas, como são as dos humanos, por exemplo. Isso significa que os crustáceos, dentre eles os camarões, não podem ser "vacinados", segundo a definição tradicional. Entretanto há produtos comerciais, disponíveis tanto para uso durante a larvicultura como na engorda, que estimulam os camarões a desenvolverem resistência a doenças. Na larvicultura, tais produtos podem ser utilizados na forma de imersão, banho ou via bioencapsulação.

Experimentos já realizados indicam que esses produtos estimulam um aumento considerável nas respostas imunológicas não específicas dos camarões, aumentando as taxas finais de crescimento e sobrevivência das pós-larvas. No Brasil, contudo, ainda não há produtos licenciados para esse fim.

10. ASSEPSIA E DESINFECÇÃO

Tabela 13. Produtos comumente utilizados durante a larvicultura

Reservatório (H ₂ O)	Bacteriologia	Larvicultura	Artémia	Algas
Ácido Murático	Ácido Murático	Permanganato de Potássio	Cistos	Nitrato de Sódio
Cloro Líquido	Cloro Líquido	Ácido Murático	Soda Cáustica	Fosfato de Sódio Monobásico
Cloro pó	Tiosulfato de Sódio	EDTA	Cloro	Ferri-sequestre
Tiosulfato de Sódio	TCBS Agar	Frippak 1	w:3	Tris
Soda Cáustica	Peptona	Frippak 2		Cloro de Manganês
Orto-Toluidina	Orto-Toluidina	Frippak 3		Cloro de Cobalto
		Formol		Sulfato de Cobre
		Verde Malaquita		Sulfato de Zinco
		Iodo		Molbdato de Sódio
		Furazolidona		Cloro Fértil
		Cloranfenicol		EDTA
		Carne		Metasilicato de Sódio
		Dieta Líquida		Silicato de Sódio
				Uréia
				Biotina
				Tiamina
				Cianocobalamina
				Orto-Toluidina
				Deterrec-7 (detergente)
				Tiosulfato de Sódio
				Ácido Murático

A assepsia e a desinfecção têm por finalidade a destruição de microorganismos patogênicos (bactérias, protozoários, vírus e vermes) presentes na água, materiais e instalações. Na verdade, todo o fluxo de um laboratório de produção de pós-larvas começa com a eliminação desses microorganismos potencialmente prejudiciais ao processo produtivo, pois utilização de material limpo é fundamental para a qualidade dos resultados.

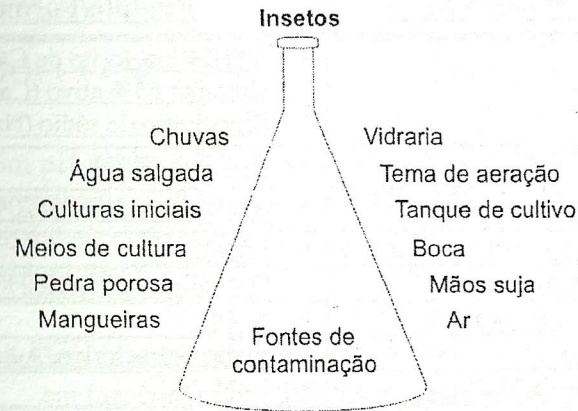


Figura 34. Possíveis fontes de contaminação em cultivos de microalgas.

Existem várias maneiras de se remover ou eliminar tais microorganismos:

- Por morte natural, como ocorre em água armazenada no escuro por um longo tempo, antes ou após tratamento;
- Por ação da radiação ultravioleta, de origem solar ou artificial;
- Por meio de agentes químicos desinfetantes, que podem ser oxidantes, como cloro, cromo, iodo, prata, ozônio e o permanganato de potássio;

- Por processos térmicos, como a ação do calor solar ou do processo de fervura.
- Por mais de uma ação física a um mesmo tempo (coagulação, floculação, sedimentação e filtração);

Neste capítulo, serão apresentadas algumas das técnicas mais utilizadas para desinfecção em laboratórios de cultivo de camarões.

Antes de tudo, é preciso apresentar algumas definições para termos que serão utilizados neste capítulo:

Germicida - é qualquer agente químico que destrói os microorganismos (germes), pode ser um anti-séptico ou um desinfetante.

Anti-séptico - Substância química que impede a atividade ou a multiplicação dos microorganismos e que é suficientemente não tóxico para ser aplicado sobre a pele ou mucosas, embora não ofereça segurança para o uso ou aplicação interna.

Desinfetante - Agente que destrói ou inativa uma substância ou organismos patogênicos. Em um laboratório, os desinfetantes são normalmente utilizados para reduzir a carga microbiana existente sobre objetos.

10.1. EFICIÊNCIA DA DESINFECÇÃO

Os seguintes fatores interferem na desinfecção:

- Espécie, concentração, condição e capacidade de resistência dos microorganismos a serem destruídos;
- tipo e concentração do desinfetante;
- tipo e concentração dos elementos provenientes da reação do desinfetante com a água;
- tempo de contato do desinfetante com a água;
- características químicas e temperatura ambiente.

10.2. QUANTO À CAPACIDADE DE RESISTÊNCIA DOS MICROORGANISMOS

- os microorganismos esporulados são mais resistentes que os não esporulados;
- os cistos são geralmente muito resistentes;
- os vírus têm resistência pouco conhecida;
- as bactérias do grupo *E. coli* são pouco mais resistentes que os patogênicos, por esse motivo são geralmente empregadas como indicadores de contaminação. Ou seja, os coliformes não são propriamente danosos aos camarões, mas são indicadores da presença de poluentes que, por sua vez, podem ser bastante prejudiciais.

Em condições ideais, todas as células de uma mesma espécie de organismos são igualmente suscetíveis a um tipo de desinfetante, porém, sob determinadas condições, nunca dois desinfetantes diferentes apresentam a mesma eficiência.

Para que se obtenha uma boa eficiência, é necessário que as

células e o desinfetante permaneçam com concentrações constantes durante o tempo de contato e, no caso específico da água, ela não deve possuir substâncias que interfiram no processo de reação.

Tabela 14. Principais químicos utilizados no processo de desinfecção

<u>Princípio Ativo</u>	<u>Produto/Fórmula</u>
<u>Cloro</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>HTH, Hipoclorito de Cálcio - Granular 65% ativo (Ca(OCl)₂)</u> ▪ <u>Hipoclorito de sódio (NaOCl)</u>
<u>Iodo</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Povidine (10%)</u>
<u>Álcool</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Álcool isopropílico (70%)</u>
<u>Permanganato de potássio</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>KMnO₄</u>
<u>Formaldeído</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Formalina a 37%(HCHO)</u>
<u>Soda Cáustica</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>NaOH</u>
<u>Ácido</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Ácido hidrocloreto, Ácido clorídrico</u>
<u>Verde de Malaquita</u>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>C₂₃H₂₅N₂Cl</u>

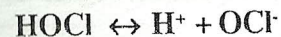
Estes e outros compostos têm funções de desinfecção, mas são utilizados, seqüencialmente ou combinados, para diminuir o risco de contaminação em laboratório.

10.3. CLORO

O cloro é um dos mais utilizados e eficientes desinfetantes, tanto para a água quanto para os recipientes, porém deve ser utilizado em concentrações diferentes, segundo o objeto a ser desinfetado.

O cloro é um radical que perde elétrons e começa a oxidar-se, portanto ele atua como um agente redutor.

O agente desinfetante é o ácido hipocloroso (HOCl). Esse composto tem relativa facilidade de penetrar na parede celular. Apresenta um tamanho pequeno e uma carga elétrica neutra, além de se difundir passivamente para o interior das células dos microorganismos. Outro fator de importância é o pH, que, dependendo do seu valor, facilita a dissociação do ácido hipocloroso (HOCl) nos íons H^+ e OCl^- . Contudo, o OCl^- apresenta um baixo poder desinfetante, devido a sua carga elétrica negativa.



Em pH ácido, o equilíbrio é deslocado para a esquerda e, assim, as concentrações de HOCl são maiores. Em pH alcalino, o equilíbrio é deslocado para a direita e o resultado é o aumento das concentrações de OCl^- , diminuindo o poder desinfetante do cloro.

Tabela 15. Grau de eficiência (em %) do cloro como agente germicida, em função do pH e da temperatura da água.

pH	Temperatura (°C)	
	0	20
4,0	100%	100%
5,0	100%	99,7%
6,0	98,2%	96,8
7,0	83,3%	75,2%
7,5	61,2%	48,9

Deve-se levar em consideração que algumas espécies de fungos (esporos) são resistentes a uma concentração de até 500 ppm de cloro e, como os efeitos do cloro são potencializados em

pH ácido, o ideal é que o pH da solução desinfetante seja reduzido.

Como ponto negativo do uso de cloro, ressalta-se que a reação entre ele e alguns compostos nitrogenados presentes na água produz cloraminas (substâncias bastante tóxicas para os camarões).

10.3.1. Preparação da solução desinfetante ácida

Nunca se deve misturar ácido diretamente ao cloro, pois essa reação química produz gases altamente tóxicos. O procedimento correto é, em um balde com capacidade para cerca de 12 litros, diluir 2 kg de cloro em 8 l de água e só aí adicionar ácido muriático para baixar o pH da solução de cloro.

10.3.2. O uso da solução desinfetante¹¹

Para desinfecção de equipamentos e instrumentos no laboratório, deve-se deixá-los em uma solução de cloro de 200 ppm por 1 hora. Mas é importante primeiro lavar toda a estrutura com uma solução fraca de ácido e secá-la antes de se utilizar a solução de cloro. Isso porque a matéria orgânica eventualmente presente nesses recipientes reagiria com o cloro, reduzindo o seu poder de ação.

Para desinfecção da água: é necessário clorá-la, utilizando concentrações de até 10 ppm.

11. Neste capítulo, nos casos em que não for especificada uma concentração de cloro a ser utilizada em um determinado processo de limpeza de materiais e equipamentos, deve-se assumir que está sendo recomendado o uso de soluções comerciais, que possuem, em média, cerca de 5,25% de hipoclorito de sódio.

10.3.3. Eliminação dos excessos de cloro

Da mesma forma que elimina os microorganismos, os excessos de cloro livre podem provocar a morte de larvas e até mesmo de reprodutores de camarões. Por isso, após a desinfecção da água, os resíduos de cloro deverão ser neutralizados, antes que os organismos cultivados entrem contato com ela.

Há várias formas de se realizar essa neutralização. Pode-se utilizar, por exemplo, ácido ascórbico (vitamina C). A vitamina C neutraliza tanto o cloro (Cl_2) quanto as cloraminas. A quantidade de vitamina C que deve ser utilizada é de 10% da quantidade total de Cl_2 disponível (o cloro residual presente na água pode ser medido com um simples dosador colorimétrico de cloro em piscinas). Esse, no entanto, é um método muito caro e pouco prático.

A neutralização do cloro residual livre também pode ser feita com tiosulfato de sódio (mesmo produto utilizado como eliminador de cloro de água de aquários). Porém, o sódio tetrionato, composto formado pela neutralização do cloro pelo tiosulfato de sódio, pode, em altas concentrações, ser tóxico para as larvas de *L. vannamei*. Por isso, a água clorada deve passar por um período de 9 horas de aeração contínua e depois por um período de 3 horas de neutralização.

O tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) é o produto recomendado para eliminação do cloro residual presente na água. A concentração de tiosulfato usualmente utilizada é de 1N e deve ser preparada diluindo-se 250 g de tiosulfato de sódio em 1 litro de água destilada. De uma maneira geral, deve-se utilizar 1 ml da solução de tiosulfato para neutralizar o equivalente a 4 ml de uma solução comercial de hipoclorito de sódio com concentração de 5,25%.

10.4. ÁLCOOL

O álcool isopropílico ou etanol (70%) lesiona a membrana celular dos microorganismos e desnatura as proteínas celulares. Além disso, desorganiza toda a estrutura fosfolipídica das células. Contudo, não destrói esporos e tem uma ação germicida lenta.

Suas grandes vantagens são a facilidade de aplicação, o baixo custo e sua fácil obtenção em qualquer região do país.

10.5. IODO

É um agente oxidante que modifica e inativa grupos funcionais de proteínas, ácidos nucleicos e de enzimas. Pode ser efetivo inclusive contra esporos, desde que seja utilizado em altas concentrações (1.600 ppm de iodo livre).

Utiliza-se a solução de iodo (iodo Povidine) como medida de desinfecção direta de toda a flora microbiana que acompanha os camarões, segundo a Tabela 16.

Também pode ser utilizado para a desinfecção das mãos durante os trabalhos no laboratório. Para isso, deve-se primeiro lavar as mãos em água e depois colocar cerca de 5 ml de Povidine (solução a 10%), esfregar bem e então enxaguar com água potável.

Tabela 16. Desinfecção de ovos e estádios larvais de camarões com iodo

Estádio	Concentração de Iodo	Tempo
Ovo	15 - 20 ppm (0,1 - 0,2/10 l)	por 15 minutos
Náuplio e Protozoéa	100 ppm (1ml/10 l)	por 30 minutos
Misis	100 ppm (1ml/10 l)	por 1 hora
Pós-larva	200 ppm (2ml/10 l)	por 1 hora

10.6. FORMOL (FORMALINA A 37% - HCHO)

O formol é um bom germicida. Tem a capacidade de desidratar as células e o seu baixo pH destrói as proteínas celulares, provocando a sua morte. Contudo, costuma apresentar perda de eficiência em várias situações. Por exemplo, isso pode acontecer ao reagir com sais dissolvidos presentes em águas com salinidades elevadas.

Também não se recomenda sua utilização quando há muita matéria orgânica em suspensão, devido à facilidade de produção de compostos tóxicos, podendo, além disso, tornar-se completamente inativo.

A formalina contém de 0 a 15% de metanol. O metanol atua como um preservativo para retardar a formação de paraformaldeído, que é mais tóxico que a própria formalina. Normalmente, a formalina é um líquido claro, mas, quando há precipitados ou a solução se torna muito turva, significa que há formação de paraformol.

Em temperaturas superiores a 21°C, sua toxicidade aumenta. Por isso, é importante aplicá-la em ambientes arejados.

Na água, a formalina apresenta a peculiaridade de causar o consumo químico de oxigênio, em uma taxa de 1 ppm de O₂ para cada 5 ppm de formalina. Funciona também como um algicida.

Observação: Como a densidade do formol não é a mesma da água, mas sim maior, sempre que uma recomendação de uso de formalina for expressa em ppm, deve-se dividir a dose recomendada por 1,08, para correção dessa diferença de densidade.

10.7. PERMANGANATO DE POTÁSSIO EM PÓ (KMnPO₄)

Seu efeito oxidativo se torna menos acentuado em pH alcalino. Pode ser utilizado para limpeza do sistema de distribuição de ar. Nesse caso, deve-se utilizar 17,5g de permanganato de potássio, acrescidos de 35 ml de formol (a 37%). Retira-se todo o pessoal das salas, coloca-se a mistura de produtos químicos em um recipiente próximo ao filtro de sucção do soprador de ar. O soprador deverá funcionar durante 3 horas promovendo a circulação dos vapores emanados da reação química por toda a tubulação de ar. Depois, retira-se o recipiente e deixa-se o soprador funcionando por mais 30 minutos, até que os vapores se dissipem por completo.

Para que o sistema de ar funcione sem riscos, é importante manter sempre a linha de ar seca.

Cuidado: a mistura do permanganato de potássio com o formol provoca a liberação de gás formaldeído, que é bastante tóxico. Por isso, apesar deste ser um eficiente método de desinfecção do sistema de aeração, deve ser aplicado com cautela, uso de máscara de gás e o aplicador deve ficar o menor tempo possível no local da aplicação.

10.8. ÁCIDO MURIÁTICO (ÁCIDO HIDROCLÓRICO)

É utilizado na desinfecção e remoção de sujeiras dos tanques de cultivo, numa diluição de 15% - 25% (150 - 250 ml de ácido em 750-850 ml de água). A solução de ácido muriático deve ser utilizada diretamente sobre as superfícies, deixando descansar por uma hora.

Para a desinfecção de tubos ou canos plásticos, pedras porosas, garrações e ou vidrarias de forma geral, lavar com ácido muriático (25%) duas vezes, passar de manhã e enxaguar à tarde. Depois enxaguar com água fervida ou destilada. Quando estiverem muito contaminados, deve-se enxaguá-los em numa solução de cloro (1 l : 123 g cloro). Nesse caso, é necessário deixar o vasilhame com essa solução durante 12 horas. Depois, enxaguar lavar com ácido, enxaguar novamente com água corrente e em seguida com água fervida ou destilada.

10.9. SODA CÁUSTICA (NAOH)

Apresenta grande capacidade de provocar a elevação do pH. Por isso pode ser utilizada de forma combinada com a solução ácida de cloro na desinfecção de instrumentos e vidraria. Depois de se utilizar a solução de cloro (que apresenta pH por volta de 3,0) durante dois dias, pode-se utilizar a soda cáustica, também por dois dias, em uma concentração de 300 ppm.

10.10. VERDE DE MALAQUITA - ARYLMETANO DYE

A utilização de verde de malaquita ($C_{23}H_{25}N_2Cl$) é uma das melhores e também uma das mais perigosas formas para terapia disponíveis na carcinicultura. Se, por um lado, o produto tem forte poder fungicida e parasiticida, por outro, é um produto cancerígeno e pode causar danos ambientais, caso seja utilizado indiscriminadamente.

O verde de malaquita atua ao nível celular, impedindo que as células produzam energia, o que acaba levando-as à morte.

Se, para a obtenção de uma solução de verde de malaquita, for utilizada uma água alcalina, o princípio ativo perde rapidamente o seu poder de ação. Nessas condições, a solução muda de cor, passando de um verde ativo para um verde mais pálido e relativamente insolúvel, na forma de Carbinol. Portanto o produto deve ser preparado com água com pH ácido.

Tabela 17. Percentagem de eficiência do verde de malaquita como agente anti-séptico, em função do pH da água

pH	% de Eficiência
4,0	100
6,9	50
7,4	25
10,1	0

10.11. ASSEPSIA E DESINFECÇÃO

10.11.1. Sistema de água

Para assepsia do sistema de água, pode-se utilizar cloro, na forma de hipoclorito de sódio (concentração de 5 a 12%), seguido de forte aeração, durante 5 horas. Após esse período, deve-se medir, com auxílio de um kit de testes para água de piscina, a concentração de cloro residual na água. Essa concentração deve ficar abaixo do limite mínimo de detecção do kit. Caso se identifique algum resíduo de cloro, o mesmo deve ser neutralizado com tiosulfato de sódio em uma relação 1:1.

10.11.2. Sala de cepas

O piso deve ser limpo com um pano umedecido em hipoclorito de sódio (solução comercial). As mesas e bancadas devem ser limpas com álcool. Toda a vidraria a ser utilizada deverá passar pela esterilização antes de sua transferência para a sala de cepas.

10.11.3 Sistema de Algas

A preparação da água para cultivo de microalgas em volumes de até 20 l deve estar submetida ao mesmo protocolo de recomendações que os estabelecidos anteriormente para a água de cultivo além de um cuidado adicional. Nesse caso, a água deverá também ser purificada em um filtro de elemento que filtre até $0,44\mu\text{m}$. Normalmente, isso deve ser feito com o auxílio de uma bomba de vácuo. Para volumes maiores que 20 l e como medida de

segurança, deve-se reforçar a cloração da água com 96 g de cloro HTH (cloro granulado ou em pó, utilizado em piscinas) para cada litro de água do mar. Depois, a água deve ser mantida por cerca de 12 horas, sem qualquer aeração. Ao final desse período, aplica-se 30 g de tiosulfato de sódio por litro de água, com forte aeração. Somente após 8 horas é que a água poderá ser utilizada nos cultivos algais.

10.11.4. Limpeza de tanques e de instrumentos

Limpeza dos tanques (maturação, desova, eclosão e larvicultura): Lavá-los com água corrente. Escovar a superfície dos tanques com uma solução de 300 ppm de cloro, com pH reduzido para 4 -5. Caso esse procedimento não seja suficiente, pode-se encher os tanques com água doce e utilizar 300 ppm de cloro com pH reduzido durante 24 h ou uma solução com soda cáustica a 300 ppm, também por 24 h. Depois, deve-se enxaguá-los com água corrente e deixar que se sequem.

Vidraria em geral: Lavar com ácido muriático ou ácido clorídrico, em uma concentração de 25% (adiciona-se 750 ml de água e, só depois, 250 ml de ácido, para preparar uma solução nessa concentração). Toda a vidraria deve ser lavada por duas vezes seguidas; na segunda vez, deve-se deixar todo o material a ser limpo de molho por, pelo menos, 6 horas. Depois, o material deve ser enxaguado com água salgada e, a seguir, com água destilada ou fervida.

Se houver a desconfiança de que os recipientes de cultivo estejam contaminados, deve-se deixá-los de molho em uma solução de cloro (123 g de hipoclorito de cálcio para 1 l de água doce) de 6

a 12 horas. Depois sucessivamente, devem ser enxaguados com água de torneira, lavados com ácido diluído a 25% enxaguados com água destilada ou fervida.

Outra forma de limpeza de vidrarias é através do uso de ácido clorídrico a 50% ou nítrico a 30%, seguido de uma lavagem exaustiva com água de torneira e água destilada.

Lâminas e Lamínulas: Devem ser deixadas em ácido muriático puro por cerca de 10 minutos. Depois, devem ser enxaguadas em água corrente e mantidas em álcool a 95°GL.

Garrações: Caso os garrações não estejam contaminados, pode-se utilizar 13 ml da solução de cloro para cada garração. Depois, os mesmos devem ser enchidos com água salgada e mantidos assim por cerca de 5 horas. Após esse período, enxáguam-se os garrações com água doce, com uma solução de 2l de ácido muriático a 25% e, a seguir, com água fervida ou destilada. Só então os garrações estarão prontos para o uso. Caso estejam contaminados, o procedimento de limpeza deve seguir o mesmo padrão já descrito para as demais vidrarias.

Filtros do tipo bolsa: Deixar em solução de ácido muriático a 15% por todo o período noturno. No dia seguinte, enxaguar com água doce e, posteriormente, com água fervida ou destilada.

Pedra Porosa: Eliminar o excesso de algas, utilizando o próprio sistema de aeração. Lavar com água doce e deixar de molho em uma solução comercial de cloro por 24 horas. Enxaguar com água doce e utilizar o próprio sistema de aeração para eliminar os excessos de cloro.

10.11.5 *Eliminação de microalgas*

A proliferação indiscriminada de microalgas na água utilizada no laboratório pode se transformar em um problema para a larvicultura de camarões marinhos, por isso deve ser controlada.

Esse controle pode ser feito utilizando-se de um dos seguintes métodos:

- dióxido de germanicum, em uma concentração de 6 mg/l;
- hipoclorito de sódio (NaOCl). Dois possíveis tratamentos podem ser adotados: 1)utilizar 3 gotas de hipoclorito de sódio (concentração de 80%) para cada 5 l de cultura (o hipoclorito deve ser colocado aos poucos); 2)adicionar hipoclorito de sódio em concentração de 70 ppm (esse segundo tratamento elimina tanto as algas verde-azuladas como os protozoários);
- telurito de potássio, em concentração de 100 ppm (esse tratamento também pode ser utilizado em cultivos com um alto grau de infestação por bactérias).

10.11.6 *Sistema de Ar*

Utilizar os procedimentos apresentados no item 10.7

12. ARTÊMIA

Também conhecido como “camarão de salmoura” e internacionalmente como “Brine Shrimp” a artêmia é um dos organismos-alimento mais utilizados no mundo todo. Como também é um crustáceo, a artêmia é um excelente alimento para o camarão, qualquer que seja sua fase de vida.

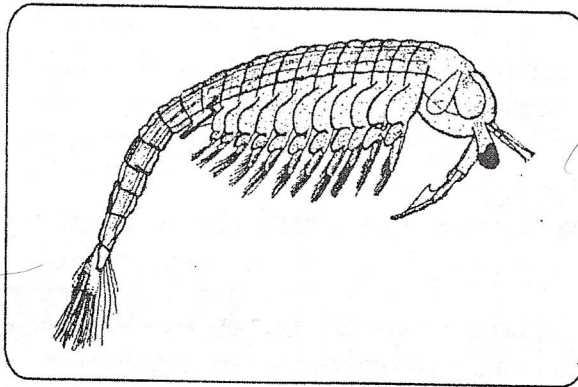


Figura 38. Artêmia adulta (macho)

Sua classificação sistemática é a seguinte:

Filo	Arthropoda
Classe	Crustacea
Subclasse	Branchiopoda
Ordem	Anostraca
Família	Artemidae
Gênero	Artemia

12.1. ESTÁDIOS DE VIDA

A artêmia apresenta quatro estádios de desenvolvimento: náuplio, metanáuplio, pré-adulto e adulto e pode viver por mais de 4 meses.

- **Náuplio:** é a larva recém- eclodida. Caracteriza-se por possuir elevadas quantidades de reservas vitelinas (lipídios e carboidratos) e por não apresentar segmentos no corpo. Assim que eclode, a larva é muito rica em vitelo, apresentando uma forte coloração alaranjada. O estágio de náuplio é dividido em dois subestágios: Náuplio 1 (com duração de cerca de 8 horas), e Náuplio 2 (com duração de 15 a 20 horas). A diferença entre ambos é que o trato digestivo do segundo já está totalmente formado, enquanto o primeiro ainda não possui boca e ânus formados, não podendo, portanto, alimentar-se.
- **Metanáuplio:** Nesse estágio, o corpo da larva apresenta-se bastante segmentado. O vitelo já foi consumido e a larva depende de alimento externo para sobreviver.
- **Pré-adulto:** O corpo apresenta 11 segmentos e as antenas sofrem modificações que possibilitam identificar o sexo do animal. Nos machos, as antenas ficam maiores e mais fortes, adaptando-se para abraçar a fêmea durante a cópula. Nas fêmeas, as antenas são bem menores e adquirem o formato de folha. Entretanto, os animais ainda não são maduros nesse estágio.
- **Adulto:** O dimorfismo sexual é facilmente perceptível e os animais são capazes de se reproduzir. Para a cópula, o macho se agarra à fêmea e ambos passam a nadar juntos.

12.2. REPRODUÇÃO

Há duas "rotas" reprodutivas. Em condições normais, de baixa salinidade e elevada abundância de alimentos, os animais são ovovivíparos, isto é, as fêmeas incubam internamente os ovos e geram náuplios. Porém, se as condições ambientais se tornam, por qualquer motivo, demasiadamente estressantes, os animais adotam um modelo de reprodução ovíparo, isto é, produzem cistos de resistência. Uma fêmea adulta pode produzir mais de 300 cistos/náuplios a cada cinco dias, durante um mês. Além disso, o náuplio chega ao estágio adulto em menos de 30 dias, o que confere uma imensa capacidade reprodutiva a esse tipo de animal.

12.3. TOLERÂNCIA AMBIENTAL

Determinadas espécies de artêmias crescem bem em águas com até 40°C de temperatura e 120 ppmil de salinidade e suportam valores de -18 °C e 340 ppmil. Raríssimos são os animais que conseguem viver em condições tão extremas.

Apesar dessa resistência, os melhores resultados em termos de crescimento são obtidos nas condições ambientais demonstradas na Tabela 19.

Tabela 19. Limites ideais de variação das principais variáveis ambientais envolvidas na eclosão dos cistos e no crescimento de artêmias.

Variável	Limites Ideais
Salinidade	30 - 35 ppmil
Temperatura	25 - 30 °C
Oxigênio dissolvido	> 1,5 mg/l
Intensidade luminosa	2.000 - 3.000 lux
pH	8,0 - 9,0
Amônia gasosa	Não é limitante

12.3.1. Cistos - Morfologia

O cisto possui três camadas distintas:

- Córior - é a camada mais externa do cisto. Tem como função proteger o embrião contra impactos mecânicos e contra os raios ultravioleta do sol. Além disso, como é bastante compacto, permite ao cisto flutuar.
- Membrana cuticular externa - funciona como um filtro seletivo, permitindo apenas a passagem de moléculas muito pequenas e impedindo a passagem de moléculas maiores.
- Cutícula embrionária - é uma película muito fina e transparente, que separa o embrião das demais camadas. Essa camada protege o náuplio no momento da sua eclosão.

12.3.2. Cistos - Avaliação da qualidade

Os cistos de artêmia são um produto bastante caro e de fundamental importância na larvicultura de camarões marinhos. Sendo assim, é indispensável que se avalie criteriosamente a qualidade do produto que será utilizado no laboratório.

Quando desidratados, os cistos se parecem com bolinha de "ping-pong" amassadas. Quase sempre, a cor dos cistos serve de indício da sua qualidade. Cistos escuros são geralmente os armazenados corretamente e por isso apresentam boa qualidade. Cistos mais claros costumam ser mais antigos ou foram armazenados inadequadamente. No entanto, esse é um critério subjetivo e sujeito a erros. Mas existem vários métodos mais adequados de se medir a qualidade dos cistos:

- Através da eficiência (percentagem) de eclosão;
- Em termos de tempo que os náuplios levam para eclodir. Nesse caso, pode-se avaliar o tempo necessário para o aparecimento das primeiras larvas, de 10, 50 ou 90% dos náuplios de um determinado lote.
- Através da avaliação da quantidade de náuplios gerados por grama de cistos. Cistos de boa qualidade costumam render mais de 300.000 náuplios/grama.

12.3.3. Descapsulação

Muitas vezes, os cistos carregam esporos de bactérias, fungos e plantas, que podem provocar problemas para a larvicultura dos camarões. Por isso o ideal é que essa membrana seja quimicamente eliminada, em um processo chamado de

descapsulação, antes dos cistos serem levados à eclosão. Além de possibilitar a desinfecção dos cistos, a descapsulação:

- Facilita a separação dos náuplios após a eclosão;
- Facilita a ingestão e digestão dos náuplios de artêmia por parte dos camarões;
- Elimina bactérias e outros contaminantes presentes nos cistos;
- Facilita a armazenagem dos cistos na geladeira, para uso posterior;
- Aumenta a taxa final de eclosão dos náuplios de artêmia.

Basicamente, a descapsulação é feita em três etapas, envolvendo a) a hidratação, b) a oxidação do córion, c) a sua lavagem. Quatro diferentes procedimentos metodológicos podem ser adotados para a descapsulação:

Observação: É muito importante que a solução de descapsulação se mantenha gelada, a temperatura não deve exceder 37° C (deve-se mantê-la na geladeira até o seu uso). Deve-se utilizar hidróxido de sódio (NaOH) para neutralizar o hipoclorito de sódio e soda cáustica (Na₂CO₃) para neutralizar o hipoclorito de cálcio.

PROCEDIMENTO 1

A descapsulação é feita colocando os cistos em um recipiente em formato cilindro-cônico, contendo água do mar filtrada, a 20 °C e submetido a um intenso e constante regime de aeração. A proporção recomendada de cistos durante a hidratação é de 1 g de cistos para 30 ml de água.

Os cistos são mantidos nessas condições por aproximadamente 60-90 minutos. Após esse período, é adicionado um igual volume de uma solução de hipoclorito de sódio entre 5,3 e 12% de ingrediente ativo, por 10 minutos. Findo esse período, o córion é oxidado pelo hipoclorito de sódio, que remove a camada de lipoproteína e de hematina do córion.

Esse processo pode ser constatado pela mudança de coloração dos cistos ao longo da descapsulação. No início, devido à presença do córion, os cistos são de uma tonalidade marrom-escura. No final, com a eliminação do córion, torna-se alaranjado, em função do vitelo presente nos ovos.

Os ovos devem ser filtrados em malha de 100-125 μm e então lavados várias vezes em água corrente para a completa eliminação dos resíduos de cloro. É necessário que não reste o menor odor de cloro ao final da lavagem. Nessas condições, os ovos podem ser transferidos para os tanques de eclosão ou podem ser desidratados em solução hipersalina (300%) e posteriormente colocados na geladeira (-4° C) por um período de 8 semanas.

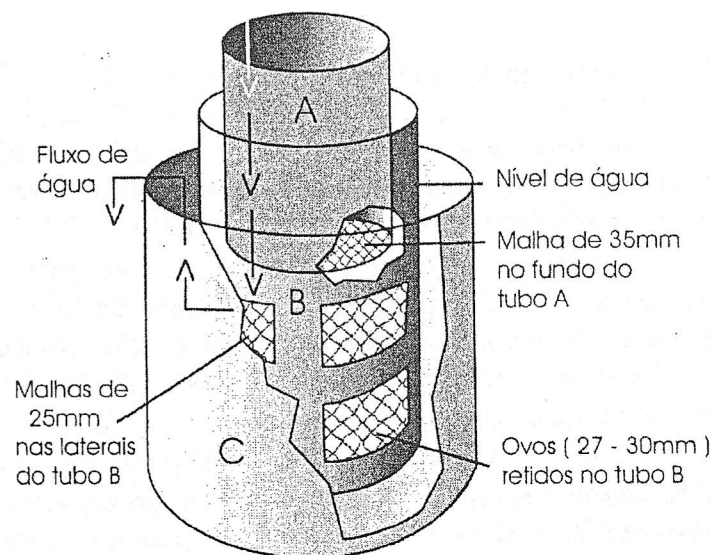


Figura 39. Sistema composto por três tubos, utilizado para lavagem de ovos de camarões marinhos. A tela no fundo do tubo A retém a espuma e resíduos, mas permite a passagem de ovos, que ficam retidos no tubo B. O tubo C tem a função de manter os ovos sempre imersos em água, não permitindo que eles sejam pressionados contra as telas do tubo B.

PROCEDIMENTO 2

Nesse procedimento, a descapsulação é feita com cloro para piscina (hipoclorito de cálcio = CaOCl) e acelerada pelo uso de uma solução tampão de carbonato de sódio¹² (Na_2CO_3).

12. Além do carbonato de sódio, pode-se também utilizar o bicarbonato de sódio (NaHCO_3)

Primeiramente, devem ser preparadas as duas soluções: a solução de cloro e a solução tampão. Para a solução de cloro deve-se utilizar 0,70 g de hipoclorito de cálcio por grama de cistos. A solução tampão deve ser preparada adicionando-se 0,68 g de Na_2CO_3 em 13,5 ml de água, para cada grama de cistos.

Inicialmente, divide-se a água a ser utilizada na descapsulação em duas partes. Em uma delas se dissolve o cloro e na outra o hipoclorito de cálcio. Depois, as duas soluções são misturadas e só então os cistos já hidratados são adicionados à nova solução.

A descapsulação deve ser feita sob aeração constante para minimizar a formação de espuma e para dissipar o calor liberado pelas reações químicas que dissolverão o córion. A coloração dos cistos passará gradualmente de marrom para cinza, branco e finalmente para alaranjada. O tempo necessário para que essa reação ocorra é de aproximadamente 2 a 4 minutos.

PROCEDIMENTO 3

Nesse terceiro procedimento, a descapsulação pode ser feita tanto com cloro para piscina (hipoclorito de cálcio = CaOCl), como com hipoclorito de sódio com concentração entre 5,3 e 12% de ingrediente ativo. A quantidade a ser utilizada é a mesma descrita anteriormente. Neste caso, a reação de descapsulação será acelerada pelo uso de hidróxido de sódio (NaOH).

Como pré-requisito para descapsulação, os cistos deverão ser colocados em uma solução pré-resfriada a 4°C , com um pH 10, obtido pela adição de 0,33 ml de hidróxido de sódio (NaOH) e 4,7 ml de água do mar por grama de cistos.

Adiciona-se então 10 ml da solução de cloro na solução, para que o processo de descapsulação ocorra. A reação resultante é bastante exotérmica, isso é, libera calor. Contudo, é importante manter os cistos em temperatura inferior a 35°C . É por isso que se recomenda que a solução seja previamente resfriada, evitando-se, assim, que a mesma se aqueça além do desejado durante a descapsulação. Caso seja necessário, a temperatura poderá ser controlada com o uso de gelo, diretamente na solução.

PROCEDIMENTO 4

Neste quarto procedimento, utilizamos principalmente hipoclorito de sódio ativo, 15% (NaOCl) para 500g de cistos:

1,6 litro - NaOCl .

75g - NaOH (Hidróxido de Sódio).

5,25 litros - Água do mar

Dissolver o hidróxido de sódio em 5,25 litros de água do mar e permitir que esta reação exotérmica esfrie.

Adicionar o hipoclorito quando for começar o processo de descapsulação; uma vez preparado, misturar o NaOCl com a água e com a solução de hidróxido de sódio (nesta ordem), agitando os cistos e observando a mudança de cor da solução, de café a cinza, a branco, a alaranjado. Se todos os químicos estiverem dentro do prazo de validade e forem armazenados corretamente, este processo levará de $1\frac{1}{2}$ a 2 minutos. Uma vez que a cor se transforma em alaranjado, deve-se lavar os cistos em uma malha de $100\mu\text{m}$.

12.3.4. Congelamento

Caso seja necessário, os cistos descapsulados podem ser congelados por um período de até 72 horas. A técnica é simples:

- Transferem-se os cistos descapsulados para sacos plásticos contendo água doce;
- Adiciona-se glicerina (criopreservante), em uma proporção de 5% do volume de água;
- Congela-se.

Se houver a necessidade de preservá-los por mais tempo, o processo é outro, pois os cistos precisarão ser desidratados:

- Transferem-se os cistos descapsulados para um recipiente contendo água saturada com sal (330 g de NaCl/l). Deve-se utilizar 1 g de cistos para 10 ml de água.
- Promove-se a aeração contínua dos cistos por 15-18 horas. Como os cistos perderão água, a solução salina se tornará menos concentrada. Por isso é preciso adicionar periodicamente mais sal ao recipiente ou então transferir, a cada 7-8 horas, os cistos para outro recipiente contendo água com concentração salina de 330 g/l.
- Depois de 18 horas, os cistos só terão 16-20% do volume celular de água que continham inicialmente. Nessas condições, deverão ser transferidos para um recipiente, que deve ser selado e armazenado em freezer ou congelador. Essa técnica permite o armazenamento dos cistos descapsulados por alguns meses.

12.3.5. Eclosão

A eclosão deve ser realizada preferencialmente em tanques cilindro-cônicos, o que facilitará bastante a concentração dos náuplios de artêmia logo após a sua eclosão. Tais tanques devem ser translúcidos ou brancos. Usualmente, esses tanques são construídos com fibra de vidro.

A salinidade da água deve estar por volta de 22-25 ppmil e devem ser utilizados aproximadamente 2,0 g de cistos para cada litro de água contida nos tanques de eclosão.

O mecanismo fisiológico da eclosão é disparado na presença de luz. Portanto, após a transferência dos cistos para os tanques de eclosão, deve-se colocar uma lâmpada potente por tanque, de modo que o feixe de luz esteja direcionado para dentro do mesmo.

Todos os cistos (ou ovos, dependendo do caso) devem ser mantidos em suspensão por uma forte aeração.

A eclosão ocorre entre 18 e 30 h, dependendo da qualidade, marca e tipo da artêmia utilizada. Após esse período, deve-se desligar o ar, tapar os tanques, de modo que não entre luminosidade pela sua parte superior e esperar por cinco minutos.

Nesse período, os náuplios, que possuem fototaxia positiva, isto é, buscam a luz, nadam todos para a zona transparente do tanque. Já os resíduos de córion irão se concentrar na parte superior do tanque e os cistos não desenvolvidos, por serem mais pesados, tendem a se concentrar no fundo. Assim, drenando os tanques pelo fundo, pode-se desprezar a porção inicial, onde estão os cistos não desenvolvidos e depois concentrar os náuplios por meio de uma tela. Pelo mesmo mecanismo, os resíduos (cascas) podem ser desprezados. Repetir o procedimento em água doce, retirando os náuplios pelo fundo, uma vez que os ovos não eclodidos flutuarão

na água doce. Para terminar, os náuplios capturados devem ser lavados em água salgada.

Em geral, 1 g de cistos produz de 200.000 a 300.000 náuplios, dependendo da origem e da qualidade dos cistos utilizados.

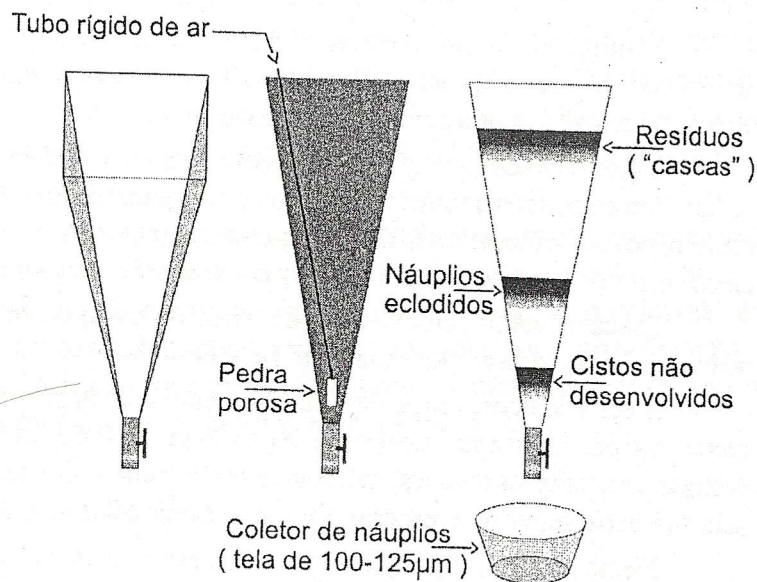


Figura 40. Sistema de eclosão e coleta de náuplios de artêmia.

12.3.6. Bioencapsulação

Assim como o rotífero, a composição bioquímica da artêmia reflete aquilo que ela come¹³. Assim, ambos podem ser enriquecidos com ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas, antibióticos. Depois, quando esses organismos forem ingeridos pelas larvas dos camarões, eles irão transferir tais compostos para os camarões, em um processo conhecido como bioencapsulação.

A seguir, são apresentadas duas formas de se promover isso:

- Pode-se transferir de volta os náuplios já lavados para os tanques de eclosão (que também deverão passar por uma limpeza rigorosa antes de serem utilizados novamente). Depois, adiciona-se 0,2 ml/l de óleo de peixe refinado na água e, após um período de 16 - 20 horas, eles estarão prontos para serem utilizados na larvicultura.
- Ao invés de se utilizar óleo de peixes, adicionam-se culturas de microalgas para que os estágios larvais da artêmia promovam a filtração dessas algas. Assim, substâncias que não estariam presentes nas artêmias, mas sim nas microalgas, poderão ser aproveitadas na alimentação dos camarões. O bioenriquecimento permite a produção de pós-larvas mais robustas e resistentes.

13. A artêmia ingere qualquer coisa menor que 50µ (inclusive vidro)

12.4. ARMAZENAGEM

Os náuplios recém eclodidos e mesmo os bioenriquecidos podem ser armazenados, o que não deixa de ser uma comodidade, pois é possível compatibilizar as diversas rotinas de um laboratório para produção de pós-larvas de camarões. Além disso, como a armazenagem é feita em geladeira, em baixas temperaturas, o metabolismo dos animais acaba sendo drasticamente reduzido. Com isso, eles deixam de crescer e, conseqüentemente, de gastar suas próprias energias, que serão muito bem aproveitadas pelas larvas dos camarões.

Antes de serem armazenados, recomenda-se que os náuplios sejam mantidos por cerca de uma hora em água doce para eliminação de microrganismos indesejáveis. Depois, eles devem ser concentrados e mantidos em água a 22 ppmil, em densidade de até 8 milhões de náuplios/l. Os frascos contendo os náuplios de artêmia podem ser mantidos em geladeira, em temperaturas inferiores a 10 °C, por períodos de até 24 h.

14. ESTRUTURAS DE UM LABORATÓRIO

Este é um capítulo que aborda o processo produtivo de pós-larvas de camarões marinhos, através da descrição das estruturas mínimas necessárias à realização de cada uma das etapas de produção já descritas anteriormente.

Em primeiro lugar, é preciso ressaltar que, praticamente, todas as salas e setores que compõem um laboratório precisam ter acesso direto à água doce (não necessariamente tratada) e à água salgada, além de um eficiente sistema de aeração.

A aeração deve ser feita com o uso de sopradores (também chamados de compressores radiais). Esse tipo de equipamento injeta ar não pressurizado na tubulação, que, por sua vez, deve se estender para todas as salas do laboratório. Os sopradores apresentam grande vantagem sobre os compressores pneumáticos, pois não há nenhum risco de ocorrência de vazamentos de óleo no sistema.

A potência do soprador a ser utilizado dependerá basicamente da profundidade dos tanques. Quanto maior a coluna d'água, menor a eficiência de aeração. Um soprador com motor 4,5 hp é suficiente para abastecer um laboratório com volume de 150.000 l, desde que a profundidade máxima dos tanques não ultrapasse 1,20 m.

Mesmo com a utilização de filtros nos sopradores, o ideal é que o ar utilizado no sistema de aeração seja retirado de um ambiente o mais livre de partículas e contaminantes possível, para que diminuam os riscos dele já entrar contaminado no sistema de produção. Por esse motivo é relativamente comum se encontrar, atualmente, laboratórios onde o ar é captado diretamente na sala de manutenção de microalgas (cepário), uma sala isolada e mantida sob contínua refrigeração.

14.1. SALA DE MATURAÇÃO

Os tanques de maturação devem ser circulares ou retangulares, pintados com tinta epóxi preta e ter profundidade de 1,0 m, com volumes individuais entre 10-15 m³.

Nessa sala, pode-se optar por um controle artificial ou natural do fotoperíodo, mas, dependendo da localização do laboratório, pode ser necessária a instalação de um sistema de controle da temperatura da água, que deve ser mantida em cerca de 28 °C.

14.2. SALA DE DESOVA

A configuração da sala de desovas depende do sistema que será utilizado. No caso da opção pelo sistema individual, o laboratório deverá possuir tanques com volumes variando entre 100 e 500 l. Nesse caso, como a percentagem de fêmeas que desovam em uma noite pode chegar facilmente a 7% do total de fêmeas do plantel, o número de tanques de desova deverá, obrigatoriamente, ser ainda maior.

Os tanques de desovas coletivas, por sua vez, devem ser maiores (tanques de 5 a 20 m³) e a taxa de estocagem também (1,0 a 1,5 fêmeas/m²), com isso o número total de tanques sofre uma redução proporcional.

Em ambos os casos, a sala de desova deve ser escura, controlada unicamente por iluminação artificial, uma vez que as desovas só ocorrem no período noturno.

14.3. SALA DE ECLOSÃO

É recomendável que a desova e a eclosão sejam realizadas em salas separadas. A desova deve ser feita no escuro, enquanto a utilização de luz é um dos principais meios para a coleta de náuplios. Além disso, a sala de desova deve ser mantida na maior tranquilidade possível, com pouca movimentação de pessoas, o que evidentemente não é possível se conseguir na sala de eclosão, onde o ritmo de trabalho é bem mais intenso.

Os tanques de eclosão devem preferencialmente ter formato cilíndrico-cônico, com volumes entre 100 e 600 l (Figura 29).

14.4. SALA DE LARVICULTURA

Os tanques de larvicultura podem ser confeccionados com diversos tipos de materiais, tais como concreto, fibra de vidro, materiais plásticos e possuir formas cilíndricas ou retangulares. Quanto ao fundo desses tanques, podem ser planos ou parabólicos. Os tanques mais apropriados para a larvicultura em uso atualmente são os retangulares com fundo parabólico. O tamanho e o número desses tanques deve ser proporcional à produção esperada de larvas. Por exemplo, considerando uma taxa final de sobrevivência de 60% e uma densidade de povoamento de 120 náuplios/l, um tanque de larvicultura de 10.000 l irá produzir cerca de 720.000 pós-larvas.

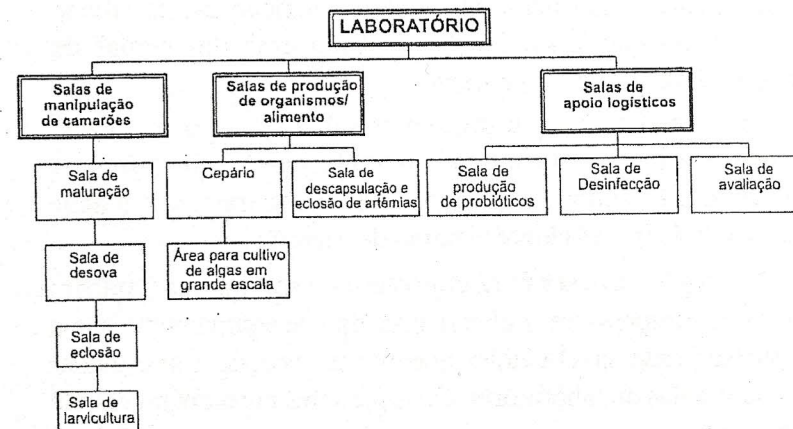


Figura 43. Instalações mínimas recomendadas para a produção de pós-larvas de camarões peneídeos em laboratório.

14.5. CEPÁRIO

O cepário é uma área do laboratório que serve para manutenção das cepas de microalgas. Em outras palavras, é o local onde é mantido um banco de algas, com as espécies que serão utilizadas na larvicultura.

Como sua utilização é restrita e as condições devem ser mantidas o mais assépticas possível, pode ser constituído por uma sala pequena, com paredes cobertas por azulejos ou pintadas com tinta epóxi branca. Deve-se planejar o cepário de forma que a temperatura possa ser controlada e que a luz interna seja proveniente de iluminação artificial. Assim, há a necessidade da sala não possuir janelas, ter um sistema de condicionamento de ar e de lâmpadas (usualmente fluorescente) posicionadas paralelamente às prateleiras onde será colocada a vidraria utilizada no cultivo algal.

Nesse setor, a temperatura deve ser mantida entre 20 e 23 °C e a iluminação suficiente para proporcionar uma intensidade luminosa de aproximadamente 1.000 lux.. Aí pode ser também viável a manutenção de uma geladeira, para acondicionar os meios de cultura.

14.6. ÁREA PARA CULTIVO DE MICROALGAS EM LARGA ESCALA

A produção de microalgas em larga escala pode ser feita de várias maneiras, como foi discutido no capítulo 11. Determinados laboratórios têm um setor de produção intermediário entre o cepário e os tanques de produção em larga escala, que é mantido em condições bastante semelhantes às já descritas para o cepário. No entanto, como os volumes de cultura envolvidos são maiores, o sistema de iluminação também deverá ser mais potente, possibilitando a obtenção de intensidade luminosa de até 2.500 lux.

A produção em grande escala pode ser realizada em tanques colocados ao ar livre, em salas cobertas por telhas transparentes, em estufas plásticas ou ainda em ambientes fechados submetidos a um sistema de iluminação e de temperatura controlados.

Nessa área de cultivo em larga escala, podem ser utilizados tanques de fibra de vidro, de fibra de carbono, de material plástico, de policarbonato, enfim, de uma infinidade de materiais, de formatos e de dimensões proporcionais à quantidade de alga que se necessita produzir.

14.7. SALA PARA DESCAPSULAÇÃO E ECLOSÃO DE ARTÊMIA

A sala para se trabalhar com a artêmia deve ser suficientemente grande para abrigar os tanques cilindro-cônicos

onde será feita a eclosão. O número de tanques a ser utilizado dependerá da quantidade de artêmia requerida diariamente na larvicultura. O cálculo deve ser feito considerando-se que poderão ser necessários até 5 náuplios de artêmia/ml em cada tanque em operação durante a larvicultura; que os tanques de eclosão de artêmia poderão comportar 2 g de cistos/l e que cada grama contém, em média, entre 150.000 - 250.000 cistos.

Além disso, a sala destinada à eclosão de artêmias deverá possuir um sistema de luz fluorescente, de modo a garantir uma elevada intensidade luminosa nos tanques. É importante também um local destinado à lavagem dos cistos ou dos náuplios após a sua eclosão. Esse local pode ser uma pia ou um pequeno tanque de concreto, que serve para facilitar a lavagem e manter a limpeza da sala, impedindo que cistos ou suas cascas se espalhem pelo chão.

É muito importante que esta sala seja isolada e tenha pé-de-lúvio.

14.8. SALA DE DESINFECÇÃO

A sala de desinfecção deve ser pintada com tinta epóxi branca e deve ser equipada, pelo menos, com um autoclave, destilador de água, estufa de esterilização, pias e prateleiras.

14.9. SALA DE AVALIAÇÃO

Essa sala pode ser utilizada para diversos fins, como, por exemplo, para contagem e avaliação das amostras de ovos e larvas de camarões e das culturas de microalgas; preparação de alimentos e medicamentos; anotação e manutenção de arquivos com todos os parâmetros coletados no laboratório e prescrição das rotinas do

laboratório.

Não há grandes exigências em relação às dimensões da sala de avaliação, mas recomenda-se que ela tenha um tamanho adequado para permitir a livre movimentação dos técnicos e ainda comportar geladeira, freezer, balança de precisão, computador, microscópio(s) e lupa(s).

14.10. SALA DE PROBIÓTICOS

A sala de probióticos, ao contrário do cepário, deve ser mantida sob temperatura elevada (32 °C) e não precisa de forte iluminação artificial. Deve ainda possuir prateleiras, para estocagem da vidraria que será utilizada no cultivo de bactérias (garrações de 20 l, tubos de ensaio, erlenmeyers, pipetas, placas de petri), estufa bacteriológica e uma pia.