

INFLUÊNCIA DA RENOVAÇÃO NA CARGA BACTERIANA EM LABORATÓRIO DE CAMARÕES MARINHOS (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)

JATOBÁ, A.*; VIEIRA, F.N.; SILVA, B.C.;
MOURIÑO, J.L.P. & SEIFFERT, W.Q.

Universidade Federal de Santa Catarina
*Corresponding author: adolfo.jatoba@ifc-araquari.edu.br

ABSTRACT

Jatobá, A.; Vieira, F.N.; Silva, B.C.; Mouriño, J.L.P. & Seiffert, W.Q. (2015). Influência da renovação na carga bacteriana em laboratório de camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*). Braz. J. Aquat. Sci. Technol. 19(1). eISSN 1983-9057. DOI: 10.14210/bjast.v19n1. The objective of this work was to evaluate the the effect of static renewal in laboratory for *L. vannamei* in relation to water and microbiological parameters, such as the bacterial population in mysis and post-larvea stages larval. The hatchery and maturation tanks were monitored, water samples were collected before and after renewal to measure water and microbiological parameters. The static renewal reduced nutrients in the water from maturation and hatchery tanks, as well as the *Vibrio* spp. population, for water and post-larvae. The brine shrimp inclusion increased *Vibrio* spp. population in the hatchery.

Key words: Maturation, Hatchery, *Vibrio* spp., Static renewal.

INTRODUÇÃO

O aporte de material orgânico, como restos de alimento e fezes, pode causar prejuízo em larviculturas de *Litopenaeus vannamei* devido ao aparecimento de bactérias oportunistas, como os *vibrios*, ocasionando grandes mortalidades (Mouriño et al., 2008). Por isso, há necessidade de manter a qualidade da água em tanques de larvicultura de camarões marinhos. Nutrientes como nitrito e amônia merecem atenção especial, este último sendo mais tóxico em pH básico onde predomina a forma não ionizada (Zhao et al., 1997).

Os subsídios utilizados nas larviculturas como: ração, microalgas, água e artêmia, também contribuem para a deterioração do ambiente de cultivo. E as artêmias são conhecidas como vetor para contaminações bacterianas de larvas e pós-larvas de peneídeos (Lavilla-Pitogo et al., 1990). Durante surtos de enfermidades bacterianas, a contagem total de *Vibrio* spp. pode aumentar mil vezes nas larviculturas (Soto-Rodriguez et al., 2003).

Para minimizar estes problemas, a renovação da água é uma das medidas utilizadas para retirada de matéria orgânica e diluição dos nutrientes presentes na água dos tanques de larvicultura, com intuito de reduzir a mortalidade (Fegan, 1991). A renovação pode ser realizada de forma contínua (mesma vazão de entrada e saída da água) ou estática (grande volume é retirado e reposto num curto intervalo de tempo).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da renovação estática sobre os parâmetros químicos e microbiológicos da água no setor de maturação e larvicultura, assim como a carga bacteriana das larvas

de *L. vannamei* nos estágios de mysis e pós-larva, e da artêmia utilizada como alimento vivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no LCM/UFSC (Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina) no mês de novembro de 2009. Foram monitorados três tanques circulares da maturação (12 T) e três tanques de larvicultura (20 T) em forma de "U", durante dois dias, além da água do abastecimento. A água utilizada no laboratório foi clorada e neutralizada segundo Mouriño et al. (2008).

Na maturação foram mantidos 110 camarões por tanque, alimentados nove vezes ao dia (às 1:00, 9:00 e 14:00 com marisco, às 11:00 e 21:00 com lula e às 6:00, 17:00 e 23:00 com dieta comercial). A temperatura foi mantida em $29,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, oxigênio dissolvido em $4,7 \pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, salinidade $33,0 \pm 1,0\text{‰}$, pH $7,6 \pm 0,3$ e renovação contínua (5 L.min^{-1}). Diariamente às 7:00 a renovação contínua era fechada e 20% do volume dos tanques renovado por um sistema de renovação estática (criando um corrente circular no tanque).

Os tanques de larvicultura possuíam populações de aproximadamente 3,0 milhões de larvas, os quais foram preparados e o manejo adaptado segundo Silva et al. (2009). A temperatura de $31,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, oxigênio dissolvido em $4,5 \pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, salinidade $33,0 \pm 1,0\text{‰}$, pH $7,5 \pm 0,5$. No estágio de mysis, diariamente, era realizada a renovação estática, no qual 5.000 L de água era retirada pelo fundo e reposta pela parte superior do lado oposto da saída da água. No

estágio de pós-larva, diariamente, era realizada uma renovação contínua (150 L.m⁻¹ por 1,5 horas), para isso 5.000 L de água era retirada e repostos após a renovação, restabelecendo o volume de 20 T de água.

Na maturação e na larvicultura foram coletadas quatro amostras, duas antes e duas após a renovação estática, de cada tanque, além de mais duas amostras da água do abastecimento. A primeira amostra de 250 mL e a segunda de 10 mL para mensurar os parâmetros químicos de qualidade da água e avaliações microbiológicas, respectivamente.

Os parâmetros de qualidade da água (amônia total, nitrito, nitrato e fosfato) foram mensurados com fotolorímetro SL 2K microprocessado (Solar Instrumentações) segundo Baumgarten et al. (1996) e turbidez com turbidímetro (Alfakit).

Para avaliação microbiológica da água as amostras foram diluídas serialmente (fator 10) em solução salina estéril 3% NaCl, as diluições foram semeadas em meio agar Marine e agar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) com 3% NaCl para quantificar as bactérias totais e *Vibrio* spp., respectivamente.

No momento em que 100% das larvas atingiram o estágio misis um “pool” de 1 g de larvas de cada tanque foi coletado. As larvas foram lavadas em solução de álcool 70% e enxaguadas em água destilada, maceradas e diluídas serialmente (fator 10) em solução salina estéril 3,0% NaCl. As diluições foram semeadas em meio agar Marine e TCBS, e incubados por 24h a 30°C, para contagem de bactérias totais e *Vibrio* spp., respectivamente. Este procedimento foi repetido quando 100% das larvas atingiram a fase de pós-larva.

Durante quatro dias foram realizadas contagens microbiológicas nos náuplios de artêmia. Após a eclosão (600g de cisto de artêmia em 600 L de água), os náuplios foram concentrados em 30 L, e retirada uma amostra de 1 mL para quantificação das bactérias totais e *Vibrio* spp.

Para as análises estatísticas, foi realizado o teste de Bartlett e os dados que não apresentaram homogeneidade de variância transformada para log (x+1), e posteriormente os dados foram submetidos ANOVA ($p < 0,05$). Os dados de larvicultura foram avaliados em fatorial (2 x 2). Os níveis do fator 1 foram avaliados antes e após a renovação e os níveis do fator 2 foram os diferentes estágios larvais. Uma vez encontrada diferença entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) (ZAR, 2010).

RESULTADOS

Para as bactérias totais, na água, a renovação reduziu significativamente ($p > 0,05$) a quantidade de bactérias totais, independente do estágio larval, enquanto não foram observadas diferenças significativas na quantidade de bactérias associadas às larvas, antes e após a renovação. Nas pós-larvas foram observadas uma maior presença ($p > 0,05$) de bactérias totais que nas misis.

As vibriónaceae foram reduzidas significativamente ($p > 0,05$), na água e nas pós-larvas, após a renovação, enquanto no estágio de misis este gênero não foi detectado na água e não interferiu na quantidade associadas às larvas neste estágio. A quantidade de *vibriós* foi significativamente ($p > 0,05$), maior, na água e larvas, no estágio de pós-larvas em relação ao estágio de misis.

A renovação reduziu significativamente ($p > 0,05$) a concentração de nitrato, fosfato e turbidez na água da maturação e larvicultura, independente do estágio larval (misis ou pós-larva). Para o nitrito a renovação reduziu a concentração na água na maturação e larvicultura no estágio de misis, enquanto para amônia só foi observada esta diferença na água da larvicultura no estágio de pós-larva (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros microbiológicos e químicos de qualidade de água da maturação e larvicultura de *Litopenaeus vannamei*, e das larvas em dois diferentes estágios (misis e pós-larva), antes e após a renovação estática diária.

		Antes	Após
Bactérias totais (UFC.g mL ⁻¹)	Abastecimento	2,0 ± 2,4 x 10 ⁵	NA
	Água da maturação	2,4 ± 3,0 x 10 ⁴	8,1 ± 8,6 x 10 ⁴
	Água L (Misis)	5,5 ± 3,3 x 10 ^{4*}	2,3 ± 2,2 x 10 ⁴
	Água L (pós-larva)	3,0 ± 4,4 x 10 ^{8*}	5,3 ± 4,5 x 10 ⁴
	Misis	6,7 ± 2,0 x 10 ^{3b}	5,2 ± 3,8 x 10 ^{3b}
	Pós-larva	5,4 ± 7,5 x 10 ^{5b}	3,4 ± 4,8 x 10 ^{5b}
<i>Vibriós</i> sp. (UFC.mL ⁻¹)	Abastecimento	ND	NA
	Água da maturação	5,2 ± 3,7 x 10 ²	3,9 ± 2,4 x 10 ²
	Água L (Misis)	nd ^a	nd ^a
	Água L (pós-larva)	23,0 ± 16,0 x 10 ^{2*}	2,9 ± 1,4 x 10 ^{2b}
	Misis	6,4 ± 3,6 x 10 ^{2b}	6,2 ± 3,9 x 10 ^{2b}
	Pós-larva	1,8 ± 2,0 x 10 ^{4*}	14 ± 7,0 x 10 ^{2b}
Amônia (mg.L ⁻¹)	Abastecimento	0,00 ± 0,00	NA
	Maturação	0,26 ± 0,07	0,25 ± 0,07
	Água L (Misis)	0,14 ± 0,04	0,09 ± 0,08
	Água L (Pós-larva)	0,02 ± 0,01*	0,00 ± 0,00
Nitrito (mg.L ⁻¹)	Abastecimento	0,16 ± 0,15	NA
	Maturação	0,31 ± 0,03*	0,16 ± 0,06
	Água L (Misis)	0,15 ± 0,02*	0,04 ± 0,03
	Água L (Pós-larva)	0,30 ± 0,42	0,10 ± 0,14
Nitrato (mg.L ⁻¹)	Abastecimento	0,00 ± 0,00	NA
	Maturação	0,05 ± 0,00*	0,03 ± 0,01
	Água L (Misis)	0,02 ± 0,01*	0,00 ± 0,00
	Água L (Pós-larva)	0,02 ± 0,02*	0,00 ± 0,00
Fosfato (mg.L ⁻¹)	Abastecimento	0,05 ± 0,09	Na
	Maturação	0,19 ± 0,07*	0,03 ± 0,01
	Água L (Misis)	0,29 ± 0,04*	0,00 ± 0,00
	Água L (Pós-larva)	0,14 ± 0,01*	0,00 ± 0,00
Turbidez (NBT)	Abastecimento	0,55 ± 0,42	NA
	Maturação	2,74 ± 0,59*	1,89 ± 0,35
	Água L (Misis)	5,28 ± 1,58*	3,25 ± 0,83
	Água L (Pós-larva)	3,50 ± 0,47*	0,83 ± 0,23

L: larvicultura; na: não avaliado; nd: não detectável; *demonstra diferenças estatísticas ($p > 0,05$) antes e após da renovação estática (linhas); diferentes letras minúsculas demonstram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os diferentes estágios larvais (misis e pós-larvas).

A concentração de bactérias totais e *Vibrio* spp. na artêmia foram de $3,0 \pm 4,4 \times 10^7$ e $2,2 \pm 2,4 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, respectivamente.

DISCUSSÃO

Vinatea & Andreatta (1997) observaram efeitos positivos da renovação estática na larvicultura de *Penaeus paulensis* aumentando as taxas de sobrevivência final. A redução dos nutrientes pela renovação estática aprimorou a manutenção da qualidade do ambiente. Além disto, permite que os restos de alimento, fezes e mudas se concentrem no centro do tanque para posterior retirada. A redução da turbidez é fundamental para facilitar o manejo de seleção das fêmeas copuladas que posteriormente são transferidas para tanques de desova. Peixoto et al. (2003) observaram que a renovação na maturação de *P. paulensis* mantém baixa as concentrações dos compostos nitrogenados e não influencia a capacidade reprodutiva, assim como o ciclo de mudas.

Neste estudo a renovação estática não interferiu nas contagens bacterianas da água na maturação. Isto pode ser justificado pela proximidade dos baixos valores observados, para bactérias totais, antes da renovação e do sistema de abastecimento, assim como pelo baixo volume renovado. Já o surgimento de *Vibrio* spp. na maturação pode estar relacionado coma oferta do alimento fresco (lula e mexinhão).

Mouriño et al. (2008) realizaram monitoramento no LCM/UFSC em 2005 observaram valores 10^3 UFC.mL⁻¹ para bactérias totais nas caixas de abastecimento, dez vezes inferior ao observado neste trabalho, isto pode estar associado a fatores ambientais e diferenças no manejo da água.

Na larvicultura, a renovação reduziu a carga de bactérias totais da água nos tanques para ambos os estágios. Os *Vibrio* spp. foram detectados na água da larvicultura apenas no estágio de pós-larva, mostrando redução significativa ($p < 0,05$) na sua população após a renovação estática.

Para as larvas, não foi observado diferença na contagem total de bactérias antes ou depois da renovação. Assim como na água, a concentração de *Vibrio* spp. reduziu significativamente ($p < 0,05$) após a renovação estática nas larvas no estágio de pós-larva, enquanto para as misis não foi detectada a presença dos *Vibrio* spp.

O aumento na população de *Vibrio* spp. na água e nas larvas do estágio de misis para pós-larva pode estar relacionado com a inclusão da artêmia como alimento vivo, que apesar de ser utilizada em pequenos volumes, possui elevada concentração de bactérias totais e *Vibrio* spp.

Griffith (1995) reporta o uso de antibióticos em larviculturas de *L. vannamei* a mais de duas décadas. Seu uso inadequado pode ocasionar o desenvolvimento de cepas resistentes (Klaenhammer & Kullen, 1999), além de ser fonte de poluição ambiental (Boyd & Massaut, 1999) e ocasionar risco à saúde humana (Cabello, 2006). Com os resultados obtidos podemos sugerir a aplicação de antibióticos, caso necessário, após a renovação, pois é o momento em que o sistema de cultivo possui as menores populações bacterianas.

Diversas bactérias como *Vibrio alginolitycus*, *V. carolylliticus*, *V. proteolitycus rhizobium*, *Brevundimonas*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas* e *Micrococcus* foram isolados dos náuplios de artêmia, mesmo após passarem por um processo de desinfecção com formalina e três antibióticos (oxitetraciclina, eritromicina e estreptomicina), algumas destas com resistência bacteriana adquirida pelo uso inadequado de quimioterápicos, como os antibióticos, no ambiente de produção (Høj et al., 2009), justificando a necessidade de aprimorar o conhecimento sobre as variáveis que interferem na população destes micro-organismos.

CONCLUSÕES

A renovação estática reduz a concentração de nutrientes da água nos tanques de larvicultura e a turbidez na maturação.

A renovação estática nos tanques de larvicultura reduz a população de *Vibrio* spp. na água e larvas no estágio de pós-larva.

Houve aumento na população de *Vibrio* spp. após o inclusão da artêmia viva na alimentação dos tanques de larvicultura de *L. vannamei*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório de Oceanografia Costeira (LOC-UFSC) por realização das avaliações dos parâmetros químicos de qualidade da água.

REFERÊNCIAS

- Baumgarten, M.G.Z.; Rocha, J.M.B. & Niencheski, L.F.H. 1996. Manual de análises em oceanografia química, Ed. FURG, Rio Grande, 132 pp.
- Boyd, C.E.; Massaut, L. 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture, *Aquaculture*, 20,13-132.
- Cabello, F. C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment

- Minireview Environmental Microbiology, 8 (7), 1137–1144.
- Fegan, D.F. 1991 Recent developments and issues in the penaeid shrimp hatchery industry. In: Wyban, J. (Ed.), Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 55–70.
- Griffith, D.R.W. 1995. Microbiology and the role of probiotics in Ecuatorian shrimp hatcheries. In: Lavens, P.; Jaspers, E.; Roelands, I., Larvi '91 — fish and crustacean larviculture symposium, Editors, European Aquaculture Society, Gent, p. 478 Special publication no. 24.
- Høj, L.; Bourne, D. G.; Hall, M. R. 2009. Localization, abundance and community structure of bacteria associated with *Artêmia*: Effects of nauplii enrichment and antimicrobial treatment. *Aquaculture*, 293, 278–285.
- Klaenhammer, T.D.; Kullen, M.J. 1999. Selection and design of probiotics, *Internacional Journal Food Microbiology*, 50, 45– 57.
- Lavilla-Pitogo, C. R.; Baticados, M. C. L.; Cruz-Lacierda, E. R.; de la Pena, L. D. 1990. Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture* 91, 1-13.
- Mouriño, J.L.; Buglione, C.C.; Vieira, F.N.; Toro, C. R.; Pedrotti, F. S. Belettini, F.; Seiffert, W.Q.; Beltrame, E. 2008. Avaliação bacteriológica aplicada à produção de pós-larvas de *Penaeus vannamei*. *Atlântica*, 30, 9-16.
- Peixoto, S.; Cavalli, R.O.; Junior, W.W. 2003. The influence of water renewal rates on the reproductive and molting cycles of *Penaeus paulensis* in captivity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46 (2), 281 – 286.
- Silva, B.C.; Andre, R.C.; Belettini, F.; Buglione, C.C.; Jatobá, A.; Vieira, F.N.; Andreatta, E.R.; Derner, R.B.; Mouriño, J.L. 2009. Utilização de *Thalassiosira weissflogii* em larvicultura de *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931). *Atlântica*, 31, 39 – 50.
- Soto-Rodriguez, S. A.; Roque, A.; Lizarraga-Partida, M.L.; Guerra-Flores, A.L.; Gomez-Gil, B. 2003. Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. *Diseases of Aquatic Organisms*, 53, 231 – 240.
- Vinatea, L.; Andreatta, E. R. 1997. Comparative study of continuous and static water renewal strategies in the larviculture of *Penaeus paulensis* (Peréz Farfante, 1967) associated with high stoking densities and different renewal water rates. *Aquaculture*, 154, 247 – 259.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical analysis*. 5th ed. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River. NJ, 994p.
- Zhao, J.H.; Lam, T.J; Guo, J.Y. 1997. Acute toxicity of ammonia to the early stage-larvae and juveniles of *Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards, (Decapoda:Grapsidae) reared in the laboratory. *Aquaculture Research*, 28, 517 – 525.

Submetido: Fevereiro/2010

Revisado: Maio/2014

Aceito: Outubro/2014