



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA**

SILVIO RICARDO MAURANO PEIXOTO

**APLICAÇÕES DO MONITORAMENTO ACÚSTICO PASSIVO NA
AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE CAMARÕES**

**Recife
Abril 2024**

SILVIO RICARDO MAURANO PEIXOTO

**APLICAÇÕES DO MONITORAMENTO ACÚSTICO PASSIVO NA
AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE CAMARÕES**

Tese apresentada à Universidade Federal
Rural de Pernambuco, como parte dos
requisitos para Promoção Funcional para
a Classe de Professor Titular

**Recife
Abril 2024**

*À memória de Hollanda Therezinha
Maurano Peixoto e Sylvio Pellico Peixoto.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram com minha educação e formação acadêmica. Agradeço também as agências de fomento estaduais (FAPERGS e FACEPE) e nacionais (CAPES e CNPq) pelos diferentes níveis de bolsa e auxílios recebidos. De forma muito especial, agradeço a minha esposa Roberta Borda Soares por termos compartilhado juntos todos os momentos e desafios ao longo de nossas vidas e carreiras acadêmicas.

RESUMO

O monitoramento acústico passivo ou “PAM” (sigla utilizada do inglês “Passive Acoustic Monitoring”) é uma ferramenta amplamente utilizada para detecção sonora e avaliação do comportamento de diversas espécies aquáticas. Os crustáceos apresentam diversos mecanismos para emissão de sons, normalmente associados a situações ou comportamentos específicos. Nos camarões, a emissão de som ocorre através do choque entre as mandíbulas durante a ingestão de alimento, gerando um som de “clique” que permite a associação com a atividade alimentar dos animais. Neste sentido, o PAM vem sendo utilizado para o desenvolvimento de alimentadores automatizados na criação comercial, assim como representa uma alternativa não invasiva para estudar o comportamento alimentar de camarões em condições laboratoriais. No Capítulo I da presente Tese, é apresentada uma revisão das aplicações do PAM para avaliação do comportamento alimentar de camarões em laboratório, além da introdução de conceitos, termos e metodologias gerais no âmbito da bioacústica. Dentre as principais contribuições da aplicação de PAM em estudos laboratoriais com camarões, pode-se destacar: a caracterização acústica de cliques e estrutura mandibular associada à sua emissão para diferentes espécies; detectar variações em parâmetros acústicos de cliques em função do tamanho dos animais, textura e tamanho dos péletes de ração; e ainda analisar efeitos no comportamento alimentar causados pelo tamanho dos camarões, densidade de estocagem e características específicas de dietas artificiais (textura, formulações, aditivos e tamanhos de pélete). Nos Capítulos seguintes, são apresentados dois estudos de caso relacionados a aplicação de PAM para caracterização de cliques e análise do comportamento alimentar de *Litopenaeus vannamei*. No Capítulo II, foram investigados os efeitos do ciclo de muda (ecdise) nas características acústicas dos cliques emitidos durante a atividade alimentar. Os estágios de pós-muda e intermuda afetaram as características acústicas dos cliques, com menor energia máxima (dB) dos cliques emitidos por camarões na pós-muda provavelmente associada a menor espessura da cutícula mandibular observada neste estágio. Já no Capítulo III, foram utilizadas diferentes frequências alimentares (uma, duas, quatro e oito vezes ao dia) para avaliar o comportamento alimentar dos camarões. Os resultados indicaram uma maior atividade acústica e consumo de ração em grupos de camarões alimentados mais vezes ao dia, com destaque para frequência alimentar de oito vezes. Os resultados da presente Tese ressaltam as contribuições do uso PAM como uma metodologia etológica eficiente para aprimorar nosso conhecimento sobre o comportamento alimentar de camarões em laboratório.

Palavras-chave: bioacústica; etologia; crustáceos; cliques; ecdise; frequência alimentar.

ABSTRACT

Passive acoustic monitoring (PAM) is a widely used tool for sound detection and assessing behavior of various aquatic species. Crustaceans have different mechanisms for emitting sounds, usually associated with specific situations or behaviors. The sound emission in shrimp occurs by the collision of their mandibles during food ingestion, generating a "click" sound that allows the association with the feeding activity. Therefore, PAM has been used to develop automated feeders in commercial farming, as well as represents a non-invasive alternative for studying shrimp feeding behavior in laboratory conditions. The Chapter I of this Thesis presents a review of the applications of PAM for evaluating shrimp feeding behavior in the laboratory, as well as introducing general concepts, terms and methodologies used in bioacoustics. Among the main contributions of PAM in laboratory studies with shrimp, the following can be highlighted: the acoustic characterization of clicks and mandibular structure associated with their emission for different species; detecting variations in acoustic parameters of clicks according to animal size, texture and size of feed pellets; and analyzing the effects on feeding behavior caused by shrimp size, stocking density and specific diet characteristics (texture, formulations, additives and pellet sizes). The following chapters present two case studies related to the application of PAM to click characterization and feeding behavior analysis for *Litopenaeus vannamei*. In Chapter II, the effects of the molting cycle (ecdysis) on the acoustic characteristics of clicks emitted during feeding activity were investigated. The post-molt and intermolt stages affected the acoustic characteristics of the clicks, with lower maximum energy (dB) of clicks emitted by shrimp in the post-molt stage probably associated with the lower thickness of the mandibular cuticle observed to this stage. In Chapter III, different feeding frequencies (once, twice, four and eight times a day) were used to evaluate shrimp feeding behavior. The results indicated a greater acoustic activity and feed consumption in shrimp groups fed more times a day, especially at the feeding frequency of eight times a day. The results of this Thesis highlight the contributions of using PAM as an efficient ethological methodology to help improving our knowledge on the shrimp feeding behavior in laboratory conditions.

Keywords: bioacoustics; ethology; crustaceans; clicks; ecdysis; feeding frequency.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	Página
Figura 1. Equipamentos utilizados em testes de monitoramento acústico passivo envolvendo caracterização de cliques e comportamento alimentar de camarões em laboratório. As fotos na parte superior mostram os equipamentos isolados, e na inferior exemplos de sua aplicação. A) Equipamento autônomo SoundTrap 300 (Ocean Instruments, Nova Zelândia) e sua instalação junto ao fundo em ambiente natural. Fotos do fabricante disponíveis em www.oceaninstruments.co.nz . B) Conjunto de equipamentos formado por hidrofone AS-1 (Aquarian Hydrophones, EUA) e gravador digital ZOOM F6 (ZOOM, EUA), a esquerda e direita, respectivamente, e exemplo de seu uso com cinco hidrofones em aquários com camarões. Fotos dos fabricantes disponíveis em www.aquarianaudio.com (esquerda) e www.zoomcorp.com (direita), e foto abaixo de arquivo pessoal.	28
Figura 2. Par de mandíbulas removidas de um camarão adulto (<i>L. vannamei</i>) com peso de 35 g e comprimento de carapaça de 33 mm.	30
Figura 3. Espectrograma acústico de um clique de <i>L. vannamei</i> gerado pelo choque das mandíbulas durante o consumo de ração, com indicação dos parâmetros de frequência máxima (Fmax), frequência mínima (Fmin), pico de frequência (PF), energia máxima (Emax) e duração. A barra colorida ao lado direito da figura indica a energia em decibéis (dB). Este espectrograma corresponde a uma ampliação do clique indicado por um asterisco na figura 5C.	32
Figura 4. Diagrama estrutural para testes de monitoramento acústico passivo em laboratório. Neste exemplo, a ração é ofertada para caracterização de cliques (e.g. câmara anecoica revestida de espuma) e comportamento alimentar (e.g. aquário) dos camarões. Os hidrofones, posicionados no centro dos tanques, estão conectados a um gravador digital com dois canais de entrada. Os arquivos de áudio da atividade alimentar (aquário e câmara anecoica) são posteriormente transferidos e analisados em computador.	39

Figura 5. Espectrogramas acústicos produzidos no software Raven Pro, a partir da gravação dos 5 primeiros minutos (tempo em min:s) de atividade alimentar de *L. vannamei* em laboratório (aquário 70 L; 10 camarões com peso médio = 6,8 g; 1g de ração comercial). A) Espectrograma original de gravação com taxa de amostragem de 192 kHz (frequência máxima no eixo y = 96 kHz), mostrando uma intensa ocorrência de cliques após o oferecimento de ração (seta branca). B) Exemplo dos processos de geração automática de intervalos temporais de 10 s (traços contínuos verdes) e detecção automática de cliques (traços vermelhos) no espectrograma original. C) Vista ampliada correspondente a um dos intervalos de 10 s (2`40`` a 2`50``) do espectrograma acima (retângulo tracejado verde), mostrando os cliques selecionados automaticamente. Asterisco indica o clique que foi ampliado para gerar o espectrograma da figura 3. A barra colorida no lado direito das figuras indica a energia em decibéis (dB).

Figura 6. Aplicações do monitoramento acústico passivo (PAM) para caracterização de cliques e avaliação de fatores interferentes no comportamento alimentar de camarões em estudos de laboratório. Texto em vermelho representa possíveis aplicações que ainda não foram testadas com camarões.

CAPÍTULO II

Figura 1. Desenho esquemático das gravações da atividade alimentar do camarão *L. vannamei* nos estágios de pós-muda e intermuda para obtenção dos parâmetros acústicos. Os círculos verdes indicam eventos de muda (M) e as setas vermelhas os momentos em que foram realizadas as gravações dos grupos pós-muda e intermuda.

Figura 2. Vistas superior (A) e corte longitudinal (B) da câmara anecoica utilizada para caracterização dos cliques em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei*. A conexão com o gravador digital foi feita através do hidrofone inserido no interior da câmara por uma abertura na parte superior da tampa (setas brancas).

Figura 3. Fotomicrografia indicando as medidas relacionadas as mandíbulas do camarão *L. vannamei*. (A) comprimento total da mandíbula (CM) realizado macroscopicamente. (B) comprimento associado às espessuras da cutícula mandibular (EM) e camada endocuticular (EEnd) realizados microscópicamente através de cortes histológicos.

Figura 4. Fotomicrografia mostrando cortes histológicos corados hematoxilina e eosina-floxina da cutícula mandibular de *L. vannamei* no estágio de intermuda (A) e pós-muda (B). As camadas cuticulares estão indicadas pela numeração para epicutícula (1), exocutícula (2) e endocutícula (3).

Figura 5. Exemplo de espectrograma de frequência ao longo do tempo, mostrando cliques de *L. vannamei* nos estágios de intermuda (A) e pós-muda (B). As setas amarelas indicam a frequência máxima dos cliques, enquanto as

setas vermelhas indicam o pico da frequência, onde está localizada a energia máxima do sinal (dB; barra com escala colorida à direita).

Figura 6. Representação gráfica dos valores médios de energia máxima (dB) registrados em intervalos de 15 s ao longo dos 30 min em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei* nos estágios de intermuda e pós-muda. 80

CAPÍTULO III

Figura 1. Valores médios do número total de cliques e consumo alimentar durante o monitoramento da atividade alimentar de *L. vannamei* em diferentes frequências de alimentação (1, 2, 4 e 8 vezes ao dia) durante 8h. Letras minúsculas diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as frequências alimentares. 96

Figura 2. Visualização da taxa de emissão de cliques em intervalos de 5 min ao longo de 480 min (8 h) em gravações do comportamento alimentar de *L. vannamei* em diferentes frequências de alimentação de 1, 2, 4 e 8 vezes ao dia (de cima para baixo, respectivamente). Setas vermelhas indicam picos de atividade acústica associados a eventos de alimentação nas diferentes frequências alimentares. 97

Figura 3. Número de cliques emitidos em intervalos de 1 h ao longo de 8 h em gravações do comportamento alimentar de *L. vannamei* submetidos a diferentes frequências de alimentação de 1, 2, 4 e 8 vezes ao dia. Letras maiúsculas diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as frequências alimentares dentro de cada intervalo de tempo. Já as letras minúsculas diferentes acima das barras, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro dos tratamentos de frequência alimentar em cada intervalo de tempo durante 8 h. 99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	Página
Tabela 1. Glossário de termos gerais relativos à área de acústica e ao processo de emissão de cliques de camarões com importância para o monitoramento acústico passivo da atividade alimentar em laboratório.	24
Tabela 2. Parâmetros acústicos de cliques isolados para diferentes espécies de camarões, classes de peso (g), características do tanque e taxas de amostragem da gravação (TA; kHz) durante a atividade alimentar (ração) em laboratório. Os dados estão ordenados por espécies (ordem alfabética) e classe de peso (ordem crescente). Os valores apresentados (mínimo-máximo ou médio) se referem aos seguintes parâmetros acústicos: duração do som (D; ms), frequência mínima (Fmin; kHz), frequência máxima (Fmax; kHz), pico de frequência (PF; kHz), energia (E; dB) e nível de pressão sonora (SPL; dB re 1 μ Pa).	34
Tabela 3. Estudos que utilizaram monitoramento acústico passivo (PAM) na avaliação do comportamento alimentar (ração) de <i>L. vannamei</i> e <i>M. rosenbergii</i> (*) em laboratório, com respectivos enfoques, metodologias (geral e PAM) e principais resultados. Os dados estão ordenados conforme os itens 7.1 a 7.6 no texto.	45
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Valores médios (\pm DP) das medidas morfométricas dos camarões <i>L. vannamei</i> nos estágios de intermuda e pós-muda.	77
Tabela 2. Valores médios (\pm DP) dos parâmetros acústicos de cliques emitidos por <i>L. vannamei</i> durante a atividade alimentar nos estágios de intermuda e pós-muda.	78
CAPÍTULO III	
Tabela 1. Cronograma de horários de alimentação de <i>L. vannamei</i> (indicado por X) nos tratamentos com diferentes frequências alimentares de uma (1x) a oito (8x) vezes ao dia.	92

SUMÁRIO

	Página
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	13
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivos Gerais	16
2.2. Objetivos Específicos	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
4. CAPÍTULOS DA TESE	19
CAPÍTULO I - Avanços recentes e aplicações do monitoramento acústico passivo na avaliação do comportamento alimentar de camarões em condições de laboratório	20
Resumo	21
1. Introdução	22
2. Bioacústica e monitoramento acústico passivo	23
3. Equipamentos básicos para coleta e análise acústica	27
4. Produção de som durante a alimentação de camarões	29
5. Características do som emitido por camarões	31
6. Métodos para aplicação de PAM em laboratório	37
7. Aplicações de PAM no comportamento alimentar de camarões em laboratório	43
7.1. Rações peletizadas e extrusadas	47
7.2. Tamanho dos péletes de ração	48
7.3. Formulações de rações e aditivos alimentares	49
7.4. Tamanho dos camarões	50
7.5. Densidade de estocagem	52
7.6. Interferências de ruídos	53
8. Desafios futuros e recomendações	55
9. Referências bibliográficas	58
CAPÍTULO II - Estudo de caso: efeito do ciclo de muda na característica acústica de cliques emitidos pelo camarão <i>Litopenaeus vannamei</i>	68
Resumo	69
1. Introdução	70
2. Material e métodos	72
2.1. Delineamento experimental	72
2.2. Gravações acústicas da alimentação	73
2.3. Caracterização acústica dos cliques	74
2.4. Análise do nível de energia acústica durante a atividade de alimentação	75
2.5. Análise morfométrica e histológica das mandíbulas	75
2.6. Análises estatísticas	76
3. Resultados	76
4. Discussão	80
5. Referências bibliográficas	84

CAPÍTULO III - Estudo de caso: monitoramento acústico do comportamento de <i>Litopenaeus vannamei</i> submetido a diferentes frequências alimentares	88
Resumo	89
1. Introdução	90
2. Material e métodos	91
2.1. Delineamento experimental	91
2.2. Caracterização da atividade alimentar em diferentes frequências	93
2.3. Caracterização de cliques com ração umedecida e seca	93
2.4. Análises acústicas	94
2.5. Análises estatísticas	95
3. Resultados	95
4. Discussão	99
5. Referências bibliográficas	104
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	110

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O presente documento consiste na Tese Acadêmica Inédita, necessária para promoção de carreira à Classe E, denominada de Professor Titular do Magistério Superior, junto ao Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), conforme consta nas Resoluções N^{os} 086/2014, 120/2018, 009/2019 e 065/2020 do Conselho Universitário da UFRPE. Em conformidade com estas resoluções, foi concluída a primeira etapa de aprovação do Relatório de Desempenho (Processo n.º 23082.029333/2023-58) pela Comissão de Avaliação do Relatório de Desempenho Acadêmico, designada por esta Reitoria através das Portarias N^{os} 1.169/2019-GR e 962/2022-GR. Assim, este documento representa a segunda etapa da avaliação para fins de Promoção para Professor Titular, que se refere a elaboração e defesa de Memorial Descritivo Analítico ou Tese Inédita.

A presente Tese intitulada “Aplicações do monitoramento acústico passivo na avaliação do comportamento alimentar de camarões” traz informações sobre uma linha de pesquisa recente na área de Aquicultura, que venho desenvolvendo com a equipe do Laboratório de Tecnologia de Aquicultura - LTA (DEPAq/UFRPE), e com parcerias feitas durante o pós-doutorado na Universidade de Auburn, EUA. Apesar de ter trabalhado com diferentes temas relacionados a carcinicultura ao longo de minha carreira acadêmica, a atuação em pesquisas na área de bioacústica aplicada no comportamento alimentar de camarões ocorreu a partir de 2017. Entretanto, o contato inicial com a bioacústica se deu através de uma outra espécie de crustáceo. Naquele ano, o Prof. Dr. Paulo Travassos (DEPAq/UFRPE) que coordenava o projeto “Monitoramento de atividades biológicas e antrópicas utilizando a acústica passiva em ecossistemas costeiros marinhos” (CNPq- 459456/2014-8), nos solicitou a estrutura laboratorial para realizar testes acústicos com lagostas espinhosas vermelha (*Panulirus meripurpuratus*) e verde (*Panulirus laevicauda*), com objetivo de caracterizar os sons emitidos por estas espécies, como referências para sua detecção em pesquisas de campo. Assim, desenvolvemos em conjunto um estudo que, além de analisar as características acústicas de sons tipo “raspado” emitidos por ambas as espécies, utilizou microscopia eletrônica de varredura para descrever as estruturas envolvidas nesta emissão (HAMILTON et al., 2019). Nessa mesma época, surgiu a curiosidade em conhecer mais aprofundadamente sobre o monitoramento acústico passivo (ou “PAM” sigla utilizada do inglês “Passive Acoustic Monitoring”), além da possibilidade de

aplicação desta ferramenta em estudos com camarões, os quais habitualmente utilizávamos em diversas pesquisas no laboratório.

Embora tivesse conhecimento do uso de alimentadores automáticos baseados em acústica, cuja tecnologia foi inicialmente desenvolvida junto ao “Commonwealth Science and Industrial Research Organisation” (CSIRO), Austrália, onde realizei doutorado sanduíche em 2003-2004, não tinha maiores informações sobre os mecanismos envolvidos na emissão de som por camarões, tão pouco sobre pesquisas relacionadas a este tema. Assim, foi com surpresa que constatei no ano de 2018 que os únicos artigos com caracterização acústica do som de “clique” emitido por camarões e sua aplicação em inteligência artificial na carcinicultura, tinham sido realizados com *Penaeus monodon* pelos cientistas do CSIRO (SMITH e TABRETT, 2013; SMITH e SHAHRIAR, 2013). As pesquisas com *Litopenaeus vannamei*, espécie mais cultivada no mundo, estavam restritas a comparações entre o emprego de alimentadores automáticos acústicos AQ1 (AQ1 Systems, Tasmânia, Austrália) com outros métodos de manejo alimentar utilizados na criação de camarões (NAPAUMPAIPOM et al., 2013; JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019 a,b). Muitas destas pesquisas estavam sendo realizadas pela equipe do Dr. Allen Davis da Universidade de Auburn, Alabama, EUA, que na época contavam com quatro alimentadores AQ1 instalados no conjunto de 16 viveiros de pesquisa (0,1 ha) na estação de pesquisa “Claude Petet Mariculture Center - CPMC” (JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019 a,b). Entretanto, apesar das pesquisas realizadas com tais alimentadores acústicos trazerem contribuições importantes sobre o manejo alimentar, desempenho zootécnico e produtividade na criação de camarões, as informações sobre os dados acústicos associados ao comportamento alimentar não são disponibilizadas pelos fabricantes.

Neste sentido, no final de 2018 publicamos o primeiro estudo com a caracterização acústica e descrição do mecanismo de emissão de som para *L. vannamei* (SILVA et al., 2019). Este estudo foi apresentado em março de 2019 no Congresso “Aquaculture America 2019” em New Orleans, EUA, na sessão de nutrição de camarões que foi coordenada pelo Dr. Davis (PEIXOTO et al., 2019). Naquela ocasião, planejamos com o Dr. Davis a possibilidade de realizar o pós-doutorado na Universidade de Auburn, focando aplicação de PAM em pesquisas com *L. vannamei* em laboratório. No mesmo ano, fui selecionado como Professor Visitante no Exterior Sênior pelo Programa CAPES-PRINT-UFRPE, e, juntamente com a Profa. Dra. Roberta Soares (DEPAq/UFRPE), realizamos o pós-doutorado no período de agosto de

2019 a março de 2021. Durante este período na Universidade de Auburn, tivemos a oportunidade de aprofundar nossos estudos sobre bioacústica e adquirir novos equipamentos necessários para realização de pesquisas com PAM em laboratório. Assim, foram realizados diversos estudos utilizando PAM na avaliação do comportamento alimentar de *L. vannamei* nas instalações laboratoriais da Universidade de Auburn (PEIXOTO et al., 2020a,b; SOARES et al 2021a,b; HUSSAIN et al., 2021; HUSSAIN et al., 2022; PEIXOTO et al., 2022; REIS et al., 2023; TABBARA et al., 2024). Entretanto, as pesquisas da equipe do Dr. Davis, também seguiram focando em experimentos de larga escala com uso de alimentadores AQ1, que atualmente estão instalados nos 16 viveiros da estação de pesquisa CPMC na Universidade de Auburn (REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023). Já na UFRPE, continuamos coordenando pesquisas com PAM relacionadas a caracterização acústica de *Macrobrachium rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021), entre outras aplicações no comportamento alimentar de *L. vannamei* (COSTA FILHO et al., 2023; NEVES et al., 2023; MOREIRA et al., 2023; HAMILTON et al., 2023, 2024).

O período brevemente relatado acima, foi marcado pela superação de diversos desafios e intenso aprendizado para o desenvolvimento de pesquisas em uma área relativamente nova na carcinicultura mundial, fato que nos traz grande motivação na busca por conhecimento e elaboração desta Tese. Em muitos casos, e até hoje, surgiram mais perguntas do que respostas relacionadas a aplicação de PAM na avaliação da atividade alimentar de camarões, e estamos descobrindo aos poucos o verdadeiro potencial desta ferramenta acústica. Atualmente, a bioacústica se soma a outros ramos da ciência que contribuem com o desenvolvimento da carcinicultura, tais como nutrição, etologia, fisiologia, bioquímica, química e microbiologia. Entretanto, o emprego da bioacústica e interpretação de seus resultados passa pelo entendimento das peculiaridades inerentes às diferentes espécies e sistemas aquícolas, assim como o conhecimento de outras ciências correlatas importantes no âmbito das pesquisas em carcinicultura. Desta forma, a presente Tese busca reunir informações que facilitem o entendimento de aspectos básicos na área de bioacústica e, conseqüentemente, seu emprego para avaliação do comportamento alimentar de camarões em condições de laboratório.

No Capítulo I, é apresentada uma revisão das diferentes aplicações do PAM direcionadas exclusivamente para avaliação do comportamento alimentar de camarões

em laboratório. Inicialmente, foi feita uma descrição de conceitos, termos e metodologias gerais importantes no âmbito da bioacústica. Esta descrição visa facilitar o entendimento da caracterização acústica, metodologias específicas e principais utilizações de PAM em pesquisas com camarões. Ao final deste Capítulo, foram sugeridas algumas perspectivas futuras para estudos laboratoriais com PAM. Nos Capítulos II e III, são apresentados estudos de caso relacionados a aplicação de PAM para caracterização de cliques e comportamento alimentar de *L. vannamei*, respectivamente. No Capítulo II, foram investigados os efeitos do ciclo de muda (ecdise) nas características acústicas dos cliques emitidos durante a atividade alimentar dos camarões. Neste estudo, os parâmetros acústicos e espessura cuticular da mandíbula foram comparados em camarões nas fases de pós-muda (cutícula macia) e intermuda (cutícula rígida). Já no Capítulo III, foram utilizadas diferentes frequências alimentares (uma, duas, quatro e oito vezes ao dia) para avaliar o comportamento alimentar dos camarões. O consumo alimentar dos grupos de camarões também foi avaliado ao final do período de alimentação e monitoramento acústico. Por último, as principais conclusões e recomendações de futuros estudos foram reunidas nas considerações finais da Tese.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Explorar as aplicações do monitoramento acústico passivo na avaliação do comportamento alimentar de camarões em ambiente de laboratório.

2.2. Objetivos específicos

Os seguintes objetivos específicos foram propostos na presente Tese:

- Apresentar conceitos e termos gerais importantes em estudos com bioacústica;
- Descrever equipamentos e métodos básicos utilizados para gravações e análises acústicas em estudos com camarões;
- Detalhar o mecanismo de emissão de som de camarões;
- Reunir informações atualizadas sobre a caracterização acústica do som emitido;
- Revisar o conhecimento atual sobre as aplicações e fatores interferentes na avaliação acústica do comportamento alimentar;
- Apresentar um estudo de caso sobre o efeito do ciclo de muda nos parâmetros acústicos do som emitido por *L. vannamei*;
- Apresentar um estudo de caso sobre o comportamento alimentar de *L. vannamei*

submetido a diferentes frequências de alimentação;

- Contribuir com sugestões sobre lacunas no conhecimento e futuros estudos com monitoramento acústico passivo na carcinicultura.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA FILHO, F. U. R.; HAMILTON, S.; NEVES, G.G.; CASTRO NETO, H.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Comportamento acústico do camarão marinho *Penaeus vannamei* durante atividade alimentar. In: XIX Simpósio Internacional de Carcinicultura. **Anais [...]**. Natal, RN, Brasil. 2023. p. 42.

HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; PEREIRA-NEVES, A.; TRAVASSOS, P.; PEIXOTO S. Sound production mechanism in the Brazilian spiny lobsters (Family Palinuridae). **Zoomorphology**, 138, 475-482. 2019.

HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; COSTA FILHO, F.; PEIXOTO, S. Sound emission of *Macrobrachium rosenbergii* during feeding activity. **Aquac Res**, 52, 4841-4848. 2021.

HAMILTON, S.; COSTA FILHO, F.; SILVA, J. F.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. The loud crowd: Interactions between stocking density and acoustic feeding activity of different size classes of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 563, 738904. 2023.

HAMILTON, S.; MOURA, G. J. B.; COSTA, F.; CRAVEIRO, C.; CASTRO-NETO, H.; ALMEIDA, M.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Size matters: variability in the acoustic parameters during feeding activity of *Penaeus vannamei* in different size classes. **Aquaculture**, 587, 740843. 2024.

HUSSAIN, A. S.; PEIXOTO, S.; SOARES, R. B.; DAVIS, D. A. Nutritional contribution of fermented soybean meal as a feed replacement for the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. In: Aquaculture America 2021. **Anais [...]**. San Antonio, Texas, EUA. 2021. p. 142.

HUSSAIN, A. S.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; REIS, J.; DAVIS, D. A. Evaluation of extruded feeds with no or low inclusion of fishmeal on growth performance of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in clear water and biofloc systems. **Aquac Res**, 53, 1947-1955. 2022.

JESCOVITCH, L. N.; ULLMAN, C.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac Res**, 49, 526-531. 2018.

MOREIRA, M.A.; CRAVEIRO, C.; COSTA FILHO, F. U. R.; CASTRO NETO, H.; HAMILTON, S.; PEIXOTO, S. Efeito da ecdise do camarão *Litopenaeus vannamei* nas características acústicas durante a atividade alimentar. In: XIX Simpósio Internacional de Carcinicultura. **Anais [...]**. Natal, RN, Brasil. 2023. p. 145.

NAPAUMPAIPOM, T.; CHUCHIRD, N.; TAPARHUDEE, W. Study on the efficiency of three different feeding techniques in the culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus*

vannamei). **J Fish Environ**, 37, 8-16. 2013.

NEVES, G.G.; COSTA FILHO, F. U. R.; CRAVEIRO, C.; CASTRO NETO, H.; PEIXOTO, S.; SOARES, R. Consumo alimentar e resposta acústica do camarão *Penaeus vannamei* submetido a diferentes períodos de jejum. In: XIX Simpósio Internacional de Carcinicultura. **Anais [...]**. Natal, RN, Brasil. 2023. p. 180.

PEIXOTO, S.; SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; TRAVASSOS, P. E. P.; SOARES, R. Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei*. In: Aquaculture America 2019. **Anais [...]**. New Orleans, Luisiana, EUA. 2019. p. 832.

PEIXOTO, S.; SOARES, R.; SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D. A. Acoustic activity of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquaculture**, 525, 735307. 2020a.

PEIXOTO, S.; SOARES, DAVIS, D. A. An acoustic based approach to evaluate the effect of different diet lengths on feeding behavior of *Litopenaeus vannamei*. **Aquacult Eng**, 91, 102114. 2020b

PEIXOTO, S.; SILVA, J. F.; SOARES, R.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D. A. The role of acoustics in shrimp feeding activity. In: Aquaculture America 2020. **Anais [...]**. Honolulu, Hawaii, USA. 2020c. p. 525.

PEIXOTO, S.; STREBEL, L.; SOARES, R.; & DAVIS, D. A. Acoustic feeding responses using marine chemoattractants in plant-based diets for naive and non-naive *Litopenaeus vannamei*. **Appl Anim Behav Sci**, 257, 105792. 2022.

REIS, J.; NOVRIADI, R.; SWANEPOEL, A.; JINGPING, G.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Optimizing feed automation: improving timer-feeders and on demand systems in semi-intensive pond culture of shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 519, 734759. 2020.

REIS, J.; WELDON, A.; ITO, P.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Automated feeding systems for shrimp: Effects of feeding schedules and passive feedback feeding systems. **Aquaculture**, 541, 736800. 2021.

REIS, J.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; RHODES, M.; CHING, C.; DAVIS, D. A.; Passive acoustic monitoring as a tool to assess feed response and growth of shrimp in ponds and research systems. **Aquaculture**, 546, 737326. 2022.

REIS, J.; HUSSAIN, A. S.; WELDON, A.; WALSH, S.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Passive acoustic feeders as a tool to assess feed response and growth in shrimp pond production. **Aquac Int**, 31, 1643-1657. 2023.

SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; ROCHA, J. V.; BORIE, A.; TRAVASSOS, P.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei* in captivity. **Aquaculture**, 501, 76-81. 2019.

SMITH, D. V.; SHAHRIAR, M. S. A context aware sound classifier applied to prawn feed monitoring and energy disaggregation. **Knowl-Based Syst**, 52, 21-31. 2013.

SMITH, D. V.; TABRETT S. The use of passive acoustics to measure feed consumption by *Penaeus monodon* (giant tiger prawn) in cultured systems. **Aquac Eng**, 57, 38-47. 2013.

SMITH, D. M.; TABRETT, S.; BARCLAY, M.; IRVIN, S. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. **Aquac Nutr**, 11, 263-272. 2005.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; GALKANDA-ARACHCHIGE, H. S. C.; DAVIS, D. A.; Growth performance and acoustic feeding behavior of two size classes of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquac Int**, 29, 399-415. 2021a.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; DAVIS, R. P.; DAVIS, D. A. Feeding behavior and growth of *Litopenaeus vannamei* fed soybean-based diets with added feeding effectors. **Aquaculture**, 536, 736487. 2021b

STREBEL, L. M.; NGUYEN, K.; ARAUJO, A.; CORBY, T.; RHODES, M, BECK, B. H.; ROY, L. A.; DAVIS, D. A. On demand feeding and the response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to varying dietary protein levels in semi-intensive pond production. **Aquaculture**, 574, 739698. 2023.

TABBARA, M.; STREBEL, L.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; MORAIS, S.; DAVIS, D. A. Use of passive acoustic monitoring to evaluate the effects of a feed effector on feeding behavior, growth performance, and salinity stress tolerance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 582, 740499. 2024.

ULLMAN, C.; RHODES, M.; CLINE, D.; HANSON, T. R.; DAVIS, D. A.; Effects of four different feeding techniques on the pond culture of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 50, 54-64. 2019a.

ULLMAN, C.; RHODES, M. A.; DAVIS, D. A. Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 498, 44-49. 2019b.

WALSH, S.; NGUYEN, K.; STREBEL, L.; RHODES, M.; DAVIS, A. Utilising feed effectors and automated feeders for Semi-intensive pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. **Aquac Fish Fish**, 2, 540-551. 2022.

4. CAPÍTULOS DA TESE

CAPÍTULO I

Avanços recentes e aplicações do monitoramento acústico passivo na avaliação do comportamento alimentar de camarões em condições de laboratório

(Artigo de revisão a ser submetido para o periódico *Reviews in Aquaculture*)

Resumo

A bioacústica, em especial os estudos com monitoramento acústico passivo (PAM), somam-se atualmente a outras metodologias etológicas não invasivas para auxiliar na construção do conhecimento sobre o comportamento alimentar de camarões em laboratório. A presente revisão busca reunir os avanços recentes e as diferentes aplicações do PAM direcionadas exclusivamente para avaliação do comportamento alimentar de camarões em laboratório. Uma descrição de conceitos, termos e metodologias gerais importantes no âmbito da bioacústica foi realizada com o objetivo de facilitar o entendimento da caracterização acústica, metodologias específicas e principais utilizações de PAM em pesquisas com camarões. Dentre as principais contribuições da aplicação de PAM em estudos laboratoriais com camarões, até o presente, pode-se destacar: a caracterização acústica de cliques e estrutura mandibular associada à sua emissão para diferentes espécies; variações em parâmetros acústicos de cliques em função do tamanho dos animais, textura e tamanho dos péletes de ração; e efeitos no comportamento alimentar causados pelo tamanho dos camarões, densidade de estocagem e características específicas de dietas artificiais (textura, formulações, aditivos e tamanhos de pélete). Ao final foram sugeridas algumas perspectivas futuras para estudos laboratoriais com PAM. A revisão ressalta a contribuição do uso PAM que, aliada a outras metodologias etológicas, surge como uma nova ferramenta para pesquisas comportamentais com camarões visando o desenvolvimento da carcinicultura.

1. Introdução

A carcinicultura tem destaque no comércio e economia global com uma produção anual aproximada de 11 milhões de toneladas, o que representa mais do que o dobro da produção de crustáceos oriunda da pesca. Em particular, o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* domina a produção mundial com aproximadamente 6 milhões de toneladas produzidas anualmente, representando mais de 50% da produção total de crustáceos e mais 80% da produção de camarões (FAO, 2022). A alimentação artificial é reconhecidamente o maior custo variável nos sistemas de produção de camarão (REGO et al., 2017; NUNES et al., 2022). Na carcinicultura moderna, o conhecimento sobre o comportamento alimentar dos camarões é um passo fundamental no desenvolvimento de dietas eficientes e otimização de protocolos de manejo alimentar, resultando em múltiplos benefícios nos sistemas de criação. No entanto, estudar este comportamento dos camarões é uma tarefa desafiadora sob vários aspectos. O hábito bentônico e a localização ventral do aparato bucal dificultam a observação da ingestão de alimento, cujo consumo efetivo pode ainda depender de uma vasta gama de fatores ambientais, fisiológicos e intraespecíficos. Além disso, as condições de baixa transparência da água e distribuição dos camarões podem tornar impraticáveis a visualização e rastreamento da atividade alimentar em sistemas de criação. Diferentes estratégias utilizadas em estudos etológicos foram revisadas por Bardera et al. (2019), as quais normalmente incluem métodos de observação visual direta, análises de gravações de vídeo ou visão computacional para avaliar o comportamento alimentar de camarões (isolados ou em grupo) usando aquários de vidro ou tanques translúcidos especialmente concebidos em laboratório.

O monitoramento acústico passivo ou “PAM” (sigla utilizada do inglês “Passive Acoustic Monitoring”), há muito tempo é uma importante ferramenta em estudos sobre comportamento de espécies aquáticas, principalmente de cetáceos (ZIMMER, 2011; FILICCIOTTO e BUSCAINO, 2017), vem sendo recentemente aplicado nas áreas de piscicultura (BÉGOUT et al., 2012; LI et al., 2020; LIU et al., 2022; LI et al., 2024) e carcinicultura (DE TAILLY et al., 2021; LI et al., 2021; REIS et al., 2022; LI et al., 2024). A ênfase é direcionada principalmente pelo potencial desta ferramenta para a avaliação do comportamento alimentar e desenvolvimento de alimentadores automatizados baseados em acústica para espécies aquícolas. Estes sistemas de alimentação automática estão em ampla expansão, contribuindo com o manejo alimentar e desempenho zootécnico na criação de camarões. Porém, as informações acústicas relativas as atividades alimentares processadas por seus algoritmos são protegidas pela indústria, e

não são disponibilizadas mesmo em pesquisas que utilizaram tais sistemas acústicos em larga escala (NAPAUMPAIPOM et al., 2013; JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023). Paralelamente, o uso de PAM tornou-se uma importante alternativa não invasiva para estudar o comportamento alimentar de camarões marinhos (*L. vannamei* e *Penaeus monodon*) e de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*) em condições laboratoriais, uma vez que suas mandíbulas emitem sons característicos durante a ingestão de alimento (SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020a,b; SOARES et al., 2021a,b; HAMILTON et al., 2021; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024).

Esta revisão está focada nas diferentes aplicações do PAM para avaliação do comportamento alimentar de camarões em condições de laboratório, agregando também informações recentes sobre formas de registro, caracterização e interpretação dos sinais acústicos emitidos durante a alimentação. Inicialmente, é feita uma breve descrição de conceitos e termos importantes no âmbito da bioacústica e PAM, assim como de equipamentos e métodos básicos utilizados para gravações e análises acústicas. Posteriormente, são abordados detalhadamente os aspectos relativos ao mecanismo de emissão de som, caracterização acústica e metodologias específicas em estudos de PAM com camarões. Em sequência, são apresentados e discutidos os conhecimentos atuais sobre as principais aplicações e fatores interferentes na avaliação de PAM no comportamento alimentar. Finalmente, são sugeridas algumas questões-chave, para as quais estudos laboratoriais com PAM poderiam contribuir com o conhecimento sobre comportamentos alimentares, assim como de forma mais abrangente para a otimização do manejo alimentar e equipamentos automatizados com base acústica na criação de camarões.

2. Bioacústica e monitoramento acústico passivo

A bioacústica é um ramo da zoologia fortemente relacionado a etologia, incluindo outras ciências como a ecologia, fisiologia e biofísica, e que investiga a produção e recepção de som pelos animais, assim como seu papel para a comunicação intra e interespecífica (OBRIST et al., 2010). O seu desenvolvimento como ciência ocorreu de forma mais efetiva a partir dos anos 50, quando limitações tecnológicas começaram a ser vencidas, disponibilizando métodos mais práticos de registro e análise acústica para a comunidade científica. O progresso de tecnologias eletrônicas e informática, aliados a

miniaturização dos equipamentos, transformaram a maneira como os sons podem ser gravados, armazenados e analisados. Como consequência, a bioacústica passou a ser amplamente aplicada a grupos taxonômicos bem conhecidos por serem acusticamente ativos, tanto em meio terrestre como no aquático (e.g. aves, anuros e mamíferos). Entretanto, atualmente sua aplicação também vem sendo realizada em grupos que, embora sejam menos conhecidos acusticamente, são ricos em espécies como no caso dos crustáceos. Estudos de bioacústica com espécies de crustáceos, tanto direcionados a populações em ambientes naturais (COQUEREAU et al., 2016; POPPER e HAWKINS, 2018; SOLÉ et al., 2023; RADFORD e STANLEY, 2023) como em sistemas de criação (DE TAILLY et al., 2021; LI et al., 2021; REIS et al., 2022; LI et al., 2024), estão abrindo novos horizontes para o conhecimento do comportamento destes animais e desenvolvimento tecnológico da carcinicultura.

O som consiste em ondas de pressão oscilatórias que se propagam em velocidades relacionadas ao meio, sendo cerca de cinco vezes mais veloz na água (1484 m/s a 20°C) do que no ar (343 m/s a 20°C) (OBRIST et al., 2010). Além disso, a energia acústica no meio aquático, propaga-se de forma mais eficiente do que outras formas de energia severamente atenuadas na água (e.g. eletromagnética, térmica, luminosa) (OBRIST et al., 2010; BÉGOUT et al., 2012; GHANI e ISA, 2015). Fato que explica a sua utilização por diversos organismos para desempenhar funções associadas ao seu ciclo de vida, tais como comunicação, navegação, prevenção contra predadores e detecção de presas. Igualmente, aspectos como localização, movimentação, interação social, densidade populacional, entre outros relativos à vida animal aquática, também podem ser estudados através da utilização de técnicas acústicas (AU e HASTINGS, 2008). Neste contexto, o monitoramento acústico passivo (PAM) envolve apenas recepção dos sons de diferentes origens em ambientes aquáticos, não incluindo a sua emissão como no caso da acústica ativa (e.g. ecosondas). Algumas terminologias básicas da área de acústica e relevantes no âmbito desta revisão são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Glossário de termos gerais relativos à área de acústica e ao processo de emissão de cliques de camarões com importância para o monitoramento acústico passivo da atividade alimentar em laboratório.

Termo	Definições / comentários
Acústica geral *	

Amplitude do som	Diferença entre a pressão de pico (corresponde ao pico da onda sonora) e a pressão ambiente. Proporcional à intensidade do som.
Comprimento de onda	Período de uma onda sonora (distância na qual a forma da onda se repete) e inversamente proporcional à frequência.
Espectrograma	Representação visual do som, que mostra a sua frequência e a intensidade ao longo do tempo. Usado para caracterizar os parâmetros acústicos dos cliques, detecção e análises computacionais.
Frequência de Nyquist	Frequência mais elevada que pode ser digitalizada sem introdução de artefatos. Corresponde à metade da taxa de amostragem do dispositivo de digitalização (gravação).
Frequência do som	Número de ciclos de oscilação das ondas sonoras por unidade de tempo. Os ciclos por segundo são medidos em Hertz (Hz) ou Quilohertz (kHz = 1.000 Hz).
Infrasom	Sons abaixo de 20 Hz. Representa o limite inferior de som audível por humanos.
Intensidade do som	Quantidade de energia que a onda sonora transporta por unidade de tempo por área (potência/área). Expressada em decibéis (dB).
Largura de banda	Abrangência total de frequências presentes no som emitido.
Oscilograma	Representação visual do som que mostra as alterações na amplitude ao longo do tempo. Usado normalmente para analisar duração do clique.
Pico de frequência	Frequência dominante, que contém a energia sonora mais elevada.
Pressão do som	Desvio da pressão local em relação à pressão atmosférica ambiente produzida pelas ondas sonoras. No meio aquático é expressa como dB re 1 μ Pa
Pulso sonoro	Fisicamente, um único pulso ininterrupto de ondas isolado no tempo por uma redução significativa da amplitude.
Reverberação	Fenômeno criado quando um som incide sobre superfície refletiva, fazendo com que se prolongue mesmo após interrupção na fonte de origem.
Som	Ondas de pressão longitudinais que viajam através de um meio como o ar (343 m/s a 20°C) ou a água (1484 m/s a 20°C).
Som audível	Definido como o som perceptível pelo ser humano que vai de 20 Hz a 20 kHz.
Taxa de amostragem	Número de medições da amplitude por segundo ao digitalizar uma onda sonora. Por exemplo, uma taxa de amostragem de 96 kHz resulta em 96 mil amostras de medição da amplitude por segundo.
Ultrasom	Frequências sonoras acima de 20 kHz. Representa o limite superior de som audível por humanos.
Acústica de camarões**	
Clique	Pulso sonoro emitido pela oclusão mandibular de um camarão durante a atividade alimentar.
Duração do clique	Tempo de duração de um único clique, medido do início ao fim do pulso sonoro.

Duração do trem	Tempo de duração de sequência de cliques, medido do início do primeiro clique até o final do último clique.
Intervalo clique-a-clique	Tempo entre dois cliques consecutivos (normalmente em trem), medido entre o fim de um clique e o início do clique consecutivo.
Raspado	Som produzido por uma sequência de pulsos sonoros agrupados de forma ininterrupta. Reportando apenas para <i>M. rosenbergii</i>
Taxa de cliques	Número de cliques emitidos, por um ou mais camarões, em intervalo de tempo definido (e.g. cliques por minuto).
Trem	Sequência de cliques produzida por um camarão, os quais apresentam características acústicas semelhantes e são separados por curto intervalo de tempo (não suficiente para nova oclusão mandibular).

* AU e HASTINGS, 2008; EVEREST e POHLMANN, 2009; OBRIST et al., 2010

** SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020b; HAMILTON et al., 2021

Assim como uma paisagem reflete o que percebemos visualmente de um ambiente, o termo “paisagem acústica” inclui todos os sons gerados pelos diferentes elementos que compõem este ambiente. Tal paisagem acústica no meio aquático, natural ou artificial, pode conter sons emitidos pelos animais ali presentes, ruídos gerados por fatores naturais (e.g. chuva, trovões, ondas, etc.) e ruídos oriundos de ações antrópicas (e.g. motores de embarcações, buzinas, equipamentos aquícolas, etc.). As propriedades básicas do som referem-se a sua frequência mínima e máxima (Hertz, Hz ou Quilohertz, kHz), pico de frequência (onde a energia máxima do sinal está concentrada), intensidade (decibéis, dB) e duração (milissegundo, ms ou segundo, s). A frequência é expressa em ciclos por segundo (Hz) e, apesar da audição humana estar limitada entre aproximadamente 20 Hz até 20 kHz, a banda de frequência de emissão de sons dos animais podem prolongar-se abaixo (infrassons) ou acima (ultrassons) deste limite.

A notação decibel (dB) tem sido tradicionalmente utilizada para descrever a intensidade e pressão das ondas acústicas. A intensidade sonora é a energia que a onda transporta por unidade de tempo por área (potência/área) quantificada em decibéis, uma unidade de medida adimensional que compara a intensidade de um sinal a um nível de referência do limiar de audibilidade (0 dB) numa escala logarítmica de base 10 (\log_{10}). Assim como a intensidade, o nível de pressão sonora (SPL) medido em decibéis, é outra medida logarítmica da pressão efetiva de um som em relação a um valor de referência, que no caso do meio aquático é de $1\mu\text{Pa}$, sendo expresso em “dB re $1\mu\text{Pa}$ ”, onde “re” refere-se à abreviação do termo “referência”. A utilização destas razões é uma conveniência na área de acústica, uma vez que expressar valores em decibéis é mais

conveniente e compreensível em relação a forma como ouvimos a intensidade dos sons (AU e HASTINGS, 2008; EVEREST e POHLMANN, 2009).

Sendo assim, para estudos com PAM, necessitamos de ferramentas de *hardware* e *software* tecnicamente adequadas para realizar a captação, gravação e análise dos sons que compõem uma paisagem acústica, abrangendo amplas larguras de banda no ambiente aquático.

3. Equipamentos básicos para coleta e análise acústica

No meio aquático, o PAM utiliza tipicamente um conjunto de equipamentos formado pelo hidrofone, equivalente ao microfone no ambiente aéreo, e gravador digital. Os hidrofones são sensores, geralmente omnidirecionais, que transduzem o som propagado na água em sinal elétrico. Tais equipamentos possuem um elemento piezoelétrico que produz uma corrente quando comprimido por ondas sonoras em frequências que podem variar entre poucos Hz a mais de 200 kHz, dependendo de suas especificações técnicas. Os gravadores digitais, por sua vez, registram o tempo e intensidade (energia) dos sons detectados pelo hidrofone, permitindo através dos processadores de sinal a conversão (analogico/digital) e reconstituição dos sinais acústicos ao longo do tempo. Estes dados podem ser armazenados em discos rígidos ou cartões de memória para análise futura ou serem processados em tempo real por algoritmos computacionais.

O hidrofone e o gravador utilizados em estudos com PAM podem estar integrados em um único equipamento autônomo, que opera submerso por vários dias com auxílio de uma bateria interna, como por exemplo o SoundTrap 300 da Ocean Instruments, Nova Zelândia (Figura 1A). Porém, estes equipamentos também podem operar em separado, onde apenas o hidrofone permanece submerso e se conecta através de cabo coaxial a um gravador digital externo, o qual pode possuir diferentes canais que permitem a conexão de múltiplos hidrofones. Como por exemplo no conjunto formado por até seis hidrofones AS-1 da Aquarian Hydrophones, EUA e o gravador digital modelo F6 da ZOOM, EUA (Figura 1B). Esta última alternativa pode ser uma solução mais adequada, e com menor custo, para estudos com PAM realizados em corpos de água artificiais (e.g. viveiros ou tanques de aquicultura) com proximidade da margem ou estrutura de apoio para abrigar o gravador. Já ambientes aquáticos naturais (ou mesmo artificiais) de grandes dimensões tornam inviável a conexão por cabo entre o hidrofone e o gravador digital, favorecendo assim o uso de hidrofones autônomos. Entretanto, outras situações específicas relativas a

diferentes sistemas aquícolas (e.g. viveiros, tanques ou gaiolas) e aplicações de estudos com PAM, devem ser consideradas na escolha destes equipamentos em consonância com suas especificações técnicas.

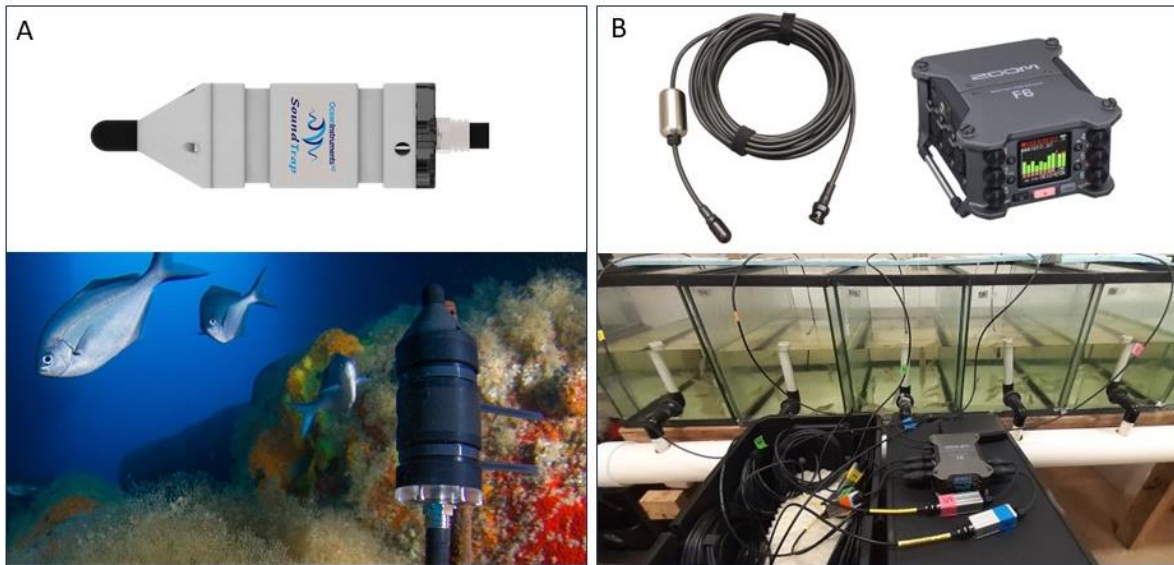


Figura 1. Equipamentos utilizados em testes de monitoramento acústico passivo envolvendo caracterização de cliques e comportamento alimentar de camarões em laboratório. As fotos na parte superior mostram os equipamentos isolados, e na inferior exemplos de sua aplicação. A) Equipamento autônomo SoundTrap 300 (Ocean Instruments, Nova Zelândia) e sua instalação junto ao fundo em ambiente natural. Fotos do fabricante disponíveis em www.oceaninstruments.co.nz. B) Conjunto de equipamentos formado por hidrofone AS-1 (Aquarian Hydrophones, EUA) e gravador digital ZOOM F6 (ZOOM, EUA), a esquerda e direita, respectivamente, e exemplo de seu uso com cinco hidrofones em aquários com camarões. Fotos dos fabricantes disponíveis em www.aquarianaudio.com (esquerda) e www.zoomcorp.com (direita), e foto abaixo de arquivo pessoal.

Uma contribuição importante para estudos com bioacústica foi o desenvolvimento de *softwares* e algoritmos especializados que facilitaram a análise (e.g. classificação e detecção) dos sons presentes em uma paisagem acústica (VIELLIARD, 2000). Diversos softwares estão disponíveis atualmente para executar desde tarefas simples, como a observação gráfica de sinais acústicos, até análises complexas de interpretação destes sinais, tais como Raven, Matlab, Adobe Audition e algoritmos de aprendizagem profunda (LINDSETH e LOBEL, 2018; WEI et al., 2022; LI et al., 2024). Os sinais acústicos podem ser exibidos graficamente através de oscilogramas, que revelam as alterações temporais da amplitude do som, ou na forma de espectrogramas que ilustram a distribuição da energia contida no sinal sonoro nas diferentes frequências em cada

momento. Este último, é uma das formas mais usadas de representação do som, indicando a ocorrência e evolução da estrutura da frequência de um sinal (Hz ou kHz; eixo y) ao longo do tempo (s ou ms; eixo x) com a sua energia (dB) representada por uma escala de cores. Exemplos de espectrogramas relativos a sinais acústicos de camarões serão apresentados adiante nas figuras 3 e 5 (itens 5 e 6, respectivamente).

O objetivo da análise computacional de paisagens ou eventos acústicos é extrair informações do áudio, as quais irão depender da aplicação do estudo com PAM. No entanto, de forma geral, na etapa de classificação, busca-se categorizar uma gravação de áudio num conjunto de categorias predefinidas e peculiares ao ambiente estudado (e.g. sons emitidos por animais, equipamentos, embarcações, chuva, etc.). Já na detecção de eventos acústicos, o objetivo é localizar as ocorrências de tipos específicos de sons ao longo do tempo, obtendo informações sobre cada instante em que estes ocorrem, ou padrões temporais em que estão ativos (e.g. investigar o ritmo circadiano em comunidades de organismos no ambiente ou monitorar atividade alimentar de organismos cultivados). Estas tarefas básicas de detecção e classificação exigem a utilização de várias técnicas e algoritmos relacionadas com o processamento de sinais de áudio e a aprendizagem de máquina (VIRTANEN et al., 2018).

4. Produção de som durante a alimentação de camarões

Os crustáceos apresentam diversos mecanismos para emissão de sons associados a situações ou comportamentos específicos, de forma intencional ou involuntária (COQUEREAU et al., 2016). Os sons produzidos intencionalmente podem estar atribuídos a comportamentos sexuais, territoriais e sociais (POPPER et al., 2001; BOON et al., 2009; BOHNENSTIEHL et al., 2016), enquanto outras atividades emitem sons involuntários, como a movimentação no substrato, natação e alimentação (SMITH e TABRETT, 2013; COQUEREAU et al., 2016; SILVA et al., 2019). Um exemplo típico de som emitido intencionalmente, e marcante em paisagens acústicas marinhas, é gerado pelo camarão-de-estalo ou camarão-pistola (gênero *Alpheus*) através do rápido fechamento de seu quelípodo especializado, produzindo uma bolha de cavitação com alta energia acústica para marcar território ou atordoar seus predadores e presas (LILLIS et al., 2017). Os caranguejos e siris (infra-ordem Brachyura) produzem sons de tambor, batidas e raspados durante rituais de corte e comportamento agonístico, envolvendo geralmente o cefalotórax ou seus apêndices para percussão ou raspagem (FILICIOTTO et al., 2019; SAL MOYANO et al., 2019; CERAULO et al., 2022). Na presença de

predadores, as lagostas do gênero *Homarus* contraem músculos específicos para vibrar sua carapaça e emitir um zunido (JÉZÉQUEL et al., 2018). Em circunstâncias semelhantes, as lagostas do gênero *Palinurus* produzem um som intenso de raspado gerado pelo sistema estridulatório localizado na base das antenas, análogo ao mecanismo de fricção entre o arco e as cordas de um violino (PATEK e BAIIO 2007; HAMILTON et al., 2019).

Entre os sons produzidos involuntariamente por crustáceos, característicos da paisagem acústica de ambientes aquáticos, estão os produzidos pela atividade alimentar de camarões (RADFORD et al., 2008). No primeiro estudo de PAM com população de camarões peneídeos (*Litopenaeus setiferus*) em áreas pesqueiras no Golfo do México, o som gravado foi descrito como semelhante ao de "fritura" (BERK et al., 1998). Ainda neste estudo, foram capturados exemplares vivos para identificar acusticamente os sons emitidos em atividades como alimentação, fuga e escavação em laboratório. Os autores concluíram que o som de "fritura" característico de populações selvagens de *L. setiferus*, seria, na verdade, um conjunto de pequenos "estalos" produzidos durante a atividade alimentar dos indivíduos. Entretanto, apenas mais recentemente tais observações foram confirmadas em laboratório através da análise sincronizada entre gravações de vídeo e áudio captado por hidrofone durante a alimentação de *P. monodon* (SMITH e TABRETT, 2013), *L. vannamei* (SILVA et al., 2019) e *M. rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021). Para estas espécies, ficou evidenciado que os sons chamados atualmente de "cliques" são emitidos quando o par de dentes incisivos da mandíbula, fortemente calcificados, colidem um com o outro para quebrar o alimento (Figura 2). Evolutivamente, os camarões passaram a incluir fosfato de cálcio para fortalecer suas mandíbulas (BENTOV et al., 2016), o que justificaria a produção do som de um clique tão distinto acusticamente através do choque destas estruturas.

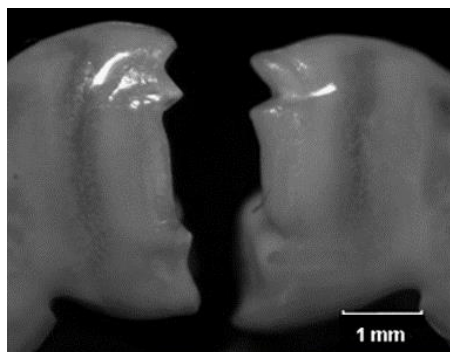


Figura 2. Par de mandíbulas removidas de um camarão adulto (*L. vannamei*) com peso de 35 g e comprimento de carapaça de 33 mm.

Os camarões peneídeos utilizam seus pereiópodes quelados para capturar e transferir o alimento para os apêndices bucais localizados ventralmente, os quais trabalham em movimentos coordenados durante a ingestão de alimentos, com exceção das mandíbulas que funcionam de forma independente (HUNT et al., 1992). Enquanto os pereiópodes e maxilípedes são responsáveis pela manipulação e inserção do alimento na região mandibular, as primeiras maxilas posicionam o alimento antes da oclusão mandibular. Após a sua oclusão, e consequente emissão do som de clique, as mandíbulas reabrem e o labrum raspa o alimento para dentro da boca, processo que é repetido sucessivamente durante o consumo alimentar (HUNT et al., 1992; SMITH e TABRETT, 2013). O movimento de oclusão mandibular foi estimado em 300 ms para *P. monodon* (SMITH e TABRETT, 2013), enquanto o ciclo completo de abdução e adução das mandíbulas durou aproximadamente 733 ms para *M. rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021). Apesar do processo de ingestão semelhante, as mandíbulas dos camarões carídeos *M. rosenbergii* possuem um dente molar interno, além dos dentes incisivos frontais (KAWAMURA et al., 2018; HAMILTON et al., 2021). Sugere-se que a função deste molar estaria associada a trituração do alimento (KAWAMURA et al., 2018), gerando assim assinaturas sonoras adicionais, soando como “raspados” durante a alimentação da espécie (HAMILTON et al., 2021). Além disso, a ocorrência ocasional de cliques em série (ou “trens”) foi reportada para *L. vannamei* (2 a 8 cliques) e *M. rosenbergii* (2 a 15 cliques) cuja emissão poderia ser atribuída a movimentos de fricção ou trituração pelas mandíbulas (PEIXOTO et al., 2020a; HAMILTON et al., 2021). Nestes casos, o intervalo de tempo médio de clique-a-clique (20 ms) e a duração total dos “trens” (16 a 142 ms) para *L. vannamei*, sugerem que estes não poderiam ser gerados por nova oclusão mandibular. Recentemente, Hamilton et al. (2024) reportaram que comprimento da mandíbula de *L. vannamei*, em classes de tamanho de 0,01 a 12 g, apresentou relações lineares significativas com os parâmetros acústicos dos cliques, tornando possível prever as características acústicas em função do crescimento dos camarões.

5. Características do som emitido por camarões

Os principais parâmetros acústicos analisados nos cliques emitidos durante a atividade alimentar de camarões em laboratório são: frequência mínima e máxima, pico de frequência (onde a energia máxima do sinal está localizada), energia e duração do sinal (Figura 3). Estes parâmetros estão resumidos na tabela 2 para espécies de camarões

marinhos e uma espécie de água doce, utilizadas até o presente em estudos com PAM para caracterização de cliques em laboratório. As variações observadas entre os parâmetros acústicos nestes estudos podem ser explicadas por diferenças nas especificações técnicas dos equipamentos (e.g. hidrofone, taxa de amostragem e ganho do gravador), no ambiente de registro acústico (e.g. material, tamanho e formato do tanque, isolamento acústico dos tanques), no tipo de alimento fornecido (e.g. tamanho e dureza dos péletes de ração) e nos aspectos biológicos (e.g. espécie e tamanho dos camarões).

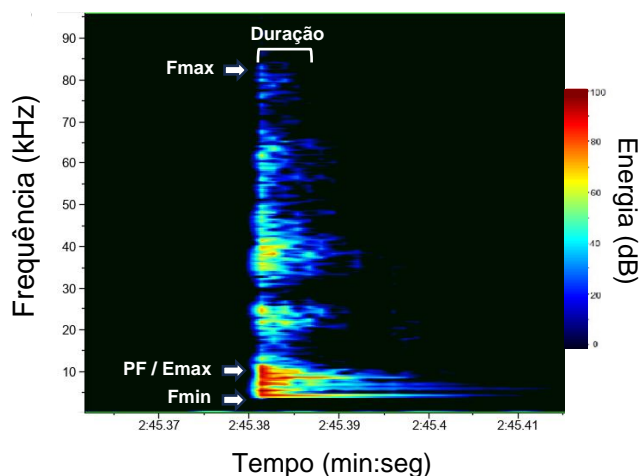


Figura 3. Espectrograma acústico de um clique de *L. vannamei* gerado pelo choque das mandíbulas durante o consumo de ração, com indicação dos parâmetros de frequência máxima (Fmax), frequência mínima (Fmin), pico de frequência (PF), energia máxima (Emax) e duração. A barra colorida ao lado direito da figura indica a energia em decibéis (dB). Este espectrograma corresponde a uma ampliação do clique indicado por um asterisco na figura 5C.

O primeiro registro de duração de cliques para *L. setiferus* foi 40 ms (BERK et al., 1998), que é pelo menos 10 vezes mais longo do que os reportados posteriormente para *P. monodon* (SMITH e TABRETT, 2013), *L. vannamei* (SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020a,b) e *M. rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021). Este fato pode ser atribuído a fenômenos de ressonância e reverberação sonora de sinais emitidos por crustáceos em tanques, levando ao aumento da duração destes sons (JÉZÉQUEL et al., 2022). Além disso, foi observada uma menor duração de cliques em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei* em câmaras anecoicas (PEIXOTO et al., 2020a,b; HAMILTON et al., 2024), revestindo-se internamente os tanques com espuma acústica (desenho esquemático consta na figura 4), quando comparado com este som registrado em aquários de vidro

(SILVA et al., 2019). A espuma minimiza as distorções sonoras observadas em outras superfícies da parede dos tanques (e.g. plástico, fibra de vidro ou vidro), evitando assim uma sobrestimação da duração do sinal acústico (JÉZÉQUEL et al., 2022). Entretanto, para efeitos de detecção de cliques (ver item 6) e análise do comportamento alimentar de camarões (e.g. taxa de emissão de cliques ao longo do tempo), potenciais variações de milissegundos na duração dos cliques poderiam ser desconsideradas. Portanto, o uso de câmaras anecoicas tem sido recomendado apenas para caracterizações precisas de cliques em ensaios experimentais específicos (e.g. rações com diferentes formulações, texturas ou tamanhos de péletes), uma vez que estas podem trazer dificuldades na rotina de manejo em experimentos com camarões, tais como para o recolhimento de alimentos fornecidos e limpeza dos tanques revestidos com espuma (PEIXOTO et al., 2020b).

Tabela 2. Parâmetros acústicos de cliques isolados para diferentes espécies de camarões, classes de peso (g), características do tanque e taxas de amostragem da gravação (TA; kHz) durante a atividade alimentar (ração) em laboratório. Os dados estão ordenados por espécies (ordem alfabética) e classe de peso (ordem crescente). Os valores apresentados (mínimo-máximo ou médio) se referem aos seguintes parâmetros acústicos: duração do som (D; ms), frequência mínima (Fmin; kHz), frequência máxima (Fmax; kHz), pico de frequência (PF; kHz), energia (E; dB) e nível de pressão sonora (SPL; dB re 1 μ Pa).

Espécie	Peso	Tanque	TA	D	Fmin	Fmax	PF	E	SPL	Referência
<i>L. vannamei</i>	0,01-12,2	Câmara anecoica (55×35×30 cm; 30 L)	288	0,4-0,5	3,9-16	57,3-102,8	14,1-42,7	20,8-44,8	n.i.	Hamilton et al., 2024
<i>L. vannamei</i>	0,04-0,5	Plástico (48×28×16 cm; 21 L)	96	3,1-3,5	12-21,6	>48*	33,0 - 33,4	85,9-99,4	n.i.	Peixoto et al., 2020c
<i>L. vannamei</i>	10,2	Câmara anecoica (35×20×17 cm; 15 L)	96	2,7-2,9	2,2-3,2	45,7-47,9	11,3-14,0	92,4-96,2	n.i.	Peixoto et al., 2020a
<i>L. vannamei</i>	20,5	Câmara anecoica (35×20×17 cm; 15 L)	96	2,4-2,5	3,8-4,1	47,5-47,7	15,5 -18,3	90,1-91,4	n.i.	Peixoto et al., 2020b
<i>L. vannamei</i>	31,4	Aquário vidro (48×24×38 cm; 31 L)	96	4,5-4,9	3,1-3,8	34,9-39,5	9,6-12,9	79,9-83,9	n.i.	Silva et al., 2019
<i>L. vannamei</i>	n.i.	Aquário vidro (40×20 cm)	100	8-10	2	10	5	78	n.i.	Wei et al., 2020
<i>L. vannamei</i>	n.i. **	n.i.	n.i.	8-10	5	45	10-17	n.i.	n.i.	Cao et al., 2022a ***
<i>M. rosenbergii</i>	2,7-29,4	Câmara anecoica (55×35×30 cm; 40 L)	96	2,6-3,2	3,3-4,4	45,2-47,9	9,6-10,8	83,1-93,2	116,6-129,5	Hamilton et al., 2021
<i>P. monodon</i>	n.i.	Circular (\varnothing =1.9 m; 2000 L)	48	0,4-0,7	n.i.	n.i.	4-8,5	121,1-132,9	n.i.	Smith e Tabrett, 2013
<i>P. setiferus</i>	n.i.	n.i.	24	40	n.i.	n.i.	2-8	n.i.	112	Berk et al., 1998 ****

n.i. = Não informado no artigo

* Valor maior que a frequência de Nyquist ** Comprimento total = 9-10 cm *** Artigo publicado em idioma chinês apenas com resumo em inglês **** Tipo de alimento não informado no artigo

A taxa de amostragem utilizada em gravações da atividade alimentar de camarões é um dos fatores limitantes para o registro das frequências máximas atingidas pelo som dos seus cliques (Tabela 2). O teorema de Shannon-Nyquist determina que a taxa de amostragem mínima de gravação para reproduzir fielmente um sinal acústico, deve ser igual ou superior ao dobro da frequência mais elevada deste sinal, sendo também chamada de frequência de Nyquist (AU e HASTINGS, 2008). Inicialmente, foram utilizadas taxas de amostragem de apenas 24 e 48 kHz para caracterizar os cliques emitidos por *L. setiferus* (BERK et al., 1998) e *P. monodon* (SMITH e TABRETT, 2013), respectivamente. Embora estes autores não tenham indicado a faixa de frequência dos cliques emitidos por estas espécies, tais taxas de amostragem (24 e 48 kHz) limitam o registro de frequências máximas em 12 e 24 kHz, respectivamente. Efetivamente, cliques com frequências máximas de até 48 kHz vêm sendo reportados para camarões adultos de *L. vannamei* (SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020a,b) e *M. rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021) em gravações realizadas com taxa de amostragem de 96 kHz. Entretanto, o emprego de taxas ainda mais elevadas foi sugerido para caracterização mais precisa de cliques de camarões (PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2021). Fato comprovado recentemente, quando cliques com frequências máximas em torno de 100 kHz foram observados para *L. vannamei* utilizando taxa de amostragem de 288 kHz (HAMILTON et al., 2024). Cabe ressaltar, que tais frequências máximas superam largamente nosso limite auditivo (~20 kHz), sendo necessário o uso de softwares para sua visualização completa, detecção e análise de dados.

Outro aspecto a ser considerado no emprego de elevadas taxas de amostragem em gravações, está relacionado ao tamanho excessivo dos arquivos sonoros gerados (e.g. “Waveform Audio File Format”; WAV), os quais necessitam de alta capacidade para armazenamento, velocidade de transmissão e performance de processamento dos dados. Assim, o tamanho em bytes de um arquivo pode ser calculado pela seguinte fórmula: $TA \times R/8 \times C \times t$, onde TA = taxa de amostragem em Hz (e.g. 48.000 ou 96.000 Hz); R = resolução em bits (e.g. 16 ou 24 bits, dividido por 8), C = número de canais de áudio (1 ou 2 canais) e t = tempo em segundos. Neste contexto, vale lembrar que muitas fazendas de camarões estão localizadas em áreas isoladas de regiões costeiras, com acesso limitado à internet, dificultando a transmissão e o intercâmbio de dados entre dispositivos de internet das coisas (IoT), necessários em alimentadores automáticos baseados em acústica. Desta forma, assim

como mencionado anteriormente para o emprego de câmaras anecoicas, recomenda-se gravações em altas taxas de amostragem apenas para situações laboratoriais específicas que necessitem uma caracterização mais precisa dos cliques, pois estes podem ser detectados em frequências máximas inferiores a 48 kHz para fins de avaliação da atividade alimentar (HAMILTON et al., 2024).

Em relação a frequência mínima dos cliques emitidos por camarões, os estudos realizados indicam que esta varia entre 2 e 16 kHz (Tabela 2). Este fato merece atenção em sistemas aquícolas, pois os sons produzidos por equipamentos (e.g. aeradores, bombas de água e geradores) estão concentrados normalmente em frequências abaixo de 5 kHz (BART et al., 2001; DAVIDSON et al., 2007; RADFORD e SLATER, 2019; SLATER et al., 2020), podendo sobrepor o limite inferior da largura de banda dos cliques produzidos pelos camarões. Entretanto, além dos cliques ocuparem um amplo espectro sonoro conforme discutido anteriormente, o seu pico de frequência (e energia máxima) está localizado entre 5 e 42 kHz (Tabela 2), o que constitui uma vantagem na detecção da atividade alimentar dos camarões mesmo em paisagens acústicas com ruídos produzidos por equipamentos (PEIXOTO et al., 2022).

A energia emitida pelos cliques, durante o choque das mandíbulas, tem sido um dos principais parâmetros acústicos utilizados na avaliação da atividade alimentar de camarões em ambiente de laboratório e viveiros de criação (SMITH e SHAHRIAR, 2013; SMITH e TABRETT, 2013; PEIXOTO et al., 2020a,b). Assim como os demais parâmetros dos cliques, a energia pode ser afetada pelas características do equipamento e ambiente de gravação, o que dificulta a comparação direta entre as diferentes espécies de camarões e condições experimentais (Tabela 2). Os parâmetros acústicos devem ser comparados entre gravações obtidas em condições normalizadas, como por exemplo realizadas com o mesmo modelo de gravador e seus ajustes de regulação, modelo e posicionamento de hidrofones, entre outras características gerais do ambiente de gravação e desenho experimental (e.g. tipo e formato de tanque, número e tamanho de camarões, nível de ruído local). A energia sonora produzida pelos cliques se destaca na paisagem acústica, permitindo que sejam detectados individualmente (e.g. razão entre energia do clique e do ruído sobreposto) ou de forma coletiva dentro de janelas de tempo específicas (e.g. energia total produzida por cliques em intervalos de segundos/minutos) com uso de algoritmos ou softwares especializados,

conforme está exemplificado adiante no item 6.

As características dos cliques têm sido utilizadas para identificar eventos de alimentação e avaliar o comportamento alimentar dos camarões, tanto em experimentos controlados de laboratório (SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020a,b; SOARES et al., 2021a,b; HAMILTON et al., 2021; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024), como em estudos de larga escala com uso de alimentadores automáticos, embora neste caso os parâmetros acústicos processados pelos algoritmos não sejam revelados (JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023).

6. Métodos para aplicação de PAM em laboratório

A observação da manipulação e ingestão de alimento pelos camarões é dificultada pelo seu hábito bentônico, localização ventral do aparato bucal na região cefálica e rapidez de movimentação dos apêndices envolvidos nestes processos, necessitando tipicamente de análise quadro a quadro de gravações vídeo em aquários de vidro ou acrílico (HUNT et al., 1992; NUNES e PARSONS, 1998; SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019). Além disso, estudos de etologia têm aplicado diferentes métodos para estudar o comportamento alimentar dos camarões em laboratório para contribuir com o desenvolvimento de dietas e protocolos de manejo alimentar (para revisão ver BARDERA et al., 2019a). Esses métodos incluem geralmente observações visuais diretas do comportamento alimentar de camarões isolados ou em pequenos grupos (SANCHEZ et al., 2005; NUNES et al., 2006; OBALDO e MASUDA, 2006; AHAMAD-ALI et al., 2007; PONTES et al., 2008; LIMA et al., 2009; SURESH et al., 2011; SILVA et al., 2012; DERBY et al., 2016) ou em gravações de vídeo realizadas em tanques translúcidos com uma ou múltiplas câmaras, ou ainda em formato “Y” (HUNT et al., 1992, NUNES e PARSONS, 1998; BARDERA et al., 2019b). Apesar das dificuldades impostas pela anatomia bucal e intenso trabalho observacional, estudos nessa linha formam a base de conhecimentos sobre importantes mecanismos de detecção e estimulação química envolvidos na atividade alimentar, assim como sobre vários repertórios comportamentais associados a movimentação repetida de apêndices no cefalotórax dos camarões (BARDERA et al., 2019a).

As peculiaridades da carcinicultura também impõem inúmeros desafios para a

observação dos animais, uma vez que certas condições ambientais (e.g. profundidade e transparência da água) e de criação (tipo de tanque ou viveiro, sistema de produção, densidade de estocagem e tamanho dos camarões) podem tornar impraticável o rastreamento e a visualização de seu comportamento alimentar. Neste caso, estudos sobre o comportamento alimentar dos camarões têm sido baseado na análise do conteúdo estomacal (NUNES et al., 1997; SOARES et al., 2005), métodos de isótopos estáveis (NUNES et al., 1997; BURFORD et al., 2004; SU et al., 2008) e uso de bandejas de alimentação (MARTINEZ-CORDOVA et al., 1998; CASILLAS-HERNANDEZ et al., 2006), as quais demandam muito tempo e trabalho para serem realizadas e podem não revelar informações detalhadas sobre variações pontuais da atividade alimentar.

De forma geral, os aspectos inerentes a biologia e criação de camarões não são obstáculos para o monitoramento da atividade alimentar com o uso de PAM (SMITH e TABRETT, 2013; PEIXOTO et al., 2020b; REIS et al., 2022). Além disso, alimentadores automatizados baseados em acústica têm melhorado o manejo alimentar e, conseqüentemente, o desempenho zootécnico na criação de camarões em viveiros (JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019 a,b; REIS et al., 2020, 2021). Neste contexto, Smith e Tabrett (2013) apontaram três fatores positivos sobre a utilização de PAM. Primeiramente, as estimativas em tempo real do consumo da ração fornecida nos viveiros são mais precisas do que as realizadas em bandejas a partir de alimentações anteriores. Em segundo lugar, o som gerado pelas mandíbulas pode ser útil para identificar quando e onde os camarões se alimentam nos viveiros. Por último, a mão de obra necessária para fornecer a alimentação dos camarões pode ser reduzida com o uso de PAM em alimentadores automatizados. Embora esta tecnologia seja atualmente uma realidade na carcinicultura mundial, diversos aspectos subjacentes ao uso de sistemas acústicos não foram investigados pela comunidade científica e/ou não foram divulgados pelas empresas do setor que detêm esta tecnologia. Entretanto, a eficiência do manejo alimentar baseado em acústica depende de pesquisas que abordem diferentes fatores bióticos e abióticos potencialmente associados tanto ao processo de emissão/detecção de cliques, como ao comportamento alimentar dos camarões. Colaborando, ainda, para o aprimoramento de algoritmos e superação de desafios técnicos no desenvolvimento de sistemas automatizados de alimentação acústica.

Assim, o uso de PAM também vem sendo proposto como um método alternativo e

não invasivo para avaliar o comportamento alimentar de camarões em laboratório. Estes estudos utilizam equipamentos acústicos e softwares especializados para analisar os cliques produzidos pelos camarões durante sua atividade alimentar, tanto para caracterizá-los acusticamente em função de diferentes aspectos biológicos (e.g. tamanho e estágio de muda dos camarões) e propriedades físicas dos alimentos (e.g. tipos e tamanhos de péletes de rações), como para relacionar sua taxa de emissão com comportamentos alimentares (e.g. atratividade e palatabilidade de rações). Na figura 4 é apresentado um diagrama estrutural para exemplificar a organização metodológica básica em testes de PAM envolvendo o comportamento alimentar (e.g. aquário) e caracterização de cliques (e.g. câmara anecoica) de camarões em laboratório.

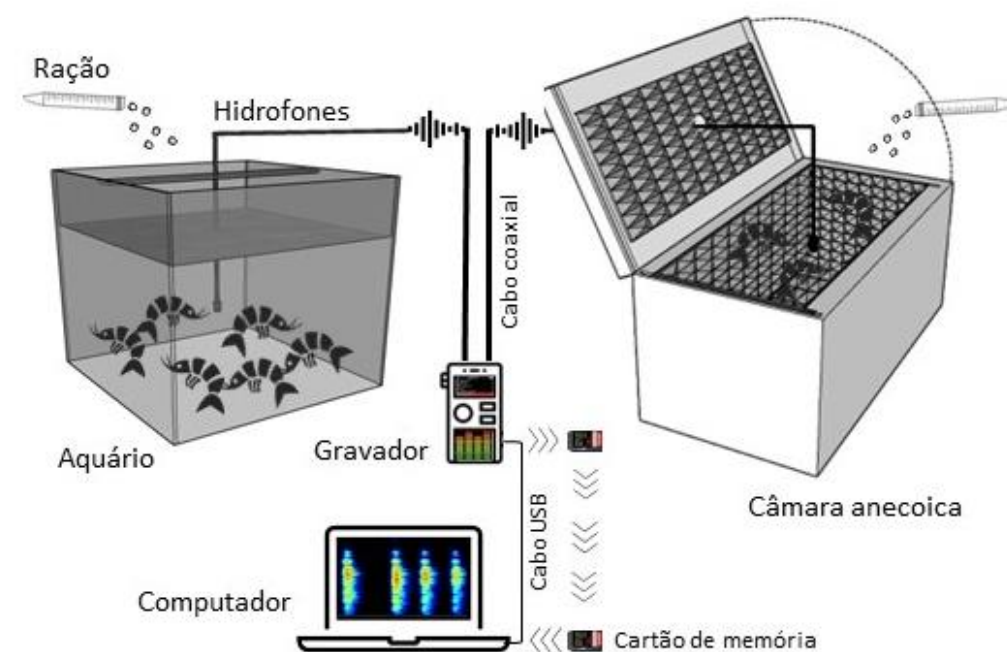


Figura 4. Diagrama estrutural para testes de monitoramento acústico passivo em laboratório. Nestes exemplos, a ração é ofertada para avaliação do comportamento alimentar (e.g. aquário) e caracterização de cliques (e.g. câmara anecoica revestida de espuma) dos camarões. Os hidrofones, posicionados no centro dos tanques, estão conectados a um gravador digital com dois canais de entrada. Os arquivos de áudio da atividade alimentar (aquário e câmara anecoica) são posteriormente transferidos e analisados em computador.

O isolamento dos cliques presentes em gravações da alimentação de camarões é o método utilizado para sua caracterização acústica em diferentes espécies, como *P. monodon* (SMITH e TABRETT, 2013), *L. vannamei* (SILVA et al., 2019) e *M. rosenbergii*

(HAMILTON et al., 2021), conforme discutido no item 5. Além disso, esta análise possibilita avaliar potenciais variações nos parâmetros acústicos dos cliques, por exemplo, em função das técnicas de extrusão e peletização na fabricação de rações, e seus respectivos graus de dureza e umidade (PEIXOTO et al., 2020a; SOARES et al., 2021a), tamanho dos péletes de ração (PEIXOTO et al. 2020b) e tamanho dos camarões (SILVA et al., 2019, SOARES et al., 2021a; HAMILTON et al., 2021; HAMILTON 2024). Em linhas gerais, estes estudos utilizaram softwares de análise acústica para a identificação/isolamento manual ou automático dos cliques sonoros nas gravações de camarões individualizados ou em grupos, mantidos preferencialmente em câmaras anecoicas. Após esta etapa, diversos cliques são selecionados aleatoriamente e caracterizados conforme os parâmetros descritos na figura 3 (e.g. duração, frequências mínima e máxima, pico de frequência e energia), possibilitando assim a sua comparação entre diferentes grupos de camarões e tratamentos experimentais.

Uma outra abordagem em estudos laboratoriais com PAM busca analisar variações na taxa de emissão de cliques e/ou sua energia sonora ao longo do tempo, associando tais variações ao comportamento alimentar dos camarões. Exemplos recentes na literatura comparam o efeito de diferentes formulações/aditivos em rações no comportamento alimentar, trazendo informações relevantes sobre a atratividade e palatabilidade destas rações (SOARES et al., 2021b; PEIXOTO et al., 2022; TABBARA et al., 2024). Nestes casos, pelo menos duas metodologias de análise acústica vêm sendo adotadas para avaliar gravações da atividade alimentar de grupos de camarões em laboratório, que embora sejam aplicadas separadamente, estão exemplificados num mesmo espectrograma na figura 5. A primeira avalia a energia sonora contida em curtos intervalos de tempo (e.g. 10 ou 15 s), gerados automaticamente por softwares de análise acústica ao longo do período total de gravação (e.g. 30 min). Assim, os valores de energia (dB) calculados para cada intervalo refletem a intensidade da atividade alimentar (i.e. emissão de cliques) ao longo do período analisado, demonstrando uma correlação positiva entre a energia total acumulada com o consumo de ração (g) pelos camarões durante este período (SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al. 2020a,b; SOARES et al., 2021b). A segunda metodologia, reportada recentemente, utiliza detectores de energia acústica ajustados com parâmetros-alvo específicos (i.e. frequência mínima e máxima, razão entre som e ruído, duração do sinal e intervalo mínimo entre sinais) para identificar automaticamente os cliques nos espectrogramas das gravações (PEIXOTO et al.,

2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024). Os dados gerados indicam o tempo (ms) em que ocorrem os cliques emitidos pelos camarões, sendo então calculada a sua distribuição de frequência (e.g. número de cliques por minuto) ao longo do período total de registro. Assim como na aplicação da primeira metodologia, os estudos reportam correlações positivas entre o número de cliques emitidos e o consumo de ração pelos camarões (PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024). Peixoto et al. (2022) apontaram algumas vantagens do método de detecção automática de cliques nos estudos de PAM em laboratório: (1) identificação de cliques com menor interferência de ruídos externos; (2) registrar o momento exato em que cada clique ocorre nas gravações da atividade alimentar; e (3) evitar interferências na energia acústica devido à ruídos e reverberação dos cliques no tanque ou aquário.

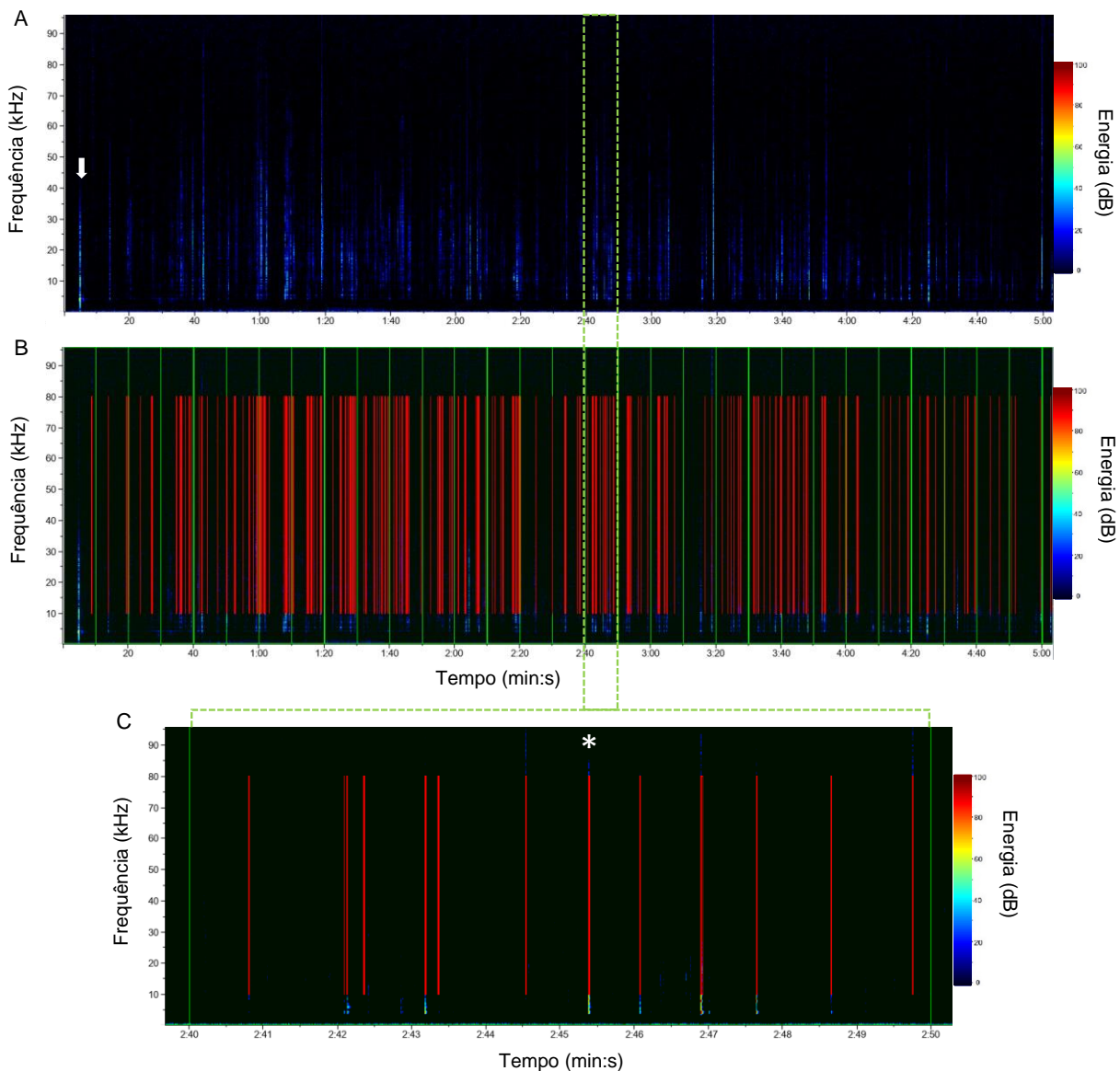


Figura 5. Espectrogramas acústicos produzidos no software Raven Pro, a partir da gravação dos 5 primeiros minutos (tempo em min:s) de atividade alimentar de *L. vannamei* em laboratório (aquário 70 L; 10 camarões com peso médio = 6,8 g; 1g de ração comercial). A) Espectrograma original de gravação com taxa de amostragem de 192 kHz (frequência máxima no eixo y = 96 kHz), mostrando uma intensa ocorrência de cliques após o oferecimento de ração (seta branca). B) Exemplo dos processos de geração automática de intervalos temporais de 10 s (traços contínuos verdes) e detecção automática de cliques (traços vermelhos) no espectrograma original. C) Vista ampliada correspondente a um dos intervalos de 10 s (2:40 a 2:50) do espectrograma acima (retângulo tracejado verde), mostrando os cliques selecionados automaticamente. Asterisco indica o clique que foi ampliado para gerar o espectrograma da figura 3. A barra colorida no lado direito das figuras indica a energia em decibéis (dB).

Independentemente do método de análise utilizado, uma observação em comum reportada nos estudos com PAM em laboratório, e que merece destaque, é a concentração da atividade alimentar dos camarões nos momentos iniciais (5 a 15 min) após o oferecimento de ração, em testes com duração de 30 minutos (PEIXOTO et al., 2020a,b; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024). Fato este que resulta em correlações significativamente positivas entre os valores de energia ou número de cliques acumulados durante estes momentos iniciais e o consumo de ração ao final dos testes. Tais correlações, não só reforçam a utilidade do PAM para avaliação do comportamento alimentar dos camarões em laboratório, mas também a possibilidade de prever o consumo de ração com base nos dados acústicos coletados durante as fases iniciais de alimentação.

7. Aplicações de PAM no comportamento alimentar de camarões em laboratório

No monitoramento acústico passivo, os cliques emitidos pelos camarões são a fonte primária de informações para inferir sobre sua atividade alimentar em ambiente de criação (SMITH e SHAHRIAR, 2013; SMITH e TABRETT, 2013; PEIXOTO et al., 2020 a,b). Por conseguinte, estudos focando potenciais variações nesta assinatura acústica contribuem tanto nos processos de classificação e detecção dos sinais, como na avaliação do comportamento alimentar e tomada de decisão em sistema automatizados. As principais aplicações e fatores interferentes na avaliação de PAM em estudos realizados (e sugestões futuras) sobre caracterização acústica e atividade alimentar de camarões em laboratório estão indicados na figura 6. Já na tabela 3, estão resumidas as principais informações sobre as metodologias e resultados dos estudos sobre comportamento acústico de camarões.

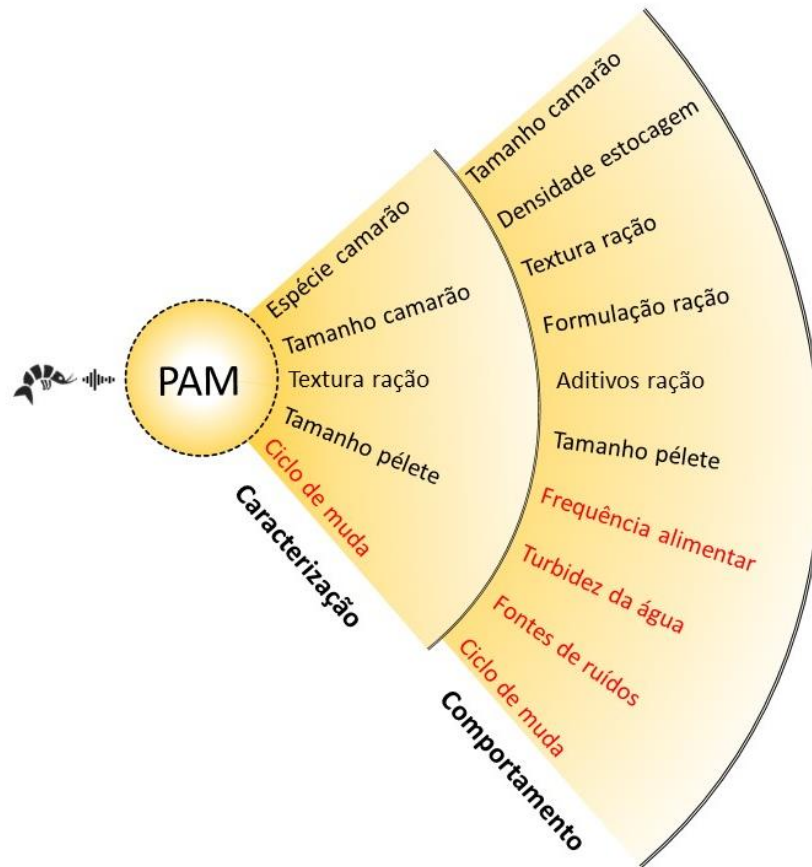


Figura 6. Aplicações do monitoramento acústico passivo (PAM) para caracterização de cliques e avaliação de fatores interferentes no comportamento alimentar de camarões em estudos de laboratório. Texto em vermelho representa possíveis aplicações que ainda não foram testadas com camarões.

Tabela 3. Estudos que utilizaram monitoramento acústico passivo (PAM) na avaliação do comportamento alimentar (ração) de *L. vannamei* e *M. rosenbergii* (*) em laboratório, com respectivos enfoques, metodologias (geral e PAM) e principais resultados. Os dados estão ordenados conforme os itens 7.1 a 7.6 no texto.

Enfoque	Metodologia geral	Metodologia PAM	Principais resultados	Referência
Rações extrusadas e peletizadas	Ração extrusada e peletizada com tempos de imersão de 0, 1 e 2 h	Caracterização de cliques	Maior energia de cliques com rações extrusadas secas (0h)	Peixoto et al., 2020a
	Ração extrusada e peletizada com mesma formulação	Energia de cliques por tempo	Sem efeito no comportamento alimentar	Soares et al., 2021a
Tamanho péletes de ração	Péletes com 2, 4 e 8 mm de comprimento e 2,4 mm de diâmetro.	Caracterização, taxa de emissão e energia de cliques por tempo	Sem efeito nos parâmetros acústicos dos cliques Taxa de emissão de cliques proporcional ao comprimento	Peixoto et al., 2020b
	Péletes com 0,2, 0,8 e 1,2 mm.	Caracterização de cliques	Sem efeito nos parâmetros acústicos	Cao et al., 2022a
Aditivos em rações	Adição de farinha de krill, óleo de krill e hidrolisado de peixe em dieta à base de soja	Energia de cliques por tempo	Comportamento alimentar afetado positivamente em rações com aditivos	Soares et al., 2021b
	Adição de hidrolisado de peixe, farinha de krill e de lula em dieta à base de soja	Detecção automática e taxa emissão de cliques	Comportamento alimentar afetado positivamente em rações com aditivos	Peixoto et al., 2022
	Diferentes percentuais de aditivo em dietas a base de farinha de peixe e ave	Detecção automática e taxa emissão de cliques	Comportamento alimentar afetado positivamente em rações com aditivos	Tabbara et al., 2024

Tamanho dos camarões	Classes de peso 13, 22 e 35g	Caracterização e taxa de emissão de cliques	Sem efeito nos parâmetros acústicos Efeitos na taxa de emissão de cliques, associado a voracidade	Silva et al., 2019
	Classes de peso 4 e 10g	Energia de cliques por tempo	Maior intensidade e duração da energia em camarões de 10g	Soares et al., 2021a
	Classes de peso 4, 10 e 23g	Caracterização de cliques	Sem efeito nos parâmetros acústicos	Hamilton et al., 2021 *
	Classes de peso entre 0,01 a 12 g	Caracterização de cliques	Efeito nos parâmetros acústicos em classes menores que 1g Correlação positiva com o comprimento da mandíbula	Hamilton et al., 2024
Densidade de estocagem	Grupos de 5 e 10 camarões em aquários (40 x 20cm)	Caracterização e taxa de emissão de cliques	Taxa de emissão de cliques proporcional ao número de camarões	Wei et al., 2020
	Densidades de 50, 100 e 150 camarões/m ² e classes de peso de 1, 3, 9, e 12g.	Detecção automática e taxa de emissão de cliques	Correlações positivas entre a taxa de cliques com a densidade e o peso	Hamilton et al., 2023

7.1. Rações peletizadas e extrusadas

Sabe-se que as propriedades físico-químicas dos péletes de ração são afetadas pelo método de fabricação, resultando geralmente numa menor estabilidade física pelo processo de peletização do que de extrusão (HARDY e BARROWS, 2002; MISRA et al., 2002; SOARES et al., 2021a). Neste sentido, as características texturais da ração (e.g. durabilidade, dureza e teor de umidade), poderiam influenciar na força mandibular necessária para quebrar os péletes e, por consequência, nas características acústicas dos cliques produzidos durante a alimentação dos camarões. As respostas acústicas têm ajudado a indústria na manipulação da estrutura e textura de vários produtos alimentares (DUIZER, 2004; ENDO et al., 2016), mas pouca atenção é direcionada às potenciais contribuições da textura de rações para as espécies aquáticas. Incrementos na energia sonora, emitida durante a oclusão mandibular, relacionadas às propriedades mecânicas da ração poderiam contribuir com o uso de PAM na avaliação da atividade alimentar de camarões em paisagens acústicas no ambiente de criação (JESCOVITCH et al., 2018; ULMAN et al., 2019 a,b; REIS et al., 2020).

A emissão de cliques por *P. monodon* ocorreu quando os animais foram alimentados tanto com dieta comercial como alimento natural (lula), sugerindo que a produção de som não está ligada exclusivamente a um determinado tipo de alimento (SMITH e TABRETT, 2013). Cao et al. (2022a) observou que *L. vannamei* também emitiu cliques quando alimentado com poliquetas (*Nereis succinea*), e que estes apresentaram um pico de frequência (7 kHz) inferior aos produzidos pelo consumo de ração (17 kHz). Embora este fato seja corroborado pela emissão de som em população selvagem de *L. setiferus* (BERK et al., 1998), a comparação entre os parâmetros acústicos dos cliques gerados por alimentos naturais e artificiais, e suas respectivas texturas, ainda precisa ser mais estudada para camarões. Neste contexto, Peixoto et al. (2020a) utilizaram câmaras anecoicas para avaliar a relação entre as características texturais de dietas peletizadas e extrusadas com a atividade acústica de *L. vannamei*. Os autores relataram que a textura das dietas está estreitamente relacionada com a sua intensidade acústica, sendo que a maior dureza da dieta extrusada resultou na emissão de cliques com maior energia do que a ração peletizada, após serem oferecidas secas aos camarões. Tal diferença, entretanto, não ocorreu quando ambas as dietas foram ofertadas após serem hidratadas por 1 ou 2 h, causando também um decréscimo progressivo na intensidade acústica para ambas as rações (Tabela 3). Este fato sugere que a textura macia dos péletes umedecidos demandariam uma menor força de oclusão das mandíbulas, e,

consequentemente, gerando cliques com menor energia.

Outro estudo envolvendo aplicação de PAM com uso de rações peletizadas e extrusadas, avaliou o comportamento alimentar em duas classes de peso (~ 4 e 10 g) de *L. vannamei* (SOARES et al., 2021a). Apesar de não terem sido evidenciadas alterações no padrão comportamental, os autores observaram uma maior energia acústica média no intervalo final (20-30 min) da atividade alimentar com uso de ração extrusada na maior classe de camarões (Tabela 3). A dureza dos péletes de ração vem sendo medida em analisador de textura (TA XT plus, Stable Microsystems Inc., Inglaterra), com intuito de estabelecer relações com os parâmetros acústicos dos cliques. Este equipamento possui uma lâmina de faca incisiva e parâmetros de calibração definidos em software que registra a força máxima (Newton; N) para cortar um único pélete posicionado perpendicularmente à lâmina (PEIXOTO et al., 2020; SOARES et al., 2021a). De forma geral, os resultados da força de ruptura dos péletes se refletem nas características acústicas dos cliques quando estes são ingeridos pelos camarões, provavelmente pela similaridade com mecanismo de oclusão mandibular. Espera-se que estudos sobre as propriedades texturais das rações ganhem importância junto com o recente crescimento da indústria de alimentadores automatizados baseados em PAM, já que o desenvolvimento de rações “acusticamente eficientes” pode trazer vantagens para a detecção sonora da atividade alimentar dos camarões.

7.2. Tamanho dos péletes de ração

Apesar da grande variedade de tamanhos de pélete (i.e. diâmetro e comprimento) disponíveis no mercado, poucos estudos avaliaram seu efeito no comportamento alimentar dos camarões (NUNES e PARSONS, 1998; OBALDO e MASUDA, 2006). Relativo à aplicação de PAM, Cao et al. (2022a) observaram parâmetros acústicos semelhantes em cliques gerados por *L. vannamei* alimentados com péletes de 0,2, 0,8 e 1,2 mm (Tabela 3). Embora sem alterações nos parâmetros, foi reportado que péletes com diferentes comprimentos (2, 4 e 8 mm), e mesmo diâmetro (2,4 mm), afetaram diretamente no número de cliques emitidos por pélete (15, 34 e 64, respectivamente) por *L. vannamei* (PEIXOTO et al., 2020b). Esta observação estaria provavelmente relacionada ao maior número de oclusões mandibulares necessárias para ingerir péletes com maior comprimento, uma vez que estes são consumidos com o seu eixo longitudinal posicionado perpendicularmente aos dentes mandibulares (HUNT et al., 1992; SMITH e TABRETT, 2013; PEIXOTO et al., 2020b). Assim, pode-se inferir que variações no

diâmetro de péletes cilíndricos ou arredondados teriam um maior potencial de afetar os parâmetros acústicos dos cliques dos camarões, entretanto esta hipótese precisa ser testada em futuros estudos.

O comportamento alimentar de *L. vannamei* (20 g) também foi afetado pelos diferentes comprimentos de péletes (2, 4 e 8 mm) com mesmo diâmetro (2,4 mm), mostrando uma diminuição mais rápida na emissão de cliques, e conseqüente energia acústica, em seguida da oferta de péletes com menor comprimento, em comparação com os demais (PEIXOTO et al., 2020b). Os autores argumentaram que além do menor número de cliques emitidos com péletes pequenos, o seu rápido consumo levou os camarões a atingirem a saciedade mais cedo, embora o consumo alimentar tenha sido semelhante entre os diferentes comprimentos de ração (Tabela 3). Estudos com PAM nesta linha merecem mais atenção, haja visto que além dos possíveis efeitos nas respostas acústicas dos camarões, o tamanho dos péletes também irá influenciar no seu peso/volume e, por conseguinte, na sua dispersão radial pelos dispositivos dispensadores de ração em alimentadores automatizados. Sabe-se que péletes de ração com maiores dimensões são lançados mais longe dos alimentadores, atingindo um maior raio de distribuição do que péletes menores (LIMSUWAN e CHING, 2013; CHING, 2020).

7.3. Formulações de rações e aditivos alimentares

A avaliação de formulações de ração e/ou inclusão de aditivos (i.e. quimioatratantes e estimulantes alimentares) para melhorar a atratividade e palatabilidade tem sido geralmente realizada em tanques do tipo “Y-mazes” ou compartimentados, através da observação das preferências e comportamento alimentar dos camarões em laboratório (NUNES et al., 2006; SURESH et al., 2011; DERBY et al., 2016). O uso de PAM para tal finalidade foi primeiramente testado por Soares et al. (2021b) na avaliação do efeito de aditivos (farinha de krill, óleo de krill e hidrolisado de peixe) em dieta prática à base de soja no comportamento alimentar de *L. vannamei*. Neste estudo, foi calculada a energia acústica acumulada em intervalos (15 s) ao longo do tempo de atividade alimentar (30 min) na comparação entre as dietas (e controle) através de regressões lineares múltiplas. Os modelos de regressão para as dietas com aditivos mostraram inclinações significativamente maiores em comparação com a dieta basal, indicando que os camarões iniciaram a alimentação mais rapidamente e permaneceram por mais tempo consumindo o alimento (Tabela 3).

Recentemente, um novo método baseado na identificação automática de cliques

em gravações da atividade alimentar, foi utilizado para comparar diferentes aditivos (farinha de krill, farinha de lula e hidrolisado de peixe) adicionados a uma dieta à base de soja para *L. vannamei* (PEIXOTO et al., 2022). O comportamento alimentar foi avaliado em grupos de camarões denominados “ingênuos” (sem aclimação às dietas) e “não ingênuos” (aclimatados às dietas). Esta análise foi realizada tanto através do total de cliques emitidos e consumo de ração, como por regressões lineares múltiplas da taxa média de emissão de cliques por minuto ao longo do período de 30 min para as diferentes dietas (Tabela 3). Esta metodologia de PAM e desenho experimental semelhante também foram empregados por Tabbara et al. (2024) para analisar o comportamento alimentar de *L. vannamei* com uso de nove dietas formuladas com farinha de peixe (6% e 12%) e de aves (6%) como fonte de proteína animal, e diferentes percentuais de inclusão de um aditivo alimentar (0, 0,1 e 0,2%). Em ambos os estudos, os pesquisadores conseguiram observar efeitos positivos na atratividade e palatabilidade em dietas com aditivos alimentares através do uso de PAM, e de forma mais pronunciada nos grupos de camarões “não ingênuos”, previamente adaptados à ração oferecida (PEIXOTO et al., 2022; TABBARA et al., 2024).

Compreender as interações entre as dietas formuladas e o comportamento alimentar dos camarões é um ponto de partida para o desenvolvimento de rações e práticas de manejo mais eficientes (BARDERA et al., 2019b). Considerando que os aditivos alimentares são adicionados às formulações de rações para estimular a sua rápida detecção e ingestão, o uso de PAM mostrou-se valioso para avaliar essas características no comportamento alimentar dos camarões.

7.4. Tamanho dos camarões

O emprego de alimentadores automáticos baseados em acústica está em ampla expansão na carcinicultura mundial, porém uma limitação vem sendo reportada quanto ao seu uso em fases iniciais da criação de *L. vannamei* em viveiros (REIS et al., 2020, 2022). Embora os fabricantes geralmente indiquem que estes sistemas automatizados devam ser utilizados quando os camarões estejam com mais de 2 g, não são divulgados dados específicos ou justificativas sobre o motivo de tal limitação dos equipamentos. Entretanto, foi observado em pesquisas utilizando estes alimentadores que a eficiência da alimentação com base acústica é otimizada para *L. vannamei* com mais de 5 g, após aproximadamente decorridos 30-40 dias de criação (REIS et al., 2020, 2022). Os autores argumentam que a baixa energia acústica de cliques produzidos pelos animais em

menores classes de tamanho, resultaria na subalimentação durante a fase inicial de criação.

A aplicação de PAM em laboratório para caracterizar cliques de *L. vannamei* nas classes de tamanho de 13, 22 e 35g, não resultou em diferenças nos parâmetros acústicos (e.g. frequência mínima e máxima, pico de frequência, energia e duração) durante a atividade alimentar (SILVA et al., 2019). Resultados semelhantes foram observados por Hamilton et al. (2021) para classes de tamanho de 4, 10 e 23g de *M. rosenbergii*. Interessantemente, a energia dos cliques emitidos por *L. vannamei* com aproximadamente 10 g foi maior do que em camarões de 4 g, quando estes foram alimentados com rações extrusadas e peletizadas (SOARES et al., 2021a). Embora estes estudos tenham contribuído com informações valiosas sobre as características acústicas em classes de tamanho das fases intermediárias e finais/avançadas do ciclo de criação de *L. vannamei*, não esclareceram o motivo da mencionada limitação de uso alimentadores acústicos nas fases iniciais. Recentemente, entretanto, foi realizada a caracterização dos parâmetros acústicos de cliques emitidos desde o estágio pós-larval (i.e. fase inicial de criação) até camarões próximos ao tamanho comercial (12 g) em condições controladas de laboratório (HAMILTON et al., 2024). Os autores observaram que os cliques começaram a ser emitidos a partir do estágio pós-larval / juvenil inicial com o peso médio de 0,01 g, correspondendo a fase de berçário na criação. Os parâmetros acústicos mostraram ser influenciados pelo tamanho, principalmente nos estágios juvenis iniciais, com a frequência mínima e o pico de frequência apresentando uma diminuição abrupta em seus valores até aproximadamente 1 g, enquanto a energia e frequência máximas mostraram um padrão oposto. Ainda neste estudo, modelos estatísticos estimaram que a energia máxima do clique estabiliza a partir de 1,48 g, enquanto a frequência baixa, alta e de pico estabilizam a partir de 3,08 g. Os autores sugerem que os resultados podem contribuir para a o desenvolvimento e otimização dos algoritmos em sistemas automatizados, possibilitando assim superar as atuais limitações e antecipar a utilização de alimentadores automáticos acústicos para as fases de berçário e/ou iniciais da criação de *L. vannamei*.

Estudos com PAM também mostraram que, além dos parâmetros acústicos dos cliques, o comportamento alimentar é influenciado pelo tamanho dos camarões (Tabela 3). A contagem do número de cliques mandibulares produzidos durante a ingestão de péletes individualizados foi comparada entre diferentes classes de tamanho de *L. vannamei* (SILVA et al., 2019). Os resultados indicaram um consumo mais rápido do pélete (cliques / min) para camarões com 35g, já que a maioria dos cliques ocorreram no

primeiro minuto após a captura do pélete, quando comparados a classes de tamanho menores de 13 e 22g que tiveram uma taxa de emissão de cliques mais constante durante os testes (10 min). Esse fato que foi associado à maior voracidade para consumir os péletes e ao maior volume estomacal de camarões maiores. Entretanto, em outro estudo onde os péletes foram oferecidos *ad libitum* para grupos de *L. vannamei* em duas classes de tamanho (4 e 10 g), observou-se um declínio mais acelerado da energia acústica da atividade alimentar nos camarões menores após 20 min da oferta de ração. Os autores atribuíram este declínio ao menor tempo necessário para que estes camarões atingissem sua capacidade estomacal e saciedade, uma vez que os camarões maiores mantiveram níveis mais elevados de energia acústica durante os 30 min de atividade alimentar. O efeito do tamanho dos camarões no comportamento alimentar em testes envolvendo grupos de indivíduos mantidos em aquários ou tanques, também deve levar em consideração a sua densidade populacional, haja visto que podem ocorrer diferentes comportamentos individuais de competição e dominância (BARDERA et al., 2021).

7.5. Densidade de estocagem

Existe pouca informação disponível sobre os efeitos da densidade de estocagem no comportamento alimentar de camarões (BARDERA et al., 2019a), ainda mais se considerarmos a sua importância para as práticas de manejo e produtividade em sistemas de criação (ROY et al., 2020; DA SILVEIRA et al., 2022). Bardera et al. (2021) estudaram a influência da densidade (6, 12 e 24 camarões/m²) no comportamento de *L. vannamei* (8 g) em laboratório, através de gravações de vídeo e análises em software de rastreamento (EthoVision). Com esta metodologia, os autores conseguiram identificar que na maior densidade os camarões permaneceram menos tempo na área de alimentação e apresentaram menos interações de dominância entre eles, mesmo com um maior consumo relativo de ração em comparação as demais densidades de estocagem. Utilizando PAM, Wei et al. (2020) observaram que a taxa de emissão de cliques foi proporcional ao número de camarões adultos (5 e 10) de *L. vannamei* mantidos em aquários (40 x 20 cm). Recentemente, um estudo mais abrangente com PAM, buscou avaliar as interações entre a densidade de estocagem (50, 100 e 150 camarões/m²) e a atividade acústica em diferentes classes de tamanho de *L. vannamei* (1, 3, 9 e 12 g) durante a alimentação em laboratório (HAMILTON et al., 2023). Como esperado, o aumento das densidades e classes de tamanho resultaram em correlações positivas com número de cliques emitidos pelos camarões, assim como entre o número de cliques

emitidos durante os primeiros 10 min e o consumo de ração após 30 min de monitoramento da atividade de alimentar (Tabela 3). Estudos futuros combinando metodologias de visão computacional e PAM em laboratório, podem contribuir para uma melhor compreensão de relações intraespecíficas durante a atividade acústica em grupos de camarões, bem como sua para a aplicação em práticas de manejo na produção comercial (DE TAILLY et al., 2021).

Um outro aspecto que merece destaque é a possibilidade de se utilizar PAM para estimar a densidade populacional de camarões, bem como identificar diminuições abruptas de densidade causadas por eventos de mortalidade ou despesca parcial. Fato sugerido pelas relações significativamente positivas entre a taxa de emissão de cliques e a densidade de estocagem em diferentes classes de tamanho de *L. vannamei* em laboratório (HAMILTON et al., 2023). Um problema comum na carcinicultura é a inabilidade de observar a população de camarões durante seu desenvolvimento, causando dificuldades na determinação da biomassa e sobrevivência (SMITH e TABRETT, 2013; BARDERA et al., 2019a). Marques et al. (2013) argumentaram que para situações em que o número de animais é conhecido e estes emitem um sinal sonoro, uma abordagem de calibração pode ser útil para prever a densidade populacional quando esta informação não pode ser obtida diretamente, como no caso da carcinicultura. Embora este princípio básico esteja provavelmente inserido na interpretação de sinais por algoritmos em sistemas automatizados de alimentação acústica, esta importante informação é frequentemente protegida e não disponível para pesquisadores e produtores de camarão. Assim, sugere-se que estimativas da densidade populacional de camarões através de PAM sejam validadas com equipamentos e análises acústicas de precisão em experimentos controlados de larga escala em ambiente de criação.

7.6. Interferências de ruídos

As paisagens acústicas em ambientes aquícolas apresentam distintos ruídos de fundo, geralmente produzidos por equipamentos como difusores de aeração, sopradores de ar, fluxo de água, bombas de água, filtros mecânicos e outros maquinários (e.g. geradores, veículos motorizados), bem como por outras fontes de ruídos naturais ou artificiais externos (e.g. chuva, trovões, insetos aquáticos e impacto de péletes de ração na superfície). Sabe-se que o desempenho de alimentadores automatizados acústicos é afetado por interferências sonoras causadas por aeradores (i.e. movimentação de água) e chuva em viveiros, os quais podem sobrepor ou mascarar o som dos cliques emitidos

pelos camarões, levando assim a interpretações enganosas pelos algoritmos sobre a atividade alimentar (BADOR et al., 2013; ULMAN et al., 2019 a,b). Presumidamente, os fabricantes destes sistemas automatizados adotam medidas para contornar estas interferências, que poderiam incluir: (1) sensores de chuva que interrompem momentaneamente a operação acústica e alternam para fornecimento de quantidades fixas de ração em intervalos de tempos predeterminados, baseados em retrocálculo de eventos anteriores; (2) recomendações para posicionamento de aeradores ou difusores de ar distantes do local de instalação dos hidrofones; (3) filtragem de bandas de frequência específicas com ruídos indesejáveis (e.g. 0 a 5 kHz) no processamento prévio de sinal acústico pelo algoritmo e (4) incorporação de assinaturas de ruídos específicos nos modelos de aprendizado de máquina dos algoritmos. Smith e Shahriar (2013) reportaram que um algoritmo de detecção de assinaturas de alimentação foi treinado utilizando conjuntos de dados de assinaturas de diferentes fontes de interferência provenientes de gravações em viveiros de *P. monodon*.

Em pesquisas com PAM em laboratório, além da interferência de ruídos (SLATER et al., 2020), a intensa reverberação sonora em tanques deve ser considerada na caracterização de sinais acústicos de crustáceos (JÉZÉQUEL et al., 2022). Os problemas com ruídos externos podem ser contornados através do desligamento temporário dos sistemas de aeração e recirculação de água nos tanques durante testes de curta duração com camarões (PEIXOTO et al., 2020b). Em testes de longa duração, quando o desligamento prolongado do sistema de aeração e/ou recirculação pode trazer problemas para a qualidade de água e fisiologia dos animais, algumas providências podem ser tomadas para reduzir ruídos, tais como: (1) posicionar equipamentos, filtros, bombas e tanques do sistema recirculação afastados do ambiente de gravação; (2) manter mangueiras do sistema recirculação de água submersas (evitar impacto da água na superfície) e afastadas do hidrofone nos tanques de gravação; e (3) realizar aeração da água no sistema de recirculação e não com difusores nos tanques de gravação. Ainda assim, Peixoto et al. (2020 a,b) utilizaram software de análise acústica para aplicação de filtros de banda (0 a 10 kHz) em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei* em laboratório. Esta etapa, que antecede a análise de emissão de cliques, tem como finalidade remover a banda de baixa frequência (e.g. abaixo de 5 ou 10 kHz) que geralmente apresenta a maior parte dos ruídos de fundo (RADFORD e SLATER, 2019; SLATER et al., 2020), concentrando assim a análise em bandas de frequência mais elevadas onde os sinais de clique estariam mais “limpos” devido a menor interferência de ruídos externos.

Em relação a interferência de ruídos no comportamento, foi observado que o camarão *Palaemon serratus* utiliza mecanismos receptores especializados para ouvir e responder ao deslocamento de partículas do som (LOVELL et al., 2005), e sofreu alterações comportamentais e bioquímicas na hemolinfa quando foram expostos ao ruído de embarcações através de autofalantes subaquáticos em laboratório (FILICIOTTO et al., 2016). Slater et al. (2020) reproduziram o ruído de um sistema intensivo de recirculação (SPL de 128 dB re 1 μ Pa; banda de frequência de 50 Hz a 24 kHz) em tanques com *L. vannamei* (~ 6 g) durante oito semanas, porém não observaram efeitos na sobrevivência, crescimento ou parâmetros da hemolinfa associados ao estresse sonoro nos camarões. Os autores recomendaram futuros estudos com exposição aguda ao som e testes com camarões em fases precoces de vida, potencialmente mais sensíveis as tais perturbações sonoras e alterações comportamentais.

8. Desafios futuros e recomendações

Embora tenham ocorrido avanços significativos na compreensão do mecanismo de emissão de som, características de cliques e comportamento alimentar de camarões através do uso de PAM em estudos laboratoriais, ainda existem diversas lacunas no conhecimento que podem contribuir para a otimização de práticas de manejo alimentar, desenvolvimento de rações e equipamentos automatizados com base acústica para camarões (Figura 6).

O efeito da muda (processo de ecdise) no comportamento alimentar dos camarões durante a criação é bem conhecido, com redução drástica do consumo de ração que deve ser acompanhada pela diminuição de 10-30% na oferta de alimento no dia previsto para a muda (LEMOS e WEISSMAN, 2021). Bardera et al. (2019) utilizaram gravações de vídeo para analisar os efeitos da muda e períodos de restrição alimentar no comportamento de *L. vannamei* em laboratório, concluindo que camarões na intermuda e mantidos por longos períodos de restrição (24 e 48 h) tiveram maior atividade alimentar. Em sistemas de alimentação acústica automatizada, as reduções na atividade alimentar dos camarões, associadas a eventos de muda na população poderiam ser detectadas pelos algoritmos. Entretanto, não existe informações se tal processo de detecção e tomada de decisão ocorreria apenas em decorrência da menor energia acústica gerada pela redução na taxa de emissão de cliques pela população, ou, se os parâmetros sonoros dos cliques também seriam afetados pelas variações na espessura e dureza das mandíbulas devido ao processo de muda. O endurecimento do exoesqueleto pode demorar várias horas após a

muda, dependendo da duração total do ciclo (i.e. fases de pré-muda, ecdise, pós-muda e intermuda) que varia de acordo com o tamanho do camarão (DALL et al., 1990). Conhecendo o mecanismo de emissão de som destes animais, seria possível supor que a energia dos cliques emitidos durante a fase de ecdise, e/ou na fase que a precede e sucede, seria menor do que na fase de intermuda, quando as mandíbulas apresentam teoricamente sua máxima espessura e dureza cuticular. No entanto, as relações entre ciclo de muda e características dos cliques ainda precisam ser investigadas com uso de PAM, contando ainda com o suporte de outras ferramentas analíticas que permitam avaliar as possíveis interações entre os parâmetros acústicos com a espessura e/ou composição cuticular das mandíbulas.

A criação de camarões em sistemas intensivos ou superintensivos de recirculação (RAS) e bioflocos (BFT), tanto em ambiente de laboratório como em escala comercial, oferecem novos desafios para estudos com aplicação de PAM. Nestes sistemas, a necessidade de aeração e recirculação intensa pode causar ruídos (e.g. bombas, sopradores e compressores de ar) que ocupam predominantemente bandas de baixa frequência na paisagem acústica (BART et al., 2001; REDFORD e SLATER, 2019). Além disso, o colapso das bolhas ou microbolhas geradas pela injeção de oxigênio produz ruídos em frequências elevadas, sobrepondo frequências dominantes onde ocorrem os cliques da atividade alimentar dos camarões. Soluções para a detecção de cliques nestas situações, podem passar pela adoção de taxas de amostragem (frequência de Nyquist) mais elevadas para estes ambientes (e.g. 192 kHz), permitindo assim a detecção de cliques e/ou sua energia em altas bandas de frequência (e.g. até 96 kHz) e evitando a sobreposição com ruídos associados a aeração da água e equipamentos no meio externo (PEIXOTO et al., 2022). Li et al. (2024) sugerem que algoritmos de aprendizagem profunda podem contribuir para separação de ruídos de fundo em sistemas aquícolas. Como exemplo nesta linha de pesquisa, Cao et al. (2022b) reproduziu artificialmente o som de cliques de *L. vannamei*, descrito por Silva et al. (2019), em simulações com diferentes intensidades de ruídos de fundo no processo de reconhecimento de sinais por algoritmo de aprendizagem de máquina. Finalmente, considera-se que o desenvolvimento futuro destes sistemas intensivos de alta tecnologia contemple métodos de oxigenação da água e equipamentos em geral com menor emissão de ruídos, favorecendo o monitoramento acústico da alimentação.

Outra questão que surge no contexto de sistemas RAS e BFT está relacionada aos potenciais efeitos causados pelos ruídos de alta intensidade no comportamento e bem-

estar dos camarões (REDFORD e SLATER, 2019; SLATER et al., 2020). Embora sejam necessários mais estudos com simulações de ruídos através de autofalantes subaquáticos, estes equipamentos são geralmente muito caros e possuem grande dimensão para serem instalados em tanques ou aquários experimentais. Entretanto, existem alternativas de dispositivos de baixo custo, fácil manufatura e pequeno tamanho no formato cilíndrico (altura = 11 cm; diâmetro = 6 cm) como o descrito por De Jong et al. (2017). Os autores demonstraram que este dispositivo, batizado de “ovo sonoro” (tradução literal do termo em inglês “noise egg”), foi capaz de produzir sons de baixa frequência como fonte experimental de ruído para avaliação do comportamento de espécies aquáticas em instalações de laboratório.

Algumas linhas de pesquisa com PAM em laboratório podem contribuir com a otimização de práticas comuns de manejo alimentar em sistemas de criação, e que não necessariamente sejam aplicadas na alimentação acústica automatizada. O manejo alimentar é uma das áreas mais diretamente beneficiadas com uma melhor compreensão do comportamento dos camarões (BARDERA et al., 2019a; PARRA-FLORES et al., 2019; LI et al., 2021; DE TAILLY et al., 2021). Estudos etológicos têm contribuído significativamente para o conhecimento atual do comportamento alimentar deste animais em relação a diferentes aspectos, tais como frequências de alimentação (PONTES et al., 2008; LIMA et al., 2009), ritmo circadiano (PONTES et al., 2006; SILVA et al., 2012; SANTOS et al., 2016), restrição alimentar e ciclo de muda (BARDERA et al., 2019b), densidade de estocagem (BARDERA et al., 2021), tamanho dos péletes de ração (NUNES e PARSONS, 1998; OBALDO e MASUDA, 2006) e, em maior escala, a inclusão de aditivos em dietas (STEINER e HARPAZ, 1987; HUNT et al., 1992; SANCHEZ et al., 2005; SMITH et al., 2005; NUNES et al., 2006; AHAMAD-ALI et al., 2007; GREY et al., 2009; SURESH et al., 2011; DERBY et al., 2016; MONTOYA-MARTÍNEZ et al., 2018, NUNES et al., 2019; EAP et al., 2020; YUAN et al., 2021). Embora a grande maioria destes estudos tenha sido realizada com observações visuais em condições laboratoriais, novas tecnologias de visão computacional e PAM têm sido aplicadas com sucesso em estudos comportamentais de camarões, conforme revisado por De Tailly et al. (2021), Reis et al. (2022), Li et al. (2024) e no presente capítulo. Existem outras lacunas no conhecimento comportamental dos camarões que só poderiam ser avaliadas através de PAM, como por exemplo estudos que abordem o efeito da turbidez da água, haja visto que imagens subaquáticas sofrem degradação induzida pela luz (GUTSCHER et al., 2011; BÉGOUT et al., 2012; GHANI e ISA, 2015). Entretanto, a utilização de PAM

de forma isolada ou combinada com outras tecnologias em estudos laboratoriais, pode trazer uma nova luz sobre os diversos fatores citados que influenciam no comportamento alimentar dos camarões.

9. Referências bibliográficas

AHAMAD-ALI, S.; GOPAL, C.; RAMANA, J. V. Attractant and growth promoting properties of some feed materials and chemicals incorporated in the diets for *Penaeus monodon* (Fabricius). **Indian J Fish**, 54, 67-73. 2007.

AU, W. W. L.; HASTINGS, M. C. **Principles of Marine Bioacoustics**. New York, Springer. 2008. 686 p.

BARDERA, G.; OWEN, M. A. G.; FACANHA, F. N.; ALCARAZ-CALERO, J. M.; ALEXANDER, M. E., SLOMAN, K. A. The influence of density and dominance on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feeding behaviour. **Aquaculture**, 531, 735949. 2021.

BARDERA, G.; USMAN, N.; OWEN, M.; POUNTNEY, D.; SLOMAN, K. A.; ALEXANDER, M. E. The importance of behaviour in improving the production of shrimp in aquaculture. **Rev Aquacult**, 11, 1104-1132. 2019a.

BARDERA, G.; OWEN, M. A. G.; POUNTNEY, D.; ALEXANDER, M. E.; SLOMAN, K. A. The effect of short-term feed-deprivation and moult status on feeding behaviour of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 511, 734222. 2019b.

BART, A. N.; CLARK, J.; YOUNG, J.; ZOHAR, Y. Underwater ambient noise measurements in aquaculture systems: a survey. **Aquac Eng**, 25, 99-110. 2001.

BÉGOUT, M. L.; KADRI, S.; HUNTINGFORD, F.; DAMSGARD, B. Tools for studying the behaviour of farmed fish. In: HUNTINGFORD, F.; JOBLING, M.; KADRI, S. **Aquaculture and Behavior**. Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, pp. 65-86. 2012.

BENTOV, S.; AFLALO E. D.; TYNYAKOV J.; GLAZER L.; SAGI A. Calcium phosphate mineralization is widely applied in crustacean mandibles. **Sci Rep**, 6, 22118. 2016.

BERK, I. M. Sound production by the white shrimp (*Penaeus setiferus*), analysis of another crustacean-like sound from the Gulf of Mexico, and applications for passive sonar in the shrimping industry. **J Shellfish Res**, 17, 1497-1500. 1998.

BOHNENSTIEHL, D. R.; LILLIS, A.; EGGLESTON, D. B. The curious acoustic behavior of estuarine snapping shrimp: temporal patterns of snapping shrimp sound in sub-tidal oyster reef habitat. **PloS One**, 11, e0143691. 2016.

BOON, P.Y.; YEO, D.C.J.; TODD, P.A. Sound production and reception in mangrove crabs *Perisesarma* spp. (Brachyura: Sesarmidae). **Aquat Biol**, 5, 107-116. 2009.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.;

PEARSON, D. C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, 232, 525-537. 2004.

CAO, Z.; SHEN, M.; LI, Z.; WANG, Z.; WANG, X. Characteristics of feeding acoustic signals of *Litopenaeus vannamei* fed with pellets of different sizes. **South China Fisheries Science**, 18, 26-34. 2022a

CAO, T.; ZHAO, X.; YANG, Y.; ZHU, C.; XU, Z. Adaptive Recognition of Bioacoustic Signals in Smart Aquaculture Engineering Based on r-Sigmoid and Higher-Order Cumulants. **Sensors**, 22, 2277. 2022b

CASILLAS-HERNANDEZ, R.; MAGALLON-BARAJAS, F.; PORTILLO-CLARCK, G.; PAEZ-OSUNA, F. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: trays and mechanical dispersal. **Aquaculture**, 258, 289-298. 2006.

CERAULO, M.; SAL MOYANO, M. P.; BAZTERRICA, M. C.; HIDALGO, F. J.; SNITMAN, S.; PAPALE, E.; BUSCAINO, G.; GAVIO, M. A. Agonistic Behaviour and Sound Production during Male–Male Varunid Crabs (*Cyrtograpsus angulatus*, Dana 1851) Encounters. **J Mar Sci Eng**, 10, 1370. 2022,

CHING, C. A. Considerations for automatic feeding in shrimp ponds. **Responsible seafood advocate**. 2020. Disponível em: <https://www.globalseafood.org/advocate/considerations-for-automatic-feeding-in-shrimp-ponds/>. Acesso em: 10 jan. 2024

COQUEREAU, L.; GRALL, J.; CHAUVAUD, L.; GERVAISE, C.; CLAVIER, J.; JOLIVET, A.; DI IORIO, L. Sound production and associated behaviours of benthic invertebrates from a coastal habitat in the north-east Atlantic. **Mar Biol**, 163, 127. 2016.

DA SILVEIRA, L. G. P.; ROSAS, V. T.; KRUMMENAUER, D.; FRÓES, C.; SILVA, A.; POERSCH, L. H.; FÓES, G.; WASIELESKY, W. Jr. Establishing the most productive stocking densities for each stage of a multi-phase shrimp culture in BFT system. **Aquac Int**, 30, 1889-1903. 2022.

DALL, W.; HILL, B. J.; ROTH LISBERG, P. C.; STAPLES, D. J. The Biology of the Penaeidae. **Advances in Marine Biology**. Academic Press, London. 1990. 504 p.

DAVIDSON, J.; FRANKEL, A. S.; ELLISON, W.; SUMMERFELT, S. T.; POPPER, A. N.; MAZIK, P.; BEBAK, J. Minimizing noise in fiberglass aquaculture tanks: noise reduction potential of various retrofits. **Aqua Eng**, 37, 125-131. 2007.

DE JONG, K.; SCHULTE, G.; HEUBEL, K.U. The noise egg: a cheap and simple device to produce low-frequency underwater noise for laboratory and field experiments. **Methods Ecol Evol**, 8, 268-274. 2017.

DE TAILLY, J. B. D.; KEITEL, J.; OWEN, M. A. G.; ALCARAZ-CALERO, J. M.; ALEXANDER, M. E.; SLOMAN, K. A. Monitoring methods of feeding behavior to answer key questions in penaeid shrimp feeding. **Rev Aquac**, 13, 1828-1843. 2021.

DERBY, C. D.; ELSAYED, F. H.; WILLIAMS, S. A.; GONZALEZ, C.; CHOE, M.; BHARADWAJ, A. S.; CHAMBERLAIN, G. W. Krill meal enhances performance of feed pellets through concentration-dependent prolongation of consumption by Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 458, 13–20. 2016.

DUIZER, L. M. Sound input techniques for measuring texture. In: KILCAST, D. **Texture in food Volume 2: Solid foods**. CRC Press, Boca Raton, USA. 2004. pp. 46-163.

EAP, D.; CORREA, S.; NGO-VU, H.; DERBY, C. D. Chemosensory Basis of Feeding Behavior in Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Biol Bull**, 239, 115-131. 2020.

ENDO, H.; SHUICHI I.; FUJISAKI, W. The effect of a crunchy pseudo-chewing sound on perceived texture of softened foods. **Physiol Beha**, 167, 324-331. 2016.

EVEREST, F. A.; POHLMANN, K. C. **Master handbook of acoustics** 5 ed. New York: McGraw-Hill, 2009. 510 p.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation**. Rome, FAO. 2022. 266 p.

FILICCIOTTO, F.; BUSCAINO, G. The role of sound in the aquatic environment. In: A. FARINA, A.; GAGE S.H. **Ecoacoustics**, New York, Wiley & Sons. 2017. 61-79 pp.

FILICCIOTTO, F.; VAZZANA, M.; CELI, M.; MACCARRONE, V.; CERAULO, M.; BUFFA, G.; ARIZZA, V.; VINCENZI, G.; ROSARIO, G.; MAZZOLA, S.; BUSCAINO, G. Underwater noise from boats: measurement of its influence on the behaviour and biochemistry of the common prawn (*Palaemon serratus*, Pennant 1777). **J Exp Mar Biol Ecol**, 478, 24-33. 2016.

FILICCIOTTO, F.; MOYANO, M. P. S.; HIDALGO, F.; DE VINCENZI, G.; BAZTERRICA, M.C.; CERAULO, M.; CORRIAS, V.; QUINCI, E. M.; LORUSSO, M.; MAZZOLA, S. Underwater acoustic communication during the mating behaviour of the semi-terrestrial crab *Neohelice granulata*. **Sci Nat**, 106, 35. 2019.

GHANI, A. S. A.; ISA, N. A. M. Underwater image quality enhancement through integrated color model with Rayleigh distribution. **Appl Soft Comput**, 27, 219-230. 2015.

GREY, M.; FORSTER, I. P.; DOMINY, W. G.; AKO, H.; GIESEN, A. F. Validation of a feeding stimulant bioassay using fish hydrolysates for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J. World Aquac Soc**, 40, 547-555. 2009.

GUTSCHER, M.; WYSOCKI, L. E.; LADICH, F. Effects of aquarium and pond noise on hearing sensitivity in an otophysine fish. **Bioacoustics**, 20, 117-136. 2011.

HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; PEREIRA-NEVES, A.; TRAVASSOS, P.; PEIXOTO S. Sound production mechanism in the Brazilian spiny lobsters (Family Palinuridae). **Zoomorphology**, 138, 475-482. 2019.

- HAMILTON, S.; COSTA FILHO, F.; SILVA, J. F.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. The loud crowd: Interactions between stocking density and acoustic feeding activity of different size classes of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 563, 738904. 2023.
- HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; COSTA FILHO, F.; PEIXOTO, S. Sound emission of *Macrobrachium rosenbergii* during feeding activity. **Aquac Res**, 52, 4841-4848. 2021.
- HAMILTON, S.; MOURA, G. J. B.; COSTA, F.; CRAVEIRO, C.; CASTRO-NETO, H.; ALMEIDA, M.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Size matters: variability in the acoustic parameters during feeding activity of *Penaeus vannamei* in different size classes. **Aquaculture**, 587, 740843. 2024.
- HARDY, R. W.; BARROWS, F. T. Diet formulation and manufacture. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish nutrition**. London, Academic Press. 2002. pp. 505-600.
- HUNT, M. J.; WINSOR, H.; ALEXANDER, C. G. Feeding by penaeid prawns: the role of the anterior mouthparts. **J Exp Mar Biol Ecol**, 160, 33-46. 1992.
- JESCOVITCH, L. N.; ULLMAN, C.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac Res**, 49, 526-531. 2018.
- JÉZÉQUEL, Y.; BONNEL, J.; COSTON-GUARINI, J.; GUARINI, J. M.; CHAUVAUD, L. Sound characterization of the European lobster *Homarus gammarus* in tanks. **Aquat Biol**, 27, 13-23. 2018.
- JÉZÉQUEL, Y.; BONNEL, J.; AOKI, N.; MOONEY, T. A. Tank acoustics substantially distort broadband sounds produced by marine crustaceans. **J Acoust Soc Am**, 152, 3747-3755. 2022.
- KAWAMURA, G.; BAGARINAO, T. U.; SENIMAN, N. S.; YONG, A. S. K.; LIM, L. S. Comparative morphology and function of feeding appendages in food intake behaviour of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Borneo J Mar Sci Aquac**, 2, 26-39. 2018.
- LEMONS, D.; WEISSMAN, D. Moulting in the grow-out of farmed shrimp: a review. **Rev Aquac**, 13, 5-17. 2021.
- LI, D.; WANG, Z.; WU, S.; MIAO, Z.; DU, L.; DUAN Y. Automatic recognition methods of fish feeding behavior in aquaculture: A review. **Aquaculture**, 528, 735508. 2020.
- LI, D.; LIU, C.; SONG, Z.; WANG, G. Automatic Monitoring of Relevant Behaviors for Crustacean Production in Aquaculture: A Review. **Animals**, 11, 2709. 2021.
- LI, D.; DU, Z.; WANG, Q.; WANG, J.; DU, L. Recent advances in acoustic technology for aquaculture: A review. **Rev Aquac**, 16, 357-381. 2024.
- LILLIS, A.; PERELMAN, J. N.; PANYI, A.; MOONEY, T. A. Sound production patterns

of big-clawed snapping shrimp (*Alpheus* spp.) are influenced by time-of-day and social context. **J Acoust Soc Am**, 142, 3311-3320. 2017.

LIMA, P. P.; PONTES, C. S.; ARRUDA, M. F. Activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in laboratory as a function of different feeding frequencies. **Aquac Res**, 41, 53-60. 2009.

LIMSUWAN, C.; CHING, C. A. Automatic feeding in shrimp aquaculture. **Responsible seafood advocate**. 2013. Disponível em: <https://www.globalseafood.org/advocate/automatic-feeding-shrimp-aquaculture/>. Acesso em: 10 jan. 2024

LINDSETH, A. V.; LOBEL, P. S. Underwater soundscape monitoring and fish bioacoustics: a review. **Fishes**, 3, 36. 2018

LIU, J.; BIENVENIDO, F.; YANG, X.; ZHAO, Z.; FENG, S.; ZHOU, C. Nonintrusive and automatic quantitative analysis methods for fish behaviour in aquaculture. **Aquac Res**, 53, 2985-3000. 2022

LOVELL, J. M.; FINDLAY, M. M.; MOATE, R. M.; YAN, H. Y. The hearing abilities of the prawn *Palaemon serratus*. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, 140, 89-100. 2005.

MARQUES, T. A.; THOMAS, L.; MARTIN, S. W.; MELLINGER, D. K.; WARD, J. A.; MORETTI, D. J.; HARRIS, D.; TYACK, P. L. Estimating animal population density using passive acoustics. **Biol Rev**, 88, 287-309. 2013.

MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; PORCHAS-CORNEJO, M. A.; VILLARREAL-COLEMNARES, H.; CALDERON-PEREZ, J. A.; NARANJO-PARAMO, J. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 in low water exchange ponds. **Aquac Eng**, 17, 21-28. 1998.

MISRA, C. K.; SAHU, N. P.; JAIN, K. K. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, water absorption and physical response of *Macrobrachium rosenbergii*. **Asian-Australas J Anim Sci**, 15, 1354-1358. 2002.

MONTOYA-MARTÍNEZ, C.; NOLASCO-SORIA, H.; VEGA-VILLASANTE, F.; CARRILLO-FARNÉS, O.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, A.; CIVERA-CERECEDO, R. Attractability and palatability of ingredients in longarm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. **Lat Am J Aquat Res**, 46, 615-620. 2018.

NAPAUMPAIPOM, T.; CHUCHIRD, N.; TAPARHUDEE, W. Study on the efficiency of three different feeding techniques in the culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **J Fish Environ**, 37, 8-16. 2013.

NUNES, A. J. P.; PARSONS, G. J. Food handling efficiency and particle size selectivity by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* fed a dry pelleted feed. **Mar Fresh. Behav Phy**, 31, 193-213. 1998.

NUNES, A. J. P.; GESTEIRA, T. C. V.; GODDARD, S. Food ingestion and assimilation

by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, 149, 121-136. 1997.

NUNES, A. J. P.; SA, M. V. C.; ANDRIOLA-NETO, F. F.; LEMOS, D. Behavioural response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 260, 244-254. 2006.

NUNES, A. J. P.; SABRY-NETO, H.; OLIVEIRA-NETO, S.; BURRI, L. Feed preference and growth response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to supplementation of marine chemoattractants in a fishmeal-challenged diet. **J World Aquac Soc**, 50, 1048-1063. 2019.

NUNES, A. J. P.; DALEN, L. L.; LEONARDI, G.; BURRI, L. Developing sustainable, cost-effective and high-performance shrimp feed formulations containing low fish meal levels. **Aquacult Rep**, 27, 101422. 2022.

OBALDO, L.G.; MASUDA, R. Effect of diet size on feeding behavior and growth of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J Appl Aquac**, 18, 101-110. 2006.

OBRIST, M. K.; PAVAN, G.; SUEUR, J.; RIEDE, K.; LLUSIA, D.; MÁRQUEZ, R. Bioacoustics approaches in biodiversity inventories. In EYMANN, J.; DEGREEF, J.; HÄUSER, C.; MONJE, J. C.; SAMYN, Y.; VANDENSPIEGEL, D. **ABC Taxa: Manual on field recording techniques and protocols for all taxa biodiversity inventories**. 2010. 68-99 pp.

PARRA-FLORES, A. M.; PONCE-PALAFOX, J. T.; SPANOPOULOS-HERNÁNDEZ, M.; MARTINEZ-CARDENAS, L. Feeding behavior and ingestion rate of juvenile shrimp of the genus *Penaeus* (Crustacea: Decapoda). **J Sci**, 3, 111-113. 2019.

PATEK, S. N.; BAIO, J. E. The acoustic mechanics of stick–slip friction in the California spiny lobster (*Panulirus interruptus*). **J Exp Biol**, 210, 3538-3546. 2007.

PEIXOTO, S.; SOARES, R.; SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D. A. Acoustic activity of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquaculture**, 525, 735307. 2020a.

PEIXOTO, S.; SOARES, R.; DAVIS, D. A. An acoustic based approach to evaluate the effect of different diet lengths on feeding behavior of *Litopenaeus vannamei*. **Aquacult Eng**, 91, 102114. 2020b

PEIXOTO, S.; SILVA, J. F.; SOARES, R.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D. A. The role of acoustics in shrimp feeding activity. In: Aquaculture America 2020. **Anais [...]**. Honolulu, Hawaii, USA. 2020c. p. 525.

PEIXOTO, S.; STREBEL, L.; SOARES, R.; DAVIS, D. A. Acoustic feeding responses using marine chemoattractants in plant-based diets for naive and non-naive *Litopenaeus vannamei*. **Appl Anim Behav Sci**, 257, 105792. 2022.

PONTES, C. S.; ARRUDA, M. F.; MENEZES, A. A.; LIMA, P. P. Daily activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) juveniles under laboratory

conditions. **Aquac Res**, 37, 1001-1006. 2006.

PONTES, C. S.; LIMA, P. P.; ARRUDA, M. F. Feeding responses of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed at different frequencies under laboratory conditions. **Aquac Res**, 39, 1416-1422. 2008.

POPPER, A. N.; SALMON, M.; HORCH, K. W. Acoustic detection and communication by decapod crustaceans. **J Comp Physiol A**, 187, 83-89. 2001.

POPPER, A. N.; HAWKINS, A. D. The importance of particle motion to fishes and invertebrates. **J Acoust Soc Am**, 143, 470-488. 2018.

RADFORD, C.; SLATER, M. Soundscapes in aquaculture systems. **Aquacult Environ Interact**, 11, 53-62. 2019.

RADFORD, C. A.; STANLEY, J. A. Sound detection and production mechanisms in aquatic decapod and stomatopod crustaceans. **J Exp Biol**, 226, jeb243537. 2023.

RADFORD, C. A.; JEFFS, A. G.; TINDLE, C. T.; MONTGOMERY, J. C.; Temporal patterns in ambient noise of biological origin from a shallow water temperate reef. **Oecologia**, 156, 921-929. 2008.

REGO, M. A. S.; SABBAG, O. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Financial viability of inserting the biofloc technology in a marine shrimp *Litopenaeus vannamei* farm: a case study in the state of Pernambuco, Brazil. **Aquacult Int**, 25, 473-483. 2017.

REIS, J.; NOVRIADI, R.; SWANEPOEL, A.; JINGPING, G.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Optimizing feed automation: improving timer-feeders and on demand systems in semi-intensive pond culture of shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 519, 734759. 2020.

REIS, J.; WELDON, A.; ITO, P.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Automated feeding systems for shrimp: Effects of feeding schedules and passive feedback feeding systems. **Aquaculture**, 541, 736800. 2021.

REIS, J.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; RHODES, M.; CHING, C.; DAVIS, D. A.; Passive acoustic monitoring as a tool to assess feed response and growth of shrimp in ponds and research systems. **Aquaculture**, 546, 737326. 2022.

REIS, J.; HUSSAIN, A. S.; WELDON, A.; WALSH, S.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Passive acoustic feeders as a tool to assess feed response and growth in shrimp pond production. **Aquac Int**, 31, 1643-1657. 2023.

ROY, L. A.; TEICHERT-CODDINGTON, D.; BECK, B. H.; DAHL, S.; JAMES, J.; GUO, J.; DAVIS, D. A. Evaluation of stocking density and dietary fish meal inclusion for intensive tank production of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in low-salinity waters of west Alabama. **N Am J Aquac**, 82, 345-353. 2020.

SAL MOYANO, M. P.; CERAULO, M.; MAZZOLA, S.; BUSCAINO, G.; GAVIO, M. A. Sound production mechanism in the semiterrestrial crab *Neohelice granulata*

(Brachyura, Varunidae). **J Acoust Soc Am**. 146, 3466-3474. 2019.

SANCHEZ, D. R.; FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; CASTILLE, F. L.; DUNSFORD, B. A methodology for evaluation of dietary feeding stimulants for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 36, 14-23. 2005.

SANTOS, A. D. A.; LÓPEZ-OLMEDA, J. F.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; FORTES-SILVA, R. Synchronization to light and mealtime of the circadian rhythms of self-feeding behaviour and locomotor activity of white shrimps (*Litopenaeus vannamei*). **Comp Biochem Physiol**, 199, 54-61. 2016.

SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; ROCHA, J. V.; BORIE, A.; TRAVASSOS, P.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei* in captivity. **Aquaculture**, 501, 76-81. 2019.

SILVA, P. F.; MEDEIROS, M. S.; SILVA, H. P. A.; ARRUDA, M. F. A study of feeding in the shrimp *Farfantepenaeus subtilis* indicates the value of species level behavioral data for optimizing culture management. **Mar Fresh Behav Phy**, 45, 121-134. 2012.

SLATER, M.; FRICKE, E.; WEISS, M.; REBELEIN, A.; BÖGNER, M.; PREECE, M.; RADFORD, C. The impact of aquaculture soundscapes on whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* and Atlantic salmon *Salmo salar*. **Aquacult Environ Interact**, 12, 167-177. 2020.

SMITH, D. V.; SHAHRIAR, M. S. A context aware sound classifier applied to prawn feed monitoring and energy disaggregation. **Knowl-Based Syst**, 52, 21-31. 2013.

SMITH, D. V.; TABRETT S. The use of passive acoustics to measure feed consumption by *Penaeus monodon* (giant tiger prawn) in cultured systems. **Aquac Eng**, 57, 38-47. 2013.

SMITH, D. M.; TABRETT, S.; BARCLAY, M.; IRVIN, S. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. **Aquac Nutr**, 11, 263-272. 2005.

SOARES, R.; WASIELESKY, W.; PEIXOTO, S.; D'INCAO, F.; Food consumption and gastric emptying of *Farfantepenaeus paulensis*, **Aquaculture**, 250, 283-290. 2005.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; GALKANDA-ARACHCHIGE, H. S. C.; DAVIS, D. A.; Growth performance and acoustic feeding behavior of two size classes of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquac Int**, 29, 399-415. 2021a.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; DAVIS, R. P.; DAVIS, D. A. Feeding behavior and growth of *Litopenaeus vannamei* fed soybean-based diets with added feeding effectors. **Aquaculture**, 536, 736487. 2021b

SOLÉ, M.; KAIFU, K.; MOONEY, T. A.; NEDELEC, S. L.; OLIVIER, F.; RADFORD, A. N.; VAZZANA, M.; WALE, M. A.; SEMMENS, J. M.; SIMPSON, S. D.; BUSCAINO, G.; HAWKINS, A.; AGUILAR DE SOTO, N.; AKAMATSU, T.; CHAUVAUD, L.; DAY, R. D.; FITZGIBBON, Q.; MCCAULEY, R. D.; ANDRE, M. Marine invertebrates and noise. **Front Mar Sci**, 10, 1129057. 2023.

STEINER, J. E.; HARPAZ, S. Behavior stereotypes of food acceptance and of the rejection of 'bitter' food in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Chem Senses**, 12, 89-97. 1987.

STREBEL, L. M.; NGUYEN, K.; ARAUJO, A.; CORBY, T.; RHODES, M.; BECK, B. H.; ROY, L. A.; DAVIS, D. A. On demand feeding and the response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to varying dietary protein levels in semi-intensive pond production. **Aquaculture**, 574, 739698. 2023.

SU, Y.; M. A.; S.; TIAN, X.; DONG, S. A Study on the contribution of different food sources to shrimp growth in an intensive *Fenneropenaeus chinensis* pond. **J Ocean Univ China**, 7, 453-456. 2008.

SURESH, A. V.; KUMARAGURU-VASAGAM, K. P.; NATES, S. Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry byproduct meal. **Aquaculture**, 319, 132-140. 2011.

TABBARA, M.; STREBEL, L.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; MORAIS, S.; DAVIS, D. A. Use of passive acoustic monitoring to evaluate the effects of a feed effector on feeding behavior, growth performance, and salinity stress tolerance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 582, 740499. 2024.

ULLMAN, C.; RHODES, M.; CLINE, D.; HANSON, T. R.; DAVIS, D. A.; Effects of four different feeding techniques on the pond culture of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 50, 54-64. 2019a.

ULLMAN, C.; RHODES, M. A.; DAVIS, D. A. Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 498, 44-49. 2019b.

VIRTANEN, T.; PLUMBLEY, M. D.; ELLIS, D. Computational analysis of sound scenes and events. New York, Springer. 2018. 417 p.

WALSH, S.; NGUYEN, K.; STREBEL, L.; RHODES, M.; DAVIS, A. Utilising feed effectors and automated feeders for Semi-intensive pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. **Aquac Fish Fish**, 2, 540-551. 2022.

WEI, M. Y.; LIN, K.; CHEN, W.; SU, W.; CHENG, E. Study on feeding activity of *Litopenaeus vannamei* based on passive acoustic detection. **IEEE Access**, 8, 156654-156662. 2020.

WEI, M.; CHEN, K.; LIN, Y.; CHENG, E. Recognition of behavior state of *Penaeus vannamei* based on passive acoustic technology. **Front Mar Sci**, 9, 973284. 2022.

YUAN, Y.; LAWRENCE, A. L.; CHEHADE, S. B.; JENSEN, K. BARRY, R. J.; FOWLER, L. A.; MAKOWSKY, R.; POWELL, M. L.; WATTS, S. A. Feed intake as an estimation of attractability in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 532, 736041. 2021.

ZIMMER, W. M. X. **Passive acoustic monitoring of cetaceans**. Cambridge University Press, Cambridge. 2011. 368 p.

CAPÍTULO II

Estudo de caso: efeito do ciclo de muda na característica acústica de cliques emitidos
pelo camarão *Litopenaeus vannamei*

(Artigo a ser submetido para o periódico Aquaculture)

Resumo

Nos camarões peneídeos, as mandíbulas são responsáveis pela emissão de sons semelhantes a um “clique” quando se chocam durante a ingestão de alimento, o que vêm sendo utilizado para avaliação da atividade alimentar. Assim, os parâmetros acústicos dos cliques poderiam ser afetados por variações na dureza dos dentes mandibulares, relacionadas a sua espessura cuticular durante o ciclo de muda. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do ciclo de muda nas características acústicas dos cliques emitidos durante a atividade alimentar de *Litopenaeus vannamei*. Os parâmetros acústicos e espessura cuticular da mandíbula foram comparados em camarões nos estágios de intermuda (cutícula rígida) e pós-muda (cutícula macia). Foram utilizados camarões com peso médio de 8,75 g, mantidos individualmente em 24 tanques em sistema de recirculação de água. Um grupo de 12 animais tiveram sua atividade alimentar com ração comercial gravada logo após a ecdise (grupo pós-muda), enquanto outros 12 foram gravados na metade do seu ciclo de muda (grupo intermuda). As gravações ocorreram em câmaras anecoicas com hidrofone conectado a um gravador digital (taxa de amostragem de 192 kHz), e os parâmetros acústicos dos cliques caracterizados no software Raven® 1.5 Pro. Após as gravações os camarões tiveram suas mandíbulas retiradas para medição do comprimento e análise histológica da cutícula mandibular. As medidas morfométricas corporais (peso e comprimento) e mandibular não diferiram entre os grupos de camarões, entretanto àqueles no estágio pós-muda apresentaram valores significativamente inferiores na espessura da cutícula mandibular. As características acústicas dos cliques emitidos durante a alimentação foram afetadas pelos estágios de muda, com menor energia (dB) e frequência máximas (kHz) em camarões no estágio pós-muda provavelmente relacionadas a menor espessura cuticular deste grupo. Embora variações na energia acústica máxima dos cliques tenham sido observadas em relação aos ciclos de muda analisados, acredita-se que as variações na energia da paisagem acústica também estariam relacionadas a reduções na taxa de emissão de cliques associadas a diminuição da atividade alimentar dos camarões no estágio pós-muda. Os resultados podem contribuir para a avaliação do comportamento alimentar associado ao ciclo de muda, assim como para otimização de algoritmos que controlam os alimentadores automáticos acústicos em sistemas de criação de camarões em larga escala.

1. Introdução

A ecdise ou muda, é o processo no qual os camarões abandonam o exoesqueleto antigo, substituindo sua cutícula rígida por uma nova subjacente ainda macia e flexível (DALL et al.,1990). Durante este processo os animais absorvem uma grande quantidade de água e aumentam rapidamente de tamanho, que é acompanhado pela nova cutícula durante seu enrijecimento. A troca cíclica do exoesqueleto ocorre mais frequentemente nos estágios larvais e fases iniciais de vida, ficando mais espaçada ao longo das fases juvenil e adulta. O intervalo entre mudas sucessivas pode variar entre 1,5 dias em pós-larvas a 7 dias em juvenis (5 g) (LEMOS e WEISSMAN, 2021), ou entre 5 e 11 dias para camarões com peso de 2 e 15 g, respetivamente (CORTEEL e NAUWYNCK, 2010). O ciclo de muda completo pode ser dividido nos seguintes estágios: pré-muda (D), quando ocorrem preparações morfológicas e fisiológicas para que a ecdise ocorra; muda ou ecdise (E), momento em que cutícula antiga é perdida; pós-muda (A-B), estágio imediatamente após a muda quando inicia a substituição da água incorporada pela massa de tecido; e intermuda (C), quando a nova cutícula está inteiramente rígida, ocorrendo crescimento muscular e acúmulo de reservas para próxima muda (DALL et al., 1990; LEMOS e WEISSMAN, 2021). Almeida Neto e Freire (2007) observaram que a textura do exoesqueleto de *Litopenaeus vannamei* pode ser utilizada como método de determinação do período de muda. Os autores sugeriram que a relação entre o estágio A e a textura mole seria explicada pela cutícula semi-calcificada com alta permeabilidade, enquanto a textura normal (rígida) no estágio C seria pela completa calcificação do exoesqueleto.

O exoesqueleto dos crustáceos é formado pelas seguintes camadas: uma epicutícula externa fina, uma pró-cutícula espessa e pela epiderme subjacente. A pró-cutícula, quando desenvolvida, consiste em uma exocutícula externa e uma endocutícula interna. A cutícula é secretada pela epiderme, uma camada única de células com intensa atividade secretora. A composição da cutícula consiste principalmente por água, proteínas, um polissacarídeo (quitina), minerais e outras substâncias que se distribuem diferentemente nas diversas camadas. A quitina forma uma estrutura em teia que, preenchida por proteína, confere resistência ao exoesqueleto (CORTEEL e NAUWYNCK, 2010). Porém, a mineralização por carbonato de cálcio foi adotada pela maioria dos crustáceos para o reforço geral do seu exoesqueleto. Normalmente, a parte mais mineralizada do exoesqueleto é a mandíbula que está equipada com processos dentários especializados, "incisivos" para morder e cortar (e.g. camarões peneídeos e carídeos) e "molares" para triturar e mastigar (e.g. camarões carídeos). Nestas espécies,

as mandíbulas apresentam uma elaborada biomineralização que combina vários minerais dispostos em padrões de distribuição bem definidos, específicos de cada espécie, que refletem os hábitos alimentares do organismo. Evolutivamente, os camarões, entre outros crustáceos, passaram a incluir fosfato de cálcio para aumentar a dureza e resistência ao desgaste de suas mandíbulas, em função da elevada carga mecânica na região (BENTOV et al., 2016).

As mandíbulas também são responsáveis pela emissão de sons semelhantes a um “clique”, quando se chocam durante a ingestão de alimento pelos camarões peneídeos *Litopenaeus setiferus* (BERK et al., 1998), *Penaeus monodon* (SMITH e TABRETT, 2013) e *L. vannamei* (SILVA et al., 2019), e carídeo *Macrobrachium rosenbergii* (HAMILTON et al., 2021). A emissão destes cliques tem possibilitado o emprego do monitoramento acústico passivo (PAM) em estudos sobre o comportamento alimentar de camarões (PEIXOTO et al., 2020a,b; SOARES et al., 2021a,b; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024), bem como para o desenvolvimento de sistemas de alimentação baseados em acústica passiva (NAPAUMPAIPOM et al., 2013; JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023). Foi observado que o tamanho da mandíbula está fortemente correlacionado com os parâmetros acústicos dos cliques produzidos por *L. vannamei* de 0,01 a 12g, com menor energia acústica (dB) produzida por camarões abaixo de 1 g (HAMILTON et al., 2024). Assim, poderíamos supor que os parâmetros acústicos dos cliques também seriam afetados por variações na dureza dos dentes mandibulares, relacionadas a sua espessura cuticular durante o ciclo de muda. Entretanto, ainda não foram realizados estudos com PAM para esclarecer este fato, bem como não se tem informação sobre sua influência na detecção da energia emitida pelos cliques durante o ciclo de muda dos camarões pelos algoritmos de alimentadores automatizados.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do ciclo de muda nas características acústicas dos cliques emitidos durante a atividade alimentar de *L. vannamei*. Os parâmetros acústicos e espessura cuticular da mandíbula foram comparados em camarões nos estágios de intermuda (cutícula rígida) e pós-muda (cutícula macia). Os resultados podem contribuir para a interpretação e detecção de sinais acústicos associados a eventos de muda e aperfeiçoamento do manejo alimentar automatizado baseado em PAM.

2. Material e métodos

2.1. Delineamento experimental

Foi utilizado um grupo de *L. vannamei* com peso médio de $8,75 \pm 1,05$ g, comprimento total de $10,31 \pm 0,39$ cm e comprimento do cefalotórax $2,31 \pm 0,08$ cm, distribuídos aleatoriamente e mantidos individualmente em 24 tanques retangulares de polietileno (48x28x24 cm; 27 L) em sistema de recirculação de água (salinidade 10), composto por um tanque-reservatório de 500L (sump), filtro de tela, filtro biológico e “skimmer”. Duas bombas centrífugas (1 CV) mantiveram uma taxa de recirculação de água de 4 vezes ao dia nos tanques do sistema. A aeração foi fornecida constantemente através de um compressor de ar eletromagnético (2 CV) conectado a mangueiras de silicone com uma pedra porosa por tanque. O fotoperíodo foi natural de aproximadamente 12h luz e 12h escuro. Os camarões foram alimentados três vezes ao dia (8, 12 e 16 h) utilizando ração comercial (Presence, Density 40 CR2; 40% proteína; tamanho pélete ~ 1,5 mm). Os parâmetros de qualidade de água de temperatura, salinidade e pH foram monitorados diariamente no sistema de recirculação com a utilização de medidor multiparâmetro (YSI 556 MPS, YSI Inc. / Xylem Inc., EUA). Já as concentrações de amônia e nitrito na água do sistema foram analisadas a cada dois dias em espectrofotômetro (HACH 3900, Hach, Alemanha).

O experimento foi iniciado com o monitoramento diário dos 24 camarões no início da manhã para detectar a presença de ecdise nos tanques e calcular o tempo (em dias) do ciclo de muda para cada animal. Um grupo de 12 camarões foram selecionados aleatoriamente para serem gravados logo após a sua segunda ecdise, equivalendo ao estágio inicial de pós-muda ou estágio A (grupo pós-muda). Outros 12 camarões foram gravados na metade do seu ciclo de muda, ou seja, aproximadamente no meio do seu estágio intermuda seguinte ou estágio C (grupo intermuda) (Figura 1).

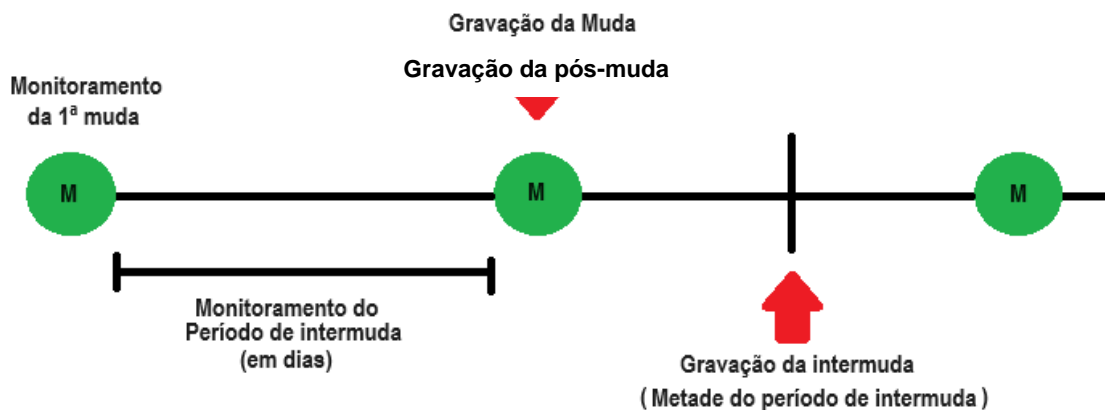


Figura 1. Desenho esquemático das gravações da atividade alimentar do camarão *L. vannamei* nos estágios de pós-muda e intermuda para obtenção dos parâmetros acústicos. Os círculos verdes indicam eventos de muda (M) e as setas vermelhas os momentos em que foram realizadas as gravações dos grupos pós-muda e intermuda.

2.2. Gravações acústicas da alimentação

As gravações para caracterização de cliques emitidos durante a atividade alimentar foram realizadas em câmaras anecoicas compostas tanques retangulares de polietileno (48x28x30 cm) revestidos com espuma de poliuretano (espessura: 30 mm; densidade: 28 Kg/m³), para minimizar a reflexão e ressonância do som (Figura 2). Estas câmaras possuíam um volume útil de 25 L e foram abastecidas com a mesma água dos tanques de origem dos camarões, porém sem recirculação de água e aeração para evitar ruídos nas gravações. Quando foi detectada presença da segunda muda nos tanques (grupo pós-muda) ou alcançando o tempo estimado relativo à metade do estágio intermuda (grupo intermuda), os camarões foram transferidos individualmente no início da manhã (8 h) e aclimatados por 1 hora nas câmaras anecoicas antes do início da gravação (Figura 2). Um total de três câmaras estavam disponíveis caso fosse necessário múltiplas gravações em um mesmo dia.

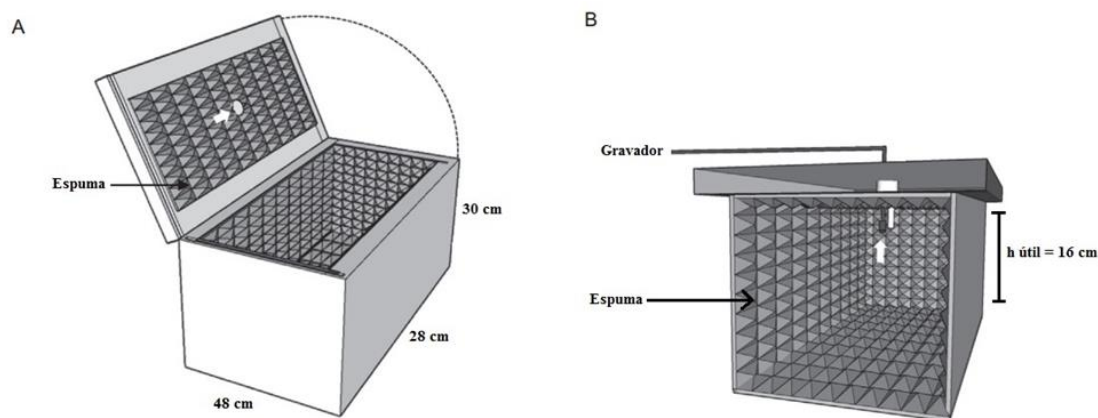


Figura 2. Vistas superior (A) e corte longitudinal (B) da câmara anecoica utilizada para caracterização dos cliques em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei*. A conexão com o gravador digital foi feita através do hidrofone inserido no interior da câmara por uma abertura na parte superior da tampa (setas brancas).

O equipamento de gravação foi composto por hidrofones omnidirecionais AS-1 (Aquarian Audio, EUA) com resposta de frequência linear de 1Hz a 100kHz (sensibilidade de $-208\text{dB r } 1\text{V}/\mu\text{Pa}$), acoplados a pré-amplificadores PA4 (Aquarian Audio, EUA) com ganho de 26 dB e conectados a um gravador digital F6 (Zoom Inc. EUA). Foi utilizada a taxa de amostragem mais elevada do gravador (192 kHz; 16 bits), permitindo captar sons com frequências máximas de até 96 kHz. As gravações foram realizadas por um período de 30 minutos, contados após o oferecimento *ad libitum* da mesma ração utilizada durante a manutenção dos camarões no sistema de recirculação.

2.3. Caracterização acústica dos cliques

Os arquivos de áudio (.wav) da atividade alimentar de cada camarão no estágio de intermuda e pós-muda foram transferidos do gravador para um computador de alto desempenho (Intel® Core™ i5-12400, 32 GB DDR4, 1 TB SSD 500w), onde foram analisados no software Raven® 1.5 Pro (Universidade de Cornell, EUA). Foram gerados espectrogramas (Tipo: hann; Sobreposição: 50%; Resolução: 512 amostras) dos arquivos de áudio para identificação manual dos pulsos sonoros (cliques) presentes, de acordo com parâmetros acústicos gerais descritos por Silva et al. (2019) e Hamilton et al. (2024) para *L. vannamei*. Após a identificação, foram selecionados aleatoriamente pelo menos dez cliques (ou o total de cliques na gravação) para a sua caracterização acústica individualizada. As variáveis selecionadas para caracterizar os cliques foram: frequência mínima e máxima (kHz), pico da frequência (kHz), energia máxima (dB) e duração (ms).

2.4. Análise do nível de energia acústica durante a atividade de alimentação

Os arquivos áudio também foram avaliados em relação à energia acústica (dB) gerada durante a atividade alimentar dos camarões em intermuda e pós-muda. Nesta análise, primeiramente os espectrogramas dos arquivos de áudio foram analisados no software Raven 1.5 Pro para remover manualmente qualquer ruído adicional durante as gravações (30 min), tais como o impacto na água da oferta inicial de ração ou choques acidentais no hidrofone por parte dos camarões. Após este passo, foram geradas seleções automáticas com duração fixa de 15 s nos arquivos de áudio, e os valores de energia máxima (maximum power; dB) foram calculados para cada intervalo de tempo. Esses valores foram utilizados para representação gráfica e comparação da energia máxima nos intervalos de 15 s ao longo dos 30 min de gravações para camarões em intermuda e pós-muda.

2.5. Análise morfológica e histológica das mandíbulas

Após a realização das gravações, os camarões em estágios de pós-muda e intermuda foram insensibilizados com gelo e mortos para a remoção do par de mandíbulas. As mandíbulas (direita e esquerda) foram dissecadas e medidas em estereomicroscópio Leica EZ4 (Leica Microsystems, Alemanha) com câmera digital integrada (0,01 mm), onde foram obtidas as medidas de comprimento total das mandíbulas (CM, mm), conforme exemplificado na figura 3A. Em seguida as mandíbulas foram inseridas em solução salina de Davidson (12 h) para a desmineralização e fixação, e foram conservadas em álcool 70% por 24 h. Posteriormente, as mandíbulas direitas foram submetidas ao processo histológico padrão, sendo desidratadas em séries crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina a 58° C.

Os cortes histológicos das mandíbulas direitas foram realizados em micrótomo rotativo Leica RM2145 (Leica Microsystems, Alemanha), sendo seccionados a 5µm na posição transversal e corados em hematoxilina e eosina-floxina (H/E-F) para a identificação de substâncias ácidas e básicas, respectivamente. As lâminas foram observadas sob um microscópio óptico (Leica DM500, Leica Microsystems, Alemanha) equipado com uma câmera digital (Leica ICC50HD, Leica Microsystems, Alemanha). As amostras histológicas foram fotomicrografias e digitalizadas com o software Leica LAS EZ 3.4 (Leica Microsystems, Alemanha) com objetivas de 4× a 100× de ampliação. A espessura do tecido cuticular foi mensurada (µm) através do software ImageJ para Windows (SCHNEIDER et al., 2012). As medidas realizadas foram da espessura total da

cutícula mandibular (EM) e da espessura da camada endocuticular (EEnd), conforme exemplificado a figura 3B.

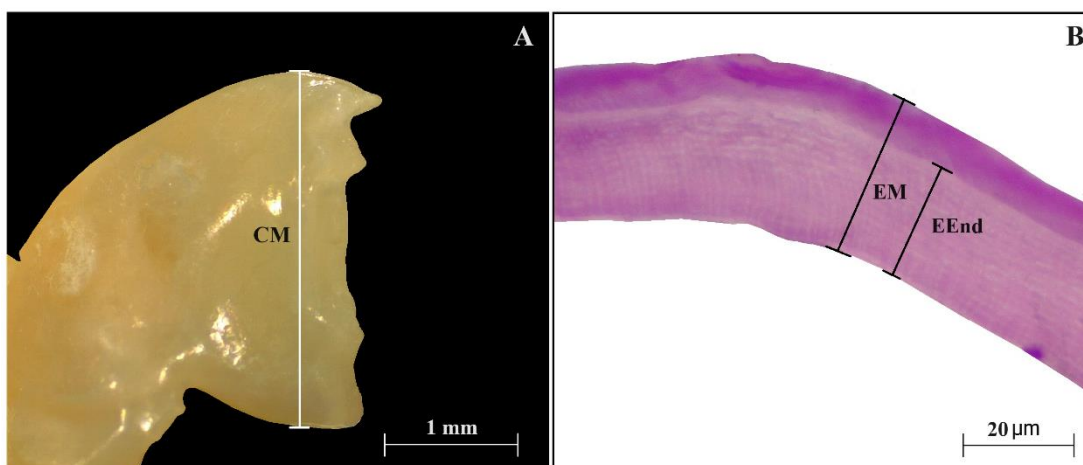


Figura 3. Fotomicrografia indicando as medidas relacionadas as mandíbulas do camarão *L. vannamei*. (A) Comprimento total da mandíbula (CM) realizado macroscopicamente. (B) Comprimento associado às espessuras da cutícula mandibular (EM) e camada endocuticular (EEnd) realizados microscópicamente através de cortes histológicos.

2.6. Análises estatísticas

O comprimento das mandíbulas esquerda e direita dos camarões não diferiram significativamente entre si quando comparados pelo teste T, sendo então agrupados e comparados novamente entre os grupos de camarões no estágio de intermuda e pós-muda. As medidas de peso e comprimento dos camarões, assim como as de espessura da cutícula mandibular, também foram comparadas entre os grupos de camarões na intermuda e pós-muda através do teste T. Os dados dos parâmetros acústicos dos cliques e de energia máxima em intervalos de 15 s nas gravações não apresentaram distribuição normal (teste Ryan-Joiner) e foram comparados entre os grupos de camarões na intermuda e pós-muda usando o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Minitab versão 18.1 (Minitab, Inc), com um nível de significância de $p < 0,05$.

3. Resultados

Os parâmetros de qualidade de água no sistema de recirculação apresentaram os seguintes valores de temperatura $29,7 \pm 1,5$ °C; salinidade $10,2 \pm 1,1$; oxigênio dissolvido $4,5 \pm 0,4$ mg/L; pH $8,9 \pm 0,2$; alcalinidade 209 ± 58 mg/L; amônia $0,3 \pm 0,2$ mg/L e nitrito $1,5 \pm 0,5$ mg/L.

O intervalo médio de muda dos camarões, acompanhando durante a sua manutenção no sistema recirculação, foi de 11 ± 4 dias. O peso dos camarões no estágio intermuda e pós-muda, correspondendo a $8,85 \pm 1,22$ g e $8,66 \pm 0,86$ g, respectivamente, não apresentou diferenças significativas entre os grupos, assim como suas medidas de comprimento total e carapaça (Tabela 1).

O comprimento total das mandíbulas não diferiu significativamente entre os grupos de camarões no estágio intermuda ($2,26 \pm 0,12$ mm) e pós-muda $2,18 \pm 0,16$ (Tabela 1). As características morfológicas das mandíbulas também foram semelhantes entre estes dois grupos de camarões, apresentando um par de dentes incisivos achatados e dentículos bem desenvolvidos nas extremidades.

A análise histológica das mandíbulas para os camarões no estágio intermuda e pós-muda mostrou que ambos apresentam a cutícula mandibular composta por três camadas: a primeira camada mais externa da epicutícula, a segunda camada intermediária da exocutícula, e uma terceira camada mais interna e espessa denominada endocutícula (Figura 4). Apesar da semelhança na distribuição das camadas cuticulares, foram observados valores significativamente superiores, tanto na espessura total da cutícula mandibular, quanto na espessura da camada endocuticular em camarões no estágio de intermuda (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios (\pm DP) das medidas morfométricas dos camarões *L. vannamei* nos estágios de intermuda e pós-muda.

Medidas morfométricas	Intermuda	Pós-muda	Valor-p
Peso (g)	$8,85 \pm 1,22^a$	$8,66 \pm 0,86^a$	0,688
Comprimento total (cm)	$10,25 \pm 0,51^a$	$10,36 \pm 0,36^a$	0,656
Comprimento carapaça (cm)	$2,30 \pm 0,10^a$	$2,33 \pm 0,07^a$	0,305
Comprimento mandíbula (mm)	$2,26 \pm 0,12^a$	$2,18 \pm 0,16^a$	0,165
Espessura cutícula mandibular (μ m)	$36,22 \pm 0,96^a$	$30,08 \pm 1,13^b$	< 0,001
Espessura endocutícula (μ m)	$22,59 \pm 0,38^a$	$19,92 \pm 0,71^b$	< 0,001

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

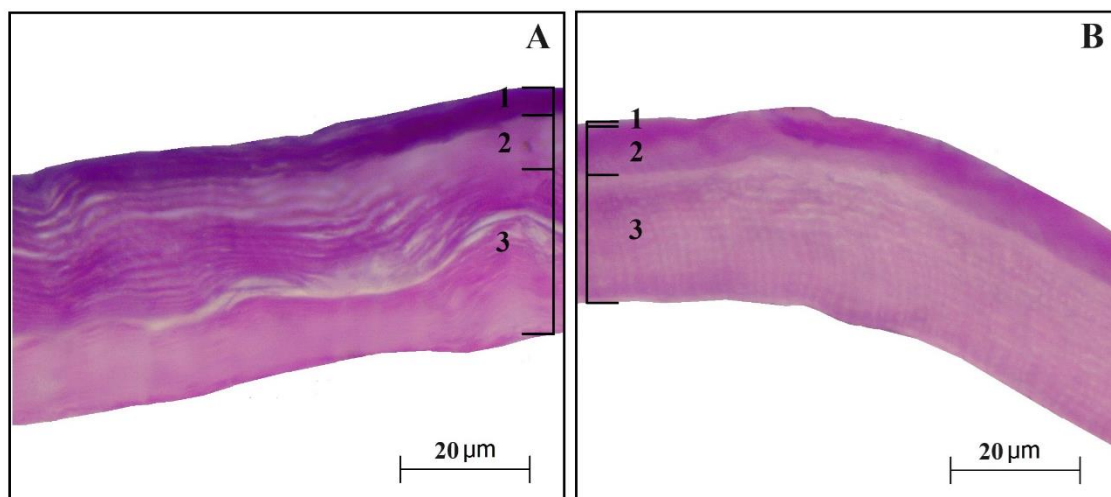


Figura 4. Fotomicrografia mostrando cortes histológicos corados hematoxilina e eosina-floxina da cutícula mandibular de *L. vannamei* no estágio de intermuda (A) e pós-muda (B). As camadas cuticulares estão indicadas pela numeração para epicutícula (1), exocutícula (2) e endocutícula (3).

Foram realizadas 24 gravações da atividade alimentar, correspondendo a 12 camarões no estágio de pós-muda e 12 no estágio intermuda. Nestas gravações, o camarão *L. vannamei* foi acusticamente ativo e emitiu sons tipo “clique” independentemente de estarem no estágio de intermuda ou pós-muda. Embora neste último, uma menor taxa de emissão de cliques tenha sido observada. Para a caracterização dos parâmetros acústicos, foram analisados 197 cliques nas gravações, sendo 131 para camarões em intermuda e 66 em pós-muda. Os parâmetros acústicos destes cliques estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Valores médios (\pm DP) dos parâmetros acústicos de cliques emitidos por *L. vannamei* durante a atividade alimentar nos estágios de intermuda e pós-muda.

Parâmetros acústicos	Intermuda	Pós-muda	Valor- <i>p</i>
Frequência mínima (kHz)	9,97 \pm 8,29 ^a	9,99 \pm 7,26 ^a	0,526
Frequência máxima (kHz)	81,26 \pm 16,78 ^a	72,05 \pm 20,22 ^b	0,002
Pico de frequência (kHz)	30,78 \pm 21,06 ^a	32,37 \pm 23,08 ^a	0,888
Energia máxima (dB)	46,56 \pm 9,87 ^a	42,41 \pm 6,42 ^b	0,004
Duração (ms)	4,79 \pm 1,94 ^a	5,48 \pm 2,39 ^a	0,062

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os valores médios de frequência mínima foram semelhantes nos cliques emitidos por camarões nos estágios de intermuda e pós-muda, mas a frequência máxima foi significativamente superior no grupo em intermuda (Tabela 2). O pico de frequência, onde a energia máxima do clique está concentrada, não apresentou diferença significativa entre os grupos intermuda e pós-muda, porém a energia emitida pelos cliques dos camarões na intermuda foi significativamente mais elevada do que no estágio de pós-muda. A duração do clique não apresentou diferença significativa entre os camarões na intermuda e pós-muda (Tabela 2). A figura 5 apresenta exemplos de cliques de camarões na intermuda e pós-muda, salientando as diferenças de frequência máxima e energia máxima em seus espectrogramas.

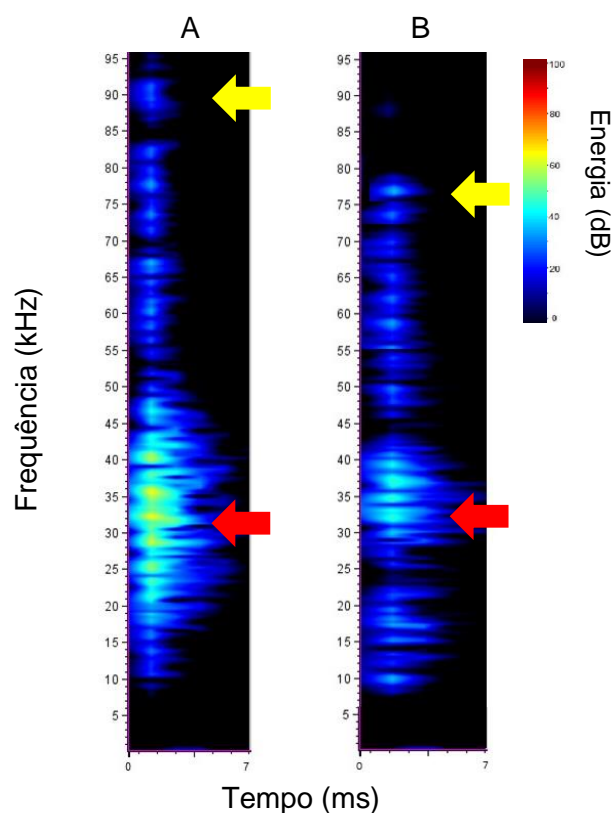


Figura 5. Exemplo de espectrograma de frequência ao longo do tempo, mostrando cliques de *L. vannamei* nos estágios de intermuda (A) e pós-muda (B). As setas amarelas indicam a frequência máxima dos cliques, enquanto as setas vermelhas indicam o pico da frequência, onde está localizada a energia máxima do sinal (dB; barra com escala colorida à direita).

A energia acústica máxima média registrada em intervalos fixos de 15 s ao longo dos 30 min nas gravações da atividade alimentar em camarões no estágio de intermuda e pós-muda, pode ser observada na figura 6. Os valores médios de energia máxima nestes

intervalos foram de $42,21 \pm 7,73$ dB para os camarões na intermuda e $39,81 \pm 4,95$ dB na pós-muda, diferindo significativamente entre os dois grupos ($p < 0,001$). Estes intervalos apresentaram um valor mínimo de 36,3 dB (i.e. energia da paisagem acústica de fundo) nas gravações de ambos os grupos de camarões, enquanto os valores máximos de energia registrados foram de 88,2 dB e 69,8 dB para os camarões no estágio intermuda e pós-muda, respectivamente.

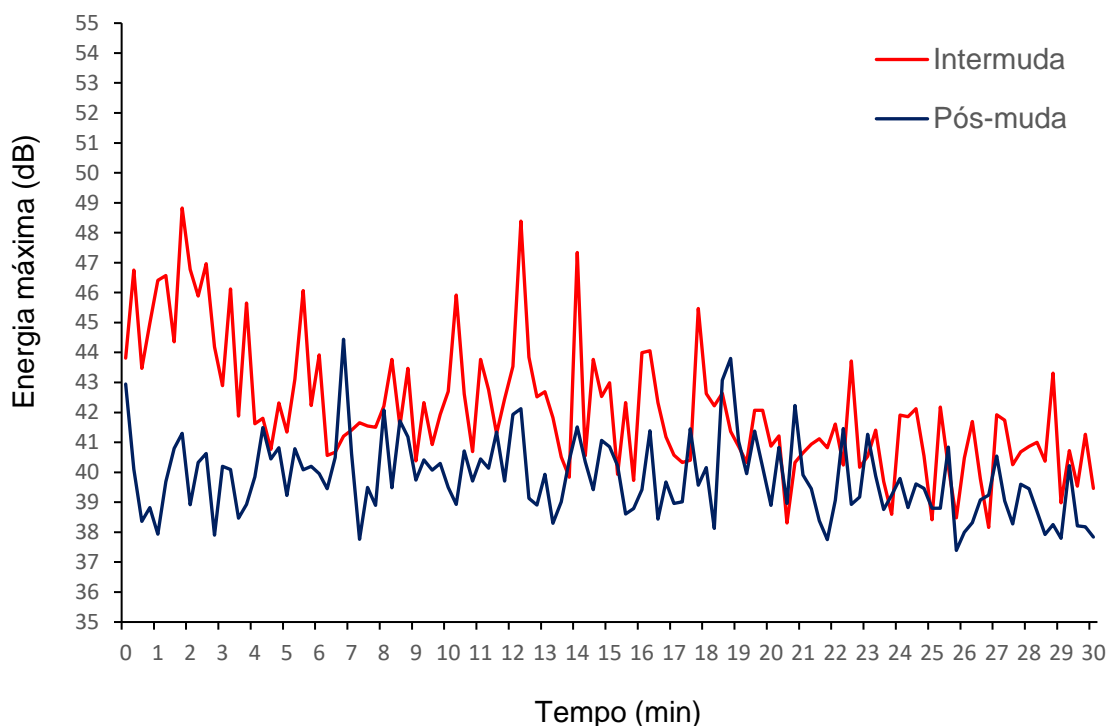


Figura 6. Representação gráfica dos valores médios de energia máxima (dB) registrados em intervalos de 15 s ao longo dos 30 min em gravações da atividade alimentar de *L. vannamei* nos estágios de intermuda e pós-muda.

4. Discussão

O ciclo de mudas dos camarões ocorre em intervalos de dias ou semanas, diferentemente de outros crustáceos decápodes (e.g. siris, caranguejos e lagostas) que tendem a apresentar intervalos mais longos entre mudas sucessivas (DALL et al., 1990). Variações intraespecíficas no ciclo de mudas ocorrerem em função do tamanho e idade dos indivíduos, assim como em função de diferentes fatores ambientais, tais como temperatura, fotoperíodo e espaço disponível (CHANG, 1995; DALL et al., 1990; LEMOS e WEISSMAN, 2021). A duração do ciclo de mudas (11 dias) registrada durante

a manutenção dos camarões no presente estudo, está dentro do intervalo característico para a fase de vida e condições ambientais de criação *L. vannamei*. A duração do ciclo de muda de *L. vannamei*, com peso aproximado de 8 g, foi estimada entre 10 e 13 dias em viveiro comercial com temperatura da água variando de 28 a 31 °C (ALMEIDA NETO e FREIRE, 2007). Uma duração similar do ciclo de muda (10-11 dias) foi reportada para *Farfantepenaeus duorarum* (4-8 g) mantidos individualmente em tanques na temperatura de 28 °C (BONILLA-GÓMEZ et al., 2013). Entretanto, quando camarões *L. vannamei* na mesma faixa de tamanho do presente estudo (11,5 a 13 cm de comprimento total) foram mantidos individualizados em tanques com temperaturas mais baixas (20-22 °C), o ciclo de muda teve sua duração ampliada para 24 a 40 dias (CHAN et al., 1988). Cabe ainda considerar que a manutenção dos camarões individualizados em tanques de pequenas dimensões e volume, como realizado no presente estudo, são fatores que podem influenciar na duração do ciclo de muda de crustáceos (CHANG, 1995).

Ao longo dos diversos estágios que compõem o ciclo de muda dos camarões, denominados como pré-muda (D), muda ou ecdise (E), pós-muda (A-B) e intermuda (C), os animais passam por mudanças drásticas na sua estrutura corporal, metabolismo e comportamento (PROMWIKORN et al., 2004; LEMOS e WEISSMAN, 2021). O estágio de pré-muda, caracterizado pela preparação biológica dos órgãos e tecidos para a perda da cutícula, pode ser dividido em quatro sub-estágios (D1, D2, D3 e D4) dependendo do grau de retração do tecido epidérmico da cutícula. Após o sub-estágio D4, os camarões levam apenas alguns segundos para perder sua cutícula antiga durante o processo de ecdise (estágio E). Em seguida, quando os animais entram no estágio pós-muda (A-B), ocorre a síntese e endurecimento da nova cutícula que se inicia imediatamente após a realização da ecdise (A), e segue durante o processo de mineralização da nova cutícula (B). Durante o estágio de intermuda (C), e seus respectivos sub-estágios (C1, C2, C3 e C4), os camarões complementam a síntese da pró-cutícula e atingirem a rigidez total do seu exoesqueleto (PROMWIKORN et al., 2004; LEMOS e WEISSMAN, 2021). O comportamento alimentar relacionado ao ciclo de muda têm sido alvo de pesquisas, devido principalmente a diminuições no consumo de ração durante a fase de ecdise dos camarões. Este fato estaria associado ao processo de troca do exoesqueleto, que afetaria a funcionalidade da estrutura bucal, esôfago e parte anterior do estômago (PANAKORN, 2018; LEMOS e WEISSMAN, 2021). Parece existir um consenso que a alimentação começa a diminuir nos sub-estágios que antecedem a muda (D2-D3), cessando durante o sub-estágio D4 e estágio E, e sendo retomada a partir dos estágios A e B (DALL et al.,

1990; LEMOS e WEISSMAN, 2021). Similarmente, a atividade alimentar de *L. vannamei* (11,5 a 13 cm de comprimento total) foi interrompida e reiniciada nestes mesmos sub-estágios e estágios do ciclo de muda (CHAN et al., 1988). Bonilla-Gómez et al. (2013) reportaram que o consumo alimentar de *F. duorarum* (4-8 g) apresentou um declínio que iniciou 20 h antes da ecdise, e se intensificou quatro horas antes desta, tornou a aumentar oito horas após a ecdise e voltou ao normal após cerca de 40 h. Os autores ressaltam que, embora o consumo alimentar tenha diminuído durante a muda, ele não cessou por completo tanto em indivíduos selvagens como oriundos de cativeiro. Os resultados do presente estudo corroboram com estas observações, uma vez que os camarões no estágio pós-muda (A-B) também se mostraram acusticamente ativos através da emissão de cliques durante a alimentação. Apesar deste ser o primeiro registro de atividade acústica no estágio pós-muda de *L. vannamei*, o desenho experimental não permitiu detectar o tempo exato decorrido entre a realização da ecdise e a gravação da atividade alimentar dos camarões, que pode ter ocorrido em até aproximadamente 16 h após a ecdise (estágio E). Neste sentido, o acompanhamento mais singularizado dos sub-estágios e estágios do ciclo de muda de *L. vannamei* com emprego de PAM pode fornecer futuramente informações mais detalhadas sobre os respectivos parâmetros acústicos de cliques e comportamento alimentar.

A atividade alimentar acústica foi detectada tanto em camarões no estágio intermuda como em pós-muda, porém o menor nível de energia sonora (dB) observado nas gravações destes últimos pode estar associado a uma menor voracidade, e consequentemente uma menor emissão de cliques neste estágio (CHAN et al., 1988; DALL et al., 1990; BONILLA-GÓMEZ et al., 2013; LEMOS e WEISSMAN, 2021). Bardera et al. (2019) utilizaram análises de vídeo para estudar os efeitos do ciclo de muda (pré-muda, intermuda e pós-muda) no comportamento alimentar de *L. vannamei* (10,5 g) em laboratório. Os autores reportaram que os camarões no estágio de pós-muda passaram a maior parte do tempo realizando comportamentos passivos (e.g. inatividade e detecção de alimento) e alimentaram-se durante menos tempo em comparação aos demais estágios. A menor energia acústica gerada por camarões no estágio pós-muda, pode também estar associada as variações na espessura (e possivelmente dureza) das mandíbulas devido ao processo de muda, o que pode ter afetado alguns parâmetros sonoros dos cliques. Neste contexto, os valores significativamente inferiores de frequência máxima (kHz) e energia máxima (dB) dos cliques isolados em camarões no estágio pós-muda, associados à sua menor voracidade, ajudariam a explicar a menor energia máxima em intervalos de 15 s

nas gravações da atividade alimentar de *L. vannamei* neste estágio, em comparação com os camarões na intermuda.

A estrutura mais mineralizada do exoesqueleto dos camarões peneídeos é a mandíbula, a qual possui processos dentários incisivos especializados para morder e cortar (BENTOV et al., 2021). Embora a mineralização por carbonato de cálcio seja utilizada para o reforço geral do exoesqueleto, os camarões, entre outros crustáceos, incluíram evolutivamente a deposição do fosfato de cálcio em locais específicos da mandíbula para aumentar sua resistência mecânica (BENTOV et al., 2016; BENTOV et al., 2021). Esta calcificação apresenta maior impregnação na extremidade dos dentículos incisivos, onde ocorre maior rigidez, e diminui em direção à base da mandíbula (BENTOV et al., 2016). A parte mais interna da mandíbula é constituída de tecido muscular, responsável pela abertura e fechamento da estrutura para a quebra do alimento através de sua contração e relaxamento (DALL et al., 1990). A emissão de som durante a oclusão mandibular de peneídeos encontra-se bem documentada (SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019), e vêm sendo utilizada para avaliar a atividade alimentar de *L. vannamei* em estudos com PAM em laboratório (PEIXOTO et al., 2020a,b; SOARES et al., 2021a,b; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024) e viveiros de criação (JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023). Recentemente, o tamanho da mandíbula foi associado as características dos parâmetros acústicos dos cliques produzidos por *L. vannamei* de 0,01 a 12g, os quais apresentaram uma menor energia acústica (dB) produzida por juvenis abaixo de 1 g (HAMILTON et al., 2024). Entretanto, os efeitos do processo de muda, e consequente alteração na espessura da cutícula mandibular, sobre as características acústicas dos cliques emitidos por *L. vannamei* foram avaliados pela primeira vez no presente estudo. Dentre as camadas que formam a cutícula dos crustáceos, a endocutícula é a principal responsável pela dureza do exoesqueleto por sua maior espessura e calcificação (ROER e DILLAMAN, 1984). Neste sentido, os resultados da histologia das mandíbulas suportam a hipótese de que a menor energia de cliques emitidos por camarões no estágio pós-muda estaria relacionada com a menor espessura da cutícula e endocutícula, e possivelmente menor dureza, dos dentes incisivos mandibulares.

As características acústicas dos cliques no presente estudo estiveram dentro dos limites de parâmetros observados para *L. vannamei* em diferentes estudos com PAM (REIS et al., 2022; Tabela 2, Capítulo I da presente Tese). Hamilton et al. (2024) realizou

a caracterização acústica de cliques emitidos por diferentes classes de tamanho *L. vannamei*, observando valores médios de energia máxima entre 40,8 e 44,8 dB para camarões com peso e comprimento da mandíbula semelhantes ao presente estudo. Estes valores de energia máxima de cliques foram similares aos registrados no presente estudo para camarões na pós-muda e intermuda (42,41 e 46,56 dB, respectivamente), que embora tenham diferido significativamente entre si em condições controladas de laboratório, possivelmente seriam igualmente detectados em sistemas automatizados de alimentação acústica. Em contraste, foi sugerido que as limitações para uso de alimentadores acústicos em fases iniciais do cultivo de *L. vannamei* estaria relacionada à menor energia máxima de cliques (23 dB) emitidos por juvenis abaixo de 1 g (HAMILTON et al., 2024). Entretanto, não existem informações disponibilizadas pela indústria sobre tal processo de detecção da energia de cliques, ou tomada de decisão pelos algoritmos, relacionados ao ciclo de mudas dos camarões em sistemas de criação com uso desta tecnologia. Nossos resultados sugerem que, embora as variações na espessura da mandíbula no estágio pós-muda interfiram nos parâmetros acústicos dos cliques, possíveis variações na energia da paisagem acústica decorrentes do processo de muda estariam mais relacionadas a reduções na taxa de emissão de cliques associadas a menor atividade alimentar. As informações do presente estudo podem contribuir na otimização de algoritmos que controlam os alimentadores automáticos acústicos, porém cabe considerar que os dados gerados devem ser validados em estudos com PAM em sistemas de criação de camarões em larga escala.

5. Referências bibliográficas

- ALMEIDA NETO, M. E.; FREIRE, A. G. Avaliação de consumo alimentar e textura do exoesqueleto do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae) em cultivo comercial, durante o ciclo de muda. **B Inst Pesca**, 33, 147-156. 2007.
- BARDERA, G.; OWEN, M. A. G.; POUNTNEY, D.; ALEXANDER, M. E.; SLOMAN, K. A. The effect of short-term feed-deprivation and moult status on feeding behaviour of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 511, 734222. 2019.
- BENTOV, S.; AFLALO, E. D.; TYNIAKOV, J.; GLAZER, L.; SAGI, A. Calcium phosphate mineralization is widely applied in crustacean mandibles. **Sci Rep**, 6, 22118. 2016.
- BENTOV, S.; PALMER, B. A.; BAR-ON, B.; SHELEF, Y.; AFLALO, E. D.; SAGI, A. Reinforcement of bio-apatite by zinc substitution in the incisor tooth of a prawn. **Acta Biomater**, 120, 116-123. 2021.

BERK, I. M. Sound production by the white shrimp (*Penaeus setiferus*), analysis of another crustacean-like sound from the Gulf of Mexico, and applications for passive sonar in the shrimping industry. **J Shellfish Res**, 17, 1497-1500. 1998.

BONILLA-GÓMEZ, J. L.; CHIAPPA-CARRARA, X.; GALINDO, C.; CUZÓN, G.; GAXIOLA, G. Effects of adaptation to laboratory conditions on growth, molting, and food consumption of juvenile *Farfantepenaeus duorarum* (Decapoda: Penaeidae). **J Crustacean Biol**, 33, 191-197. 2013.

CHAN, S. M.; RANKIN, S. M.; KEELEY, L. L. Characterization of the molt stages in *Penaeus vannamei*: Setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose. **Biol Bull**, 175, 185-192. 1988.

CHANG, E. S. Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapod crustaceans: an overview. **J Exp Mar Bio Ecol**, 193, 1-14. 1995

CORTEEL, M.; NAUWYNCK, H. J. The integument of shrimp: cuticle and its moult cycle. In: ALDAY-SANZ, V. (Editor). **The Shrimp Book**. Nottingham University Press, London. 2010. 73-88 pp.

DALL, W.; HILL, B. J.; ROTH LISBERG, P. C.; STAPLES, D. J. The Biology of the Penaeidae. **Advances in Marine Biology**. Academic Press, London. 1990. 504 p.

HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; COSTA FILHO, F.; PEIXOTO, S. Sound emission of *Macrobrachium rosenbergii* during feeding activity. **Aquac Res**, 52, 4841-4848. 2021.

HAMILTON, S.; COSTA FILHO, F.; SILVA, J. F.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. The loud crowd: Interactions between stocking density and acoustic feeding activity of different size classes of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 563, 738904. 2023.

HAMILTON, S.; MOURA, G. J. B.; COSTA, F.; CRAVEIRO, C.; CASTRO-NETO, H.; ALMEIDA, M.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Size matters: variability in the acoustic parameters during feeding activity of *Penaeus vannamei* in different size classes. **Aquaculture**, 587, 740843. 2024.

JESCOVITCH, L. N.; ULLMAN, C.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac Res**, 49, 526-531. 2018.

LE MOS, D.; WEISSMAN, D. Moulting in the grow-out of farmed shrimp: a review. **Rev Aquac**, 13, 5-17. 2021.

NAPAUMPAIPOM, T.; CHUCHIRD, N.; TAPARHUDEE, W. Study on the efficiency of three different feeding techniques in the culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **J Fish Environ**, 37, 8-16. 2013.

PANAKORN, S. Managing shrimp moulting. **Aquacult Asia Pac**, 14, 18-21. 2018.

PEIXOTO, S.; SOARES, R.; SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D.

A. Acoustic activity of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquaculture**, 525, 735307. 2020a.

PEIXOTO, S.; SOARES, DAVIS, D. A. An acoustic based approach to evaluate the effect of different diet lengths on feeding behavior of *Litopenaeus vannamei*. **Aquacult Eng**, 91, 102114. 2020b

PEIXOTO, S.; STREBEL, L.; SOARES, R.; DAVIS, D. A. Acoustic feeding responses using marine chemoattractants in plant-based diets for naive and non-naive *Litopenaeus vannamei*. **Appl Anim Behav Sci**, 257, 105792. 2022.

PROMWIKORN, W.; KIRIRAT, P.; THAWEETHAMSEWEE, P. Index of molt staging in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Songklanakarin J. Sci. Technol**, 26, 765-772. 2004.

REIS, J.; NOVRIADI, R.; SWANEPOEL, A.; JINGPING, G.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Optimizing feed automation: improving timer-feeders and on demand systems in semi-intensive pond culture of shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 519, 734759. 2020.

REIS, J.; WELDON, A.; ITO, P.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Automated feeding systems for shrimp: Effects of feeding schedules and passive feedback feeding systems. **Aquaculture**, 541, 736800. 2021.

REIS, J.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; RHODES, M.; CHING, C.; DAVIS, D. A.; Passive acoustic monitoring as a tool to assess feed response and growth of shrimp in ponds and research systems. **Aquaculture**, 546, 737326. 2022.

ROER, R.; DILLAMAN, R. The structure and calcification of the crustacean cuticle. **Amer Zool**, 24, 893-909. 1984.

SCHNEIDER, C.; RASBAND, W.; ELICEIRI, K. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nat Methods**, 9, 671-675. 2012.

SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; ROCHA, J. V.; BORIE, A.; TRAVASSOS, P.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei* in captivity. **Aquaculture**, 501, 76-81. 2019.

SMITH, D. V.; TABRETT S. The use of passive acoustics to measure feed consumption by *Penaeus monodon* (giant tiger prawn) in cultured systems. **Aquac Eng**, 57, 38-47. 2013.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; GALKANDA-ARACHCHIGE, H. S. C.; DAVIS, D. A.; Growth performance and acoustic feeding behavior of two size classes of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquac Int**, 29, 399-415. 2021a.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; DAVIS, R. P.; DAVIS, D. A. Feeding behavior and growth of *Litopenaeus vannamei* fed soybean-based diets with added feeding effectors. **Aquaculture**, 536, 736487. 2021b

STREBEL, L. M.; NGUYEN, K.; ARAUJO, A.; CORBY, T.; RHODES, M, BECK, B. H.; ROY, L. A.; DAVIS, D. A. On demand feeding and the response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to varying dietary protein levels in semi-intensive pond production. **Aquaculture**, 574, 739698. 2023.

TABBARA, M.; STREBEL, L.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; MORAIS, S.; DAVIS, D. A. Use of passive acoustic monitoring to evaluate the effects of a feed effector on feeding behavior, growth performance, and salinity stress tolerance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 582, 740499. 2024.

ULLMAN, C.; RHODES, M.; CLINE, D.; HANSON, T. R.; DAVIS, D. A.; Effects of four different feeding techniques on the pond culture of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 50, 54-64. 2019a.

ULLMAN, C.; RHODES, M. A.; DAVIS, D. A. Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 498, 44-49. 2019b.

WALSH, S.; NGUYEN, K.; STREBEL, L.; RHODES, M.; DAVIS, A. Utilising feed effectors and automated feeders for Semi-intensive pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. **Aquac Fish Fish**, 2, 540-551. 2022.

CAPÍTULO III

Estudo de caso: monitoramento acústico do comportamento de *Litopenaeus vannamei*
submetido a diferentes frequências alimentares

(Artigo a ser submetido para o periódico Aquaculture)

Resumo

A frequência alimentar é um dos principais aspectos que podem ser ajustados para otimizar o consumo de alimento e o desempenho zootécnico, reduzindo o desperdício de ração e a degradação da água no cultivo de camarões. Entretanto, não existe consenso sobre o número de alimentações diárias a serem oferecidas ou sobre o comportamento alimentar dos camarões. Assim, o presente estudo utilizou o monitoramento acústico passivo (PAM) para avaliar o comportamento alimentar de *Litopenaeus vannamei* submetido a diferentes frequências alimentares de uma a oito vezes ao dia. Camarões com peso médio de 3,31 g foram distribuídos em 12 tanques na densidade de 42 camarões/m² (seis animais por tanque), correspondendo a três réplicas de tratamento de frequências alimentares de uma, duas, quatro e oito vezes ao dia. Nestes tratamentos, foram ofertados 2 g de ração em única vez ou esta mesma quantidade dividida em duas, quatro ou oito porções diárias. Após oito horas de gravação da atividade alimentar (8 às 16h) com uso de hidrofones conectados a um gravador digital, a ração não consumida foi recolhida dos tanques. As análises das gravações da atividade alimentar nas diferentes frequências foram realizadas no software Raven® 1.5 Pro. O comportamento alimentar acústico de *L. vannamei* foi afetado pelas diferentes frequências de alimentação de uma a oito vezes ao dia, obtendo-se valores superiores de número de cliques emitidos e consumo de ração em grupos de camarões alimentados mais vezes ao dia. Em todas as frequências alimentares ocorreu um pico inicial de cliques associado a primeira alimentação do dia, entretanto novos picos de atividade acústica ocorreram somente após novas ofertas de alimento nos grupos de camarões submetidos às frequências de duas, quatro e oito vezes ao dia. Os resultados indicaram benefícios no emprego de múltiplas frequências de até oito vezes ao dia como forma de aumentar a atividade alimentar e consumo de ração dos camarões. O uso de PAM mostrou ser um método não invasivo e eficiente para avaliação do comportamento alimentar de *L. vannamei* em laboratório.

1. Introdução

A alimentação artificial é o maior custo variável nos sistemas de produção de camarão (REGO et al 2017; NUNES et al., 2022), o que justifica o esforço no desenvolvimento de protocolos eficientes de manejo alimentar. Neste contexto, a frequência alimentar é um dos principais aspectos que podem ser ajustados para otimizar o consumo de alimento e o desempenho zootécnico, reduzindo o desperdício de ração e a degradação da água no cultivo de camarões. A maioria dos estudos focam nas taxas de crescimento, sobrevivência e conversão alimentar dos camarões para avaliar diferentes frequências de alimentação, mas os relatos são contraditórios sobre quantas alimentações por dia seriam mais adequadas. Alguns autores sugeriram que aumentar a frequência alimentar em várias vezes ao dia apresenta benefícios (TACON et al., 2002; YE et al., 2005; CARVALHO e NUNES, 2006; AALIMAHMOUDI et al., 2016; ULLMAN et al., 2019c; NUNES et al., 2019b; XU et al, 2020), enquanto outros não encontraram nenhuma vantagem significativa quando os camarões foram alimentados mais de duas ou três vezes por dia (VELASCO et al., 1999; PEIXOTO et al., 2018; WASIELESKY et al., 2020; ESPINOZA-ORTEGA et al., 2024). O manejo alimentar é uma área da carcinicultura que se beneficiaria diretamente com a melhor compreensão do comportamento alimentar dos camarões (KAWAMURA et al., 2018; BARDERA et al., 2019a; PARRA-FLORES et al., 2019; LI et al., 2021; DE TAILLY et al., 2021). No entanto, existem poucos estudos que avaliaram as respostas comportamentais do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetido à diferentes frequências de alimentação em condições de laboratório (PONTES et al, 2008; LIMA et al., 2009).

Estudos etológicos têm contribuído significativamente para o conhecimento atual do comportamento alimentar dos camarões em relação a diferentes aspectos, tais como frequências de alimentação (PONTES et al, 2008; LIMA et al., 2009), ritmo circadiano (PONTES et al., 2006; SILVA et al., 2012; SANTOS et al., 2016), restrição alimentar e ciclo de muda (BARDERA et al., 2019b), densidade de estocagem (BARDERA et al, 2021), tamanho do pellet de ração (NUNES e PARSONS, 1998; OBALDO e MASUDA, 2006) e inclusão de atratores nas dietas (SANCHEZ et al, 2005; NUNES et al., 2006; AHAMAD-ALI et al., 2007; SURESH et al., 2011; DERBY et al., 2016; MONTOYA-MARTÍNEZ et al., 2018, NUNES et al., 2019a; YUAN et al., 2021). Embora a maioria destes estudos etológicos tenham sido realizados através de observações visuais diretas em condições laboratoriais, novas tecnologias de visão computacional e monitoramento acústico passivo (PAM) têm sido aplicadas com sucesso em estudos comportamentais de

camarões, conforme revisado por Li et al. (2021), De Tailly et al. (2021) e Reis et al. (2022).

Recentemente, o uso de PAM tornou-se uma ferramenta importante para a avaliação do comportamento alimentar através de estudos realizados em condições de laboratório (SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2020a,b; HAMILTON et al., 2021; SOARES et al., 2021; PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024) ou pelo uso de alimentadores automatizados baseados em acústica na criação de camarões em viveiros (JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021; WALSH et al., 2022; STREBEL et al., 2023; REIS et al., 2023). As mandíbulas dos camarões emitem sons tipo “clique” durante a ingestão de alimentos, os quais podem ser monitorados acusticamente para obter informações sobre a sua atividade alimentar. Este método não invasivo baseia-se na utilização de hidrofones para detectar tais sinais sonoros, que são processados por software em tempo real ou gravados para posterior análise do comportamento alimentar dos camarões (SMITH e SHAHRIAR, 2013; SMITH e TABRETT, 2013; SILVA et al., 2019; HAMILTON et al., 2021).

O presente estudo teve como objetivo utilizar PAM, pela primeira vez, para avaliar o comportamento de *L. vannamei* submetido a diferentes frequências alimentares em condições laboratoriais. Além disso, essa abordagem foi realizada em conjunto com a análise tradicional do consumo alimentar.

2. Material e métodos

2.1. Delineamento experimental

Juvenis de *L. vannamei* com peso médio (\pm DP) de $3,31 \pm 0,49$ g foram distribuídos aleatoriamente em doze tanques retangulares de polietileno (48x24x24 cm) na densidade de 42 camarões/m² (seis animais por tanque). Os tanques foram preenchidos com 27 L de água filtrada (salinidade 13) em sistema de recirculação composto por um tanque-reservatório de 500 L (sump), filtro de tela e filtro biológico. A aeração foi fornecida constantemente (compressor 2 CV) através de mangueiras de silicone com uma pedra porosa por tanque e outras cinco no tanque-reservatório. O fotoperíodo foi natural de aproximadamente 12h luz e 12h escuro. Os camarões foram mantidos por uma semana em aclimação ao sistema experimental, sendo alimentados quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17h) utilizando ração comercial (Wean, Bernaqua, Bélgica; 45% de proteína bruta; tamanho pélete de 0,8 mm).

Após a aclimatação, foram sorteados quatro tanques para corresponderem a cada uma das frequências alimentares, uma (1x), duas (2x), quatro (4x) e oito (8x) vezes ao dia (Tabela 1). Os camarões destes tanques passaram por um período de 18 horas de jejum, iniciado às 14 h do dia anterior às gravações de sua atividade alimentar. Este procedimento foi repetido por três dias com diferentes grupos de camarões, perfazendo um total de três réplicas por tratamento. Durante os testes, os camarões receberam a mesma ração utilizada na fase de aclimatação, sendo ofertado 2 g em única vez (frequência de 1x) ou esta mesma quantidade dividida em duas, quatro ou oito porções diárias (frequências de 2, 4 e 8x, respectivamente), conforme horários indicados na tabela 1. A ração oferecida em cada tratamento ao longo do dia foi recolhida após oito horas de gravação da atividade alimentar (8 às 16h).

Tabela 1. Cronograma de horários de alimentação de *L. vannamei* (indicado por X) nos tratamentos com frequências alimentares de uma (1x) a oito (8x) vezes ao dia.

Horário	Frequências alimentares			
	1x ao dia	2x ao dia	4x ao dia	8x ao dia
08:00 *	X	X	X	X
09:00	-	-	-	X
10:00	-	-	X	X
11:00	-	-	-	X
12:00	-	X	X	X
13:00	-	-	-	X
14:00	-	-	X	X
15:00	-	-	-	X
16:00 **	-	-	-	-

* Início das gravações da atividade alimentar

** Final das gravações da atividade alimentar e recolhimento da ração não consumida

Após cada gravação da atividade alimentar em diferentes frequências, as sobras de ração no fundo do tanque foram sifonadas e filtradas em filtros de celulose (20 μ) pré-pesados. O material foi seco em estufa (100°C) e em seguida pesado novamente em balança analítica (Marte; precisão 0,0001g) para calcular o consumo total de ração ao longo das oito horas em cada tratamento. O cálculo do consumo de ração foi realizado através da fórmula $FC = (Fo - Fr) \times FI$, onde FC = consumo alimentar (g); Fo = alimento oferecido (g); Fr = alimentação recolhida (g); FI = lixiviação de ração, proporção de recuperação de ração (2 g) adicionada em quatro tanques do mesmo sistema de recirculação sem camarões, calculada como $FI = (Fr / Fo)$. Os resultados foram calculados

com base na matéria seca.

Durante o período de aclimatação e experimental, os parâmetros de qualidade de água de temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e pH foram monitorados diariamente no sistema de recirculação com a utilização de medidor multiparâmetro (YSI 556 MPS, YSI Inc. / Xylem Inc., EUA). Já as concentrações de amônia e nitrito na água do sistema foram analisadas a cada dois dias em espectrofotômetro (HACH 3900, Hach, Alemanha)

2.2. Caracterização da atividade alimentar em diferentes frequências

O equipamento de gravação foi composto por quatro hidrofones omnidirecionais AS-1 (Aquarian Audio, EUA) com resposta de frequência linear de 1Hz a 100kHz (sensibilidade de $-208\text{dB r } 1\text{V}/\mu\text{Pa}$), acoplados a pré-amplificadores PA4 (Aquarian Audio, EUA) com ganho de 26 dB. Cada um dos hidrofones foi posicionado no centro de cada tanque e a 15 cm do fundo, e foram conectados a um gravador digital F6 (Zoom Inc. EUA). Foi utilizada a taxa de amostragem mais elevada do gravador (192 kHz; 16 bits), permitindo captar sons com frequências máximas de até 96 kHz. As gravações tiveram duração total de oito horas, iniciando as 8 h (primeira alimentação do dia em todos os tratamentos) e encerrando as 16 h (uma hora após a última alimentação no tratamento de 8x ao dia) (Tabela 1). Durante as gravações, o sistema de recirculação de água foi mantido, entretanto a aeração foi removida dos tanques e ficou concentrada no tanque-reservatório do sistema, evitando assim ruídos de fundo nas gravações.

2.3. Caracterização de cliques com ração umedecida e seca

Ao final do experimento foi realizado um teste para verificar o efeito de tempo de exposição da ração à água na energia acústica dos cliques. Neste teste foram utilizados quatro grupos de seis camarões selecionados aleatoriamente do experimento com frequências alimentares. Estes grupos passaram por um período de jejum de 18 h e foram alimentados com a mesma ração utilizada no experimento de frequência alimentar, mas neste caso porções de 2 g da ração foram previamente expostas à água por períodos de 2, 4 e 8 h antes da oferta, além da ração seca.

As gravações foram realizadas com os mesmos equipamentos acústicos descritos anteriormente, porém os camarões foram transferidos para tanques de polietileno (48x24x24 cm) com revestimento interno de espuma acústica com 3 cm de espessura e densidade de $28\text{ Kg}/\text{m}^3$. Cada tanque foi preenchido com 25 L de água proveniente do sistema de recirculação utilizado no experimento de frequência alimentar. As gravações

da atividade alimentar com os diferentes tempos de umedecimento (2, 4 e 8 h) e ração seca tiveram duração de 20 min. Durante as gravações a aeração foi desligada para eliminar ruídos indesejáveis durante a caracterização dos cliques. Neste caso, o objetivo foi analisar apenas os cliques emitidos pelo grupo de camarões durante o consumo de cada ração, e não avaliar o comportamento alimentar dos animais.

2.4. Análises acústicas

As análises das gravações da atividade alimentar nas diferentes frequências foram realizadas utilizando o software Raven® 1.5 Pro (Universidade de Cornell, EUA), através da análise do áudio das gravações em conjunto com a visualização do oscilograma e espectrograma (tipo: “hann”, resolução de 512 e sobreposição de 50%). Primeiramente os espectrogramas dos arquivos de áudio foram analisados para remover manualmente ruídos de impacto na água causados pela oferta de ração durante as gravações. Posteriormente, um detector automático de energia limitada por banda foi utilizado para identificar os cliques emitidos pelos camarões, com os seguintes parâmetros de configuração: duração mínima e máxima do sinal de 5 e 50 ms, respectivamente; limiar da relação sinal-ruído (SNR) de 15 dB; e frequência de banda entre 10 e 90 kHz. Os resultados gerados pelo software Raven incluem o tempo (ms) em que cada clique ocorreu durante o período de gravação, o que constituiu a base de dados para a análise estatística. Após concluída esta etapa, foi utilizado a ferramenta de análise de histograma do Microsoft Excel (Microsoft 365, Microsoft Corporation, EUA) para calcular a distribuição de frequência de cliques em intervalos específicos durante o tempo total de cada gravação (8 h). Os dados relativos à taxa de emissão de cliques (intervalos de 5 min e 1 h) e o total de cliques em cada gravação foram utilizados para comparação entre os tratamentos de frequências alimentares nas análises estatísticas.

Para a caracterização acústica dos cliques emitidos durante o consumo de ração seca e umedecida em diferentes tempos (2, 4 e 8h), também foi usado o detector automático de energia limitada por banda do software Raven com os mesmos parâmetros de ajuste, exceto pelo limiar da relação sinal-ruído (SNR) de 5 dB. Porém, neste caso, foram selecionados aleatoriamente 50 cliques em cada gravação para calcular a energia máxima (dB) de cada um destes sinais acústicos associados aos diferentes tempos de exposição à água e a ração seca.

2.5. Análises estatísticas

Os dados relativos à energia máxima de cliques (ração seca e umedecida por 2, 4, 8 h), assim como os de monitoramento da atividade alimentar (frequências de 1, 2, 4 e 8x ao dia) relativos ao consumo de ração (g), número de cliques produzidos em intervalos de 1h e total de cliques nas gravações foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Após serem satisfeitas as premissas necessárias de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade de variância (Cochran) para realização da ANOVA, o teste de Fisher foi utilizado para separação de médias entre os tratamentos, bem como dentro de cada frequência alimentar para número de cliques produzidos em intervalos de 1h. A taxa de emissão de cliques em intervalos de 5 min foi utilizada para representação gráfica da atividade alimentar nas diferentes frequências ao longo das 8 h de gravação. A análise de regressão foi utilizada para avaliar a relação entre o consumo de ração (g) e o total de cliques emitidos durante as 8h de gravação, incluindo dados agrupados para todos os tratamentos de frequência alimentar. Todas as análises estatísticas foram efetuadas no software Minitab versão 18.1 (Minitab, Inc) ao nível de significância de 95%.

3. Resultados

Os valores médios (\pm DP) da temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, pH, amônia total e nitrito no sistema de recirculação foram de $29,3 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$; $13,5 \pm 0,8$; $4,9 \pm 1,0$ mg/L; $8,7 \pm 0,1$; $0,25 \pm 0,11$ mg/L e $0,85 \pm 0,68$ mg/L, respectivamente.

A energia máxima média dos cliques produzidos pelos camarões não diferiu estatisticamente quando comparada entre o consumo da ração seca ($38,1 \pm 8,6$ dB) ou previamente umedecida por duas ($36,1 \pm 7,8$ dB), quatro ($37,0 \pm 8,4$ dB) e oito horas ($36,2 \pm 7,6$ dB). Este resultado serviu apenas para garantir a homogeneidade de aplicação do método de detecção automático de energia limitada por banda ao longo de 8 h de gravação no experimento com diferentes frequências alimentares.

O total de cliques produzidos e o consumo de ração pelos camarões durante 8 h de monitoramento acústico apresentou diferenças significativas entre as frequências de alimentação testadas. A frequência alimentar de 8x ao dia resultou em valores significativamente superiores de cliques produzidos ($942,0 \pm 242,5$) e consumo alimentar ($1,316 \pm 0,096$ g) em relação aos demais tratamentos (Figura 1). O oposto foi observado para a frequência alimentar de 1x, cujas médias de número total de cliques ($217,3 \pm 42$) e consumo alimentar ($1,014 \pm 0,131$ g) dos camarões foram significativamente inferiores aos demais tratamentos. Já os tratamentos com frequências de 2x e 4x, apresentaram

valores intermediários de número de cliques ($591,3 \pm 161,9$ e $576,7 \pm 45,3$ respectivamente) e consumo alimentar ($1,225 \pm 0,133$ e $1,215 \pm 0,176$ g, respectivamente), os quais não diferiram entre si, mas foram significativamente diferentes dos demais tratamentos (Figura 1). Foi observada uma correlação linear positiva e significativa ($p < 0,001$; $r = 0,87$) entre os valores de números de cliques totais e consumo de ração com os dados agrupados para todos os tratamentos.

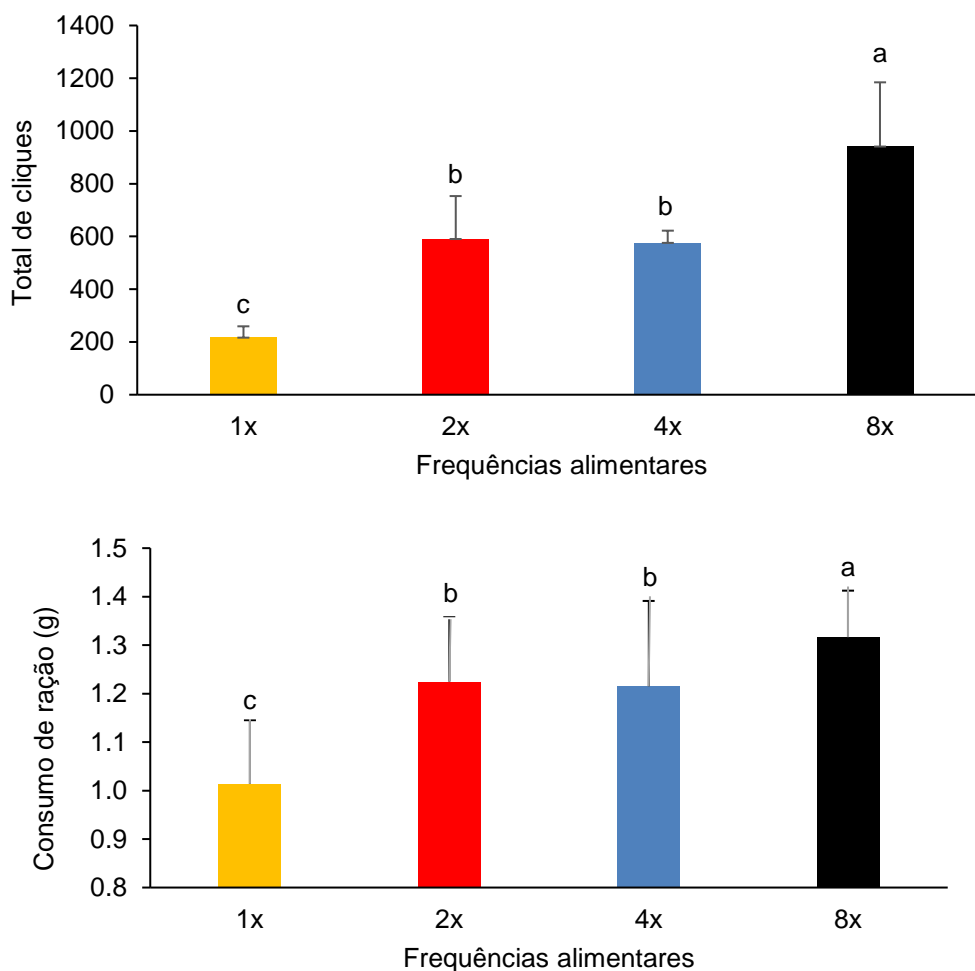


Figura 1. Valores médios do número total de cliques e consumo alimentar durante o monitoramento da atividade alimentar de *L. vannamei* em diferentes frequências de alimentação (1, 2, 4 e 8 vezes ao dia) durante 8h. Letras minúsculas diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as frequências alimentares.

O comportamento alimentar dos camarões, considerando a taxa de cliques em intervalos de 5 min, durante as gravações de 8 h (480 min) nas diferentes frequências de alimentação está representado na figura 2. Os gráficos mostram que após um período prévio de jejum de 18 h, ocorreu um pico inicial de cliques associado a primeira alimentação do dia em todas as frequências alimentares. Posteriormente, os camarões

voltaram a apresentar novos picos de atividade acústica alimentar nos momentos que corresponderam às novas ofertas de alimento nas frequências de 2x, 4x e 8x vezes ao dia, fato que não ocorreu na frequência de 1x (Figura 2).

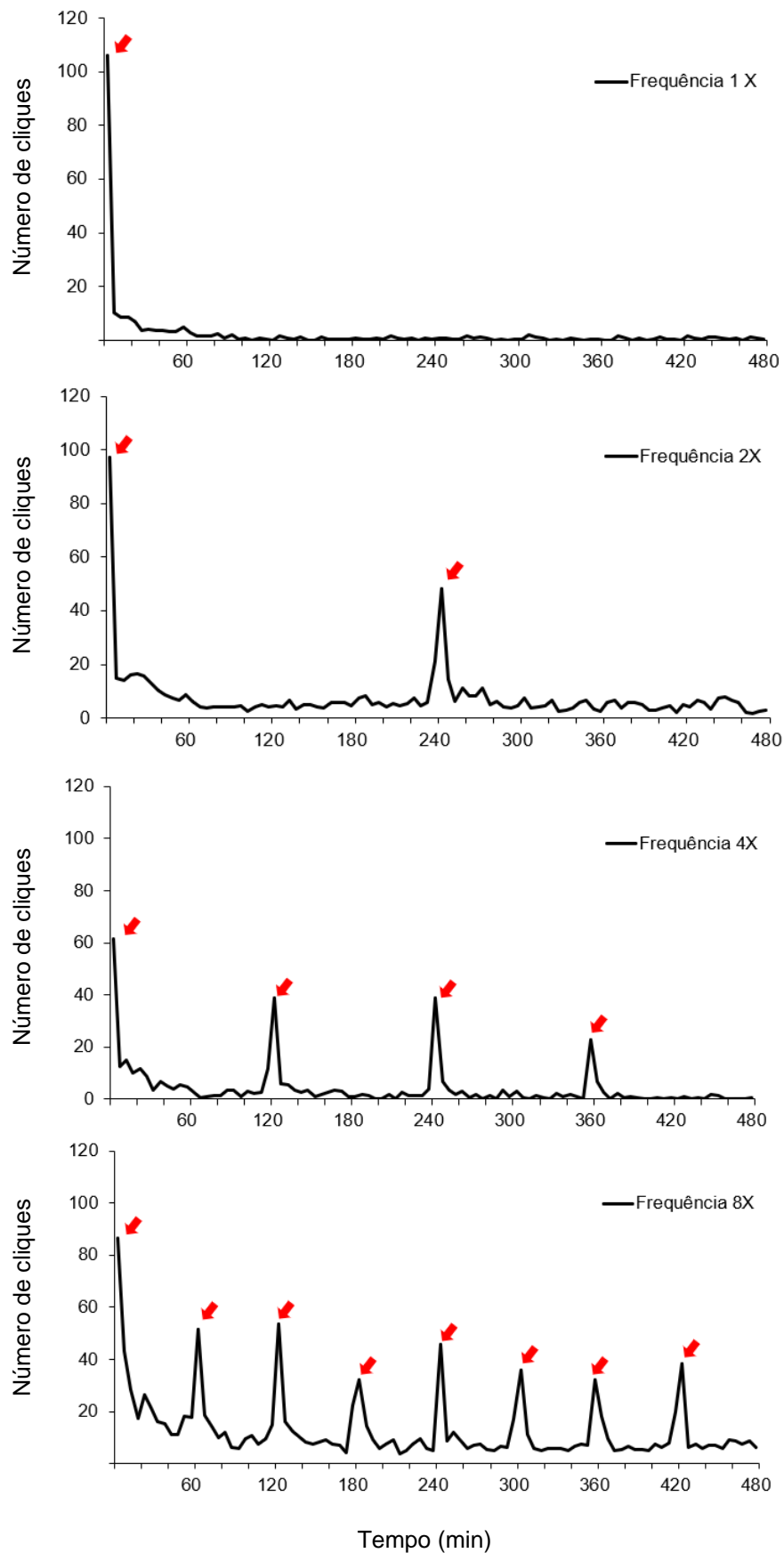


Figura 2. Visualização da taxa de emissão de cliques em intervalos de 5 min ao longo de 480 min (8 h) em gravações do comportamento alimentar de *L. vannamei* em frequências de alimentação de 1, 2, 4 e 8 vezes ao dia (de cima para baixo, respectivamente). Setas vermelhas indicam picos de atividade acústica associados a eventos de alimentação nas diferentes frequências alimentares.

Na análise comparativa do número de cliques acumulados em intervalos de 1 h durante as gravações (8 h) em diferentes frequências de alimentação, foi possível observar que não houve diferença significativa entre estes durante a primeira hora (0-1 h) após a alimentação inicial dos camarões (Figura 3). Na maioria dos demais intervalos, a frequência alimentar de 8x apresentou um número de cliques significativamente superior aos outros tratamentos, com exceção do momento em que ocorreram novas ofertas de ração nas frequências de 2x e 4x no intervalo 4-5 h. Neste mesmo intervalo, ocorreu um número significativamente superior de cliques nas frequências alimentares de 2x e 4x em relação aos camarões alimentados 1 vez ao dia, fato que se repetiu na segunda alimentação diária (2-3 h) na frequência de 4x (Figura 3).

Já em relação as comparações dentro de cada tratamento ao longo do monitoramento da atividade alimentar dos camarões, houve uma redução significativa no número de cliques após a primeira hora de alimentação (0-1 h) na frequência de 1x ao dia (Figura 3). Entretanto, isso não ocorreu ao longo do dia na frequência de 8x, com exceção na sétima alimentação deste tratamento (6-7 h) que apresentou um número de cliques significativamente inferior em relação a primeira alimentação dos camarões neste tratamento. Na frequência alimentar de 2x ocorreu um decréscimo significativo após a primeira alimentação (0-1 h), que se manteve exceto após o segundo oferecimento de ração para os camarões neste tratamento no intervalo de 4-5 h. Entretanto, o mesmo não aconteceu na frequência de 4x, uma vez que somente a terceira alimentação neste tratamento (4-5 h) não apresentou diferença significativa do número de cliques na primeira alimentação (0-1 h), e os demais eventos alimentares (2-3 h e 6-7 h), assim como o terceiro, não diferiram significativamente entre si (Figura 3)

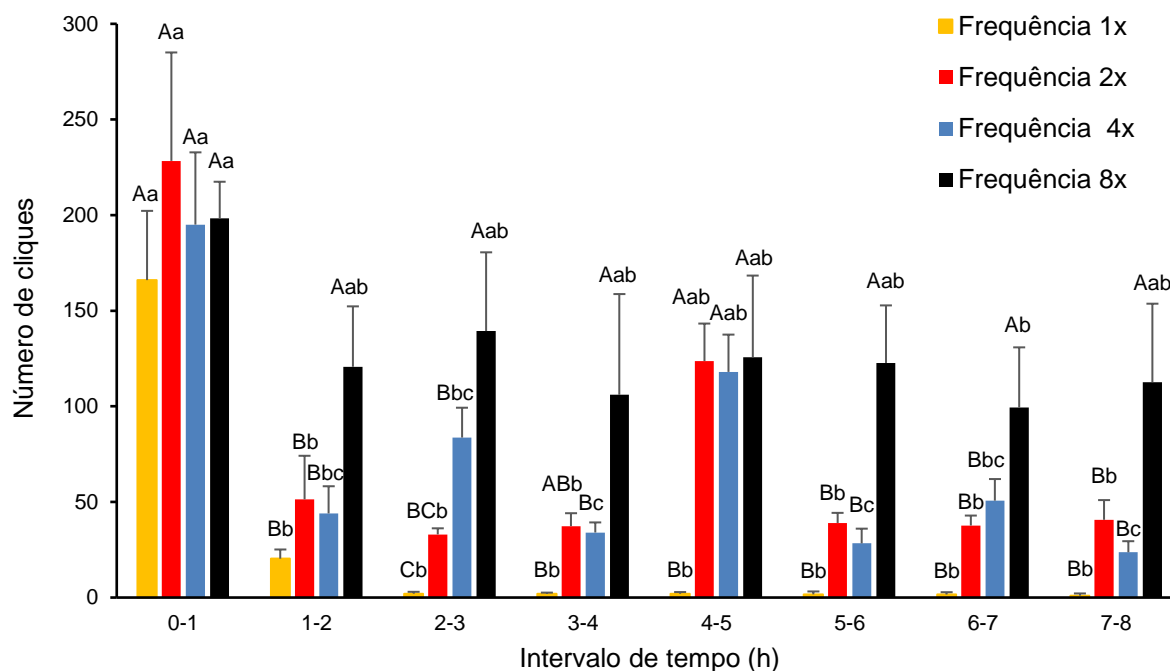


Figura 3. Número de cliques emitidos em intervalos de 1 h ao longo de 8 h em gravações do comportamento alimentar de *L. vannamei* submetidos a diferentes frequências de alimentação de 1, 2, 4 e 8 vezes ao dia. Letras maiúsculas diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as frequências alimentares dentro de cada intervalo de tempo. Já as letras minúsculas diferentes acima das barras, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro dos tratamentos de frequência alimentar em cada intervalo de tempo durante 8 h.

4. Discussão

O monitoramento acústico passivo (PAM) da atividade alimentar de *L. vannamei* foi capaz de revelar alterações comportamentais causadas pelas diferentes frequências de alimentação de uma a oito vezes ao dia. Este é o primeiro relato da aplicação de PAM para avaliação do comportamento alimentar de camarões em relação a frequência de oferecimento do alimento em laboratório. Embora este seja o princípio básico dos alimentadores automatizados acústicos, oferecer ração na frequência e proporção relativa à demanda da atividade alimentar, as informações sobre o comportamento dos camarões processadas pelos algoritmos não são disponibilizadas em estudos que comparam o uso de tais equipamentos com outros métodos de manejo alimentar na criação de *L. vannamei* (NAPAUMPAIPOM et al., 2013; JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020).

A metodologia de análise acústica no presente estudo utilizou detectores de energia limitada por banda, ajustados com parâmetros-alvo específicos (e.g. frequência mínima e máxima, relação sinal-ruído, duração mínima e máxima do sinal) para

identificar automaticamente os cliques nos espectrogramas das gravações nas diferentes frequências alimentares (PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024). Esta análise identifica o momento em que ocorrem os cliques emitidos pelos camarões durante a ingestão dos péletes de ração, permitindo assim o cálculo da taxa de emissão de cliques (e.g. número de cliques por tempo) ao longo do período total de registro da atividade alimentar. O fato da energia máxima dos cliques não ter diferido durante o teste com consumo da ração seca e umedecida por 2, 4 e 8 h, foi um aspecto positivo. Este fato comprovou a homogeneidade na aplicação do método de detecção automática nas gravações com duração de 8hs, usadas para avaliar as diferentes frequências alimentares. Isto possibilitou, por exemplo, no caso da frequência alimentar de uma vez ao dia (1x), que fossem detectados cliques caso tivessem ocorrido novas atividades acústicas (i.e. consumo alimentar) ao longo do dia. Peixoto et al. (2020a) utilizaram câmaras anecoicas e taxa de amostragem de 96 kHz para avaliar a relação entre as características texturais de dietas peletizadas e extrusadas com a atividade acústica de *L. vannamei*. Os autores observaram um decréscimo progressivo na intensidade acústica (92 a 89 dB) dos cliques para ambas as rações quando estas foram oferecidas secas e previamente umedecidas por 1 ou 2 h para os camarões. No entanto, mesmo no caso das diferenças reportadas pelos autores, os cliques gerados durante o consumo de tais dietas umedecidas teriam sido certamente identificados pela metodologia atual de detecção automática de energia limitada por banda. Além da maior taxa de amostragem utilizada no presente estudo (192 kHz), que amplia a banda de análise espectral de processamento de áudio para até 96 kHz, foi realizada a calibração dos parâmetros do detector para relação sinal-ruído (SNR) de 15 dB e frequência de banda entre 10 e 90 kHz. Em linhas gerais, isso permitiria detectar todos os pulsos sonoros (i.e. cliques) que ocorressem com 15 dB acima do ruído de fundo e dentro desta banda de frequência, considerando também os demais parâmetros-alvo. Obviamente, estes parâmetros precisam ser ajustados no software de acordo com as condições da paisagem acústica do ambiente de gravação (e.g. características e intensidade dos ruídos de fundo) para aumentar a eficiência de detecção dos cliques, mas após esta etapa de calibração, o detector pode ser aplicado em todos os arquivos de áudio adquiridos naquela mesma situação. Apesar da aplicação desta metodologia ser recente em estudos comportamentais com *L. vannamei* (PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024), os primeiros autores que utilizaram a detecção automática de cliques indicaram algumas vantagens em relação a outras análises com PAM em laboratório: (1) identificação de cliques com menor

interferência de ruídos externos; (2) registrar o momento exato em que cada clique ocorre nas gravações da atividade alimentar; e (3) evitar interferências na energia acústica devido à ruídos e reverberação dos cliques no tanque ou aquário (PEIXOTO et al., 2022). Neste sentido, o presente estudo corrobora tais indicações e traz uma aplicação inédita desta metodologia para a avaliação da atividade alimentar de *L. vannamei* submetidos a diferentes frequências de alimentação.

Reconhecidamente, a frequência alimentar é um dos principais componentes nas práticas de manejo para melhorar o consumo de alimento e o desempenho zootécnico, e concomitantemente reduzir o desperdício de ração e a degradação da água no cultivo de camarões. Neste sentido, causa perplexidade que tão poucos estudos tenham sido realizados para investigar em detalhe o comportamento dos camarões submetidos a diferentes frequências de alimentação em condições de laboratório (PONTES et al, 2008; LIMA et al., 2009). O hábito bentônico e localização ventral do aparato bucal dos camarões, além das condições de baixa transparência da água e distribuição dos animais, dificultam a visualização e rastreamento da atividade alimentar em sistemas de criação, tornando essenciais os estudos em ambientes controlados de laboratório. Pontes et al. (2008) realizaram observações visuais do comportamento alimentar de *L. vannamei* (8 g) mantidos em aquários (30 L e 5 camarões por tanque) quando alimentados nas frequências de três, quatro e sete vezes ao dia. Os autores relataram que a oferta de ração mais espaçada em três vezes ao dia estimulou a procura e a ingestão do alimento, resultando em menor tempo de latência para acessar o alimento e maior índice de repleção estomacal quando comparado aos demais tratamentos. Em outro estudo similar com *L. vannamei* (mesmo peso e estrutura experimental) foram avaliadas as atividades comportamentais de alimentação, exploração do substrato, natação e inatividade em função das mesmas frequências alimentares (LIMA, et al., 2009). Os comportamentos de alimentação e exploração foram mais elevados nos camarões alimentados três e quatro vezes por dia, enquanto a inatividade foi maior para os camarões alimentados sete vezes por dia. Entretanto, os resultados do presente estudo não corroboram com os encontrados por estes autores no que se refere a atividade alimentar, uma vez que o total de cliques emitidos e a taxa de emissão de cliques por hora indicaram que os camarões alimentados oito vezes ao dia (8x) se mantiveram acusticamente ativos a cada evento alimentar ao longo do dia. Considera-se ainda que o número de eventos alimentares nas diferentes frequências esteve diretamente relacionado com o padrão de atividade dos camarões (Figura 2), e quando estes foram alimentados apenas uma vez no início do dia, se mantiveram acusticamente

inativos durante o restante da gravação. Estes resultados de atividade acústica também foram refletidos no consumo alimentar dos camarões, que aumentou progressivamente com o maior número de ofertas de ração e apresentou uma correlação significativa e positiva com o número de cliques. Em acordo, diversos estudos reportam tais correlações positivas entre o número de cliques emitidos e o consumo de ração (PEIXOTO et al., 2022; HAMILTON et al., 2023; TABBARA et al., 2024), ou entre a energia acústica (dB) gerada pelos cliques e o consumo alimentar para *L. vannamei* (SILVA et al., 2019; PEIXOTO et al. 2020a,b; SOARES et al., 2021). Estas correlações reforçam a utilidade do PAM para avaliação do comportamento alimentar dos camarões em laboratório, além de permitir o desenvolvimento de modelos de previsão do consumo de ração com base nos dados acústicos coletados durante a alimentação.

Outros comportamentos alimentares de *L. vannamei* foram observados nas diferentes frequências alimentares com uso de PAM, como por exemplo o elevado pico inicial de cliques na primeira alimentação do dia após um período prévio de jejum de 18 h. Este número de cliques acumulados durante a primeira hora de alimentação foi semelhante entre todas as frequências alimentares (Figura 3), fato que está provavelmente relacionado ao período de restrição alimentar que antecedeu às gravações e estimulou o apetite dos animais. Bardera et al. (2019b) utilizou imagens de vídeo para investigar o comportamento alimentar de *L. vannamei* (10 g) submetidos a diferentes tempos de jejum (0, 24 e 48 h), e observou uma maior atração à ração e atividade alimentar nos camarões que passaram por períodos mais longos de restrição, em comparação com o controle. Interessantemente, o fato dos camarões nas menores frequências alimentares terem recebido proporcionalmente uma maior quantidade de ração nesta primeira refeição do dia, não se converteu numa maior taxa de emissão de cliques em relação à frequência de 8x, na qual foi ofertada a menor quantidade de ração. Uma provável explicação seria o fato dos camarões terem atingido a saciedade e reduzido a atividade alimentar, mesmo com disponibilidade de alimento no tanque. A saciedade nos camarões ocorre quando o proventrículo está cheio, sendo que o tempo de enchimento e esvaziamento do proventrículo, que pode levar de 1-10 min e 1-4 h, respectivamente, determina a sua taxa de ingestão (PARRA-FLORES et al., 2019).

As dietas artificiais têm uma estabilidade limitada na água, fato que pode afetar a sua taxa de ingestão pelos camarões, a qual é inversamente proporcional ao tempo de imersão das dietas na água (PARRA-FLORES et al., 2019). Esta observação ficou evidente no monitoramento da atividade alimentar de *L. vannamei*, especialmente na

frequência de 1x, na qual os camarões permaneceram inativos acusticamente após ingerirem a ração no início do dia. Já nas demais frequências, onde novas ofertas de ração ocorreram durante o dia, novos picos de atividade acústica alimentar foram registrados. Neste contexto, o efeito da lixiviação das dietas artificiais também tem um papel importante na perda de matéria seca, proteína bruta e lipídios durante longos períodos de exposição das dietas à água (CARVALHO e NUNES, 2006; ULLMAN et al., 2019c), consequentemente reduzindo a atração dos animais pela ração. Adicionalmente, Ullman et al. (2019c) reportaram que a lixiviação de uma ração comercial por 1 a 6 h causou efeitos negativos no desempenho zootécnico de *L. vannamei* em sistema de tanques com água verde, em comparação com a ração seca ou lixiviada por 30 min. Embora o presente estudo não tenha avaliado os efeitos da lixiviação nas características físicas e nutricionais da ração e o desempenho zootécnico dos camarões, os resultados apoiam a noção de que o aumento do número de alimentações diárias mantém os camarões acusticamente ativos, fato que também foi refletido no incremento do consumo de ração.

Apesar da pouca informação existente acerca do comportamento alimentar, diversos estudos foram realizados para avaliar os efeitos da frequência de alimentação em diferentes sistemas de criação de *L. vannamei*, trazendo informações relevantes sobre seus efeitos nas taxas de crescimento, sobrevivência e conversão alimentar dos camarões (VELASCO et al., 1999; CARVALHO e NUNES, 2006; PEIXOTO et al., 2018; NUNES et al., 2019b; ULLMAN et al., 2019c; XU et al., 2020; WASIELESKY et al., 2020). Tais informações, em muitos casos, são contraditórias sobre quantas alimentações por dia seriam mais adequadas para melhorar o desempenho zootécnico da espécie, variando entre frequências alimentares de 1 a 36 vezes na literatura recente (IHSANARIO e RIDWAN, 2021). Alguns autores argumentam que alimentar os camarões mais espaçadamente ao longo do dia, entre duas e três vezes, bastaria para um melhor desempenho zootécnico (PEIXOTO et al., 2018; NERY et al., 2019; WASIELESKY et al., 2020; ESPINOZA-ORTEGA et al., 2024). Já Nunes et al. (2019b) observaram incrementos significativos na sobrevivência, crescimento e eficiência alimentar dos camarões submetidos a múltiplas alimentações automatizadas (dez) em comparação com os alimentados duas ou quatro vezes ao dia. Xu et al. (2020) também utilizaram alimentadores automáticos para fornecimento de ração em três, seis e doze porções diárias, e sugeriram que a elevação da frequência alimentar é benéfica para um melhor aproveitamento da ração, digestão de nutrientes e crescimento de *L. vannamei*. O emprego de múltiplas alimentações parece ser uma tendência com o uso de alimentadores

automáticos pré-programados em horários definidos ao longo do dia, ou alimentadores automatizados baseados em PAM que fornecem a ração conforme a demanda associada a atividade acústica dos camarões. Estes últimos vêm contribuindo com melhorias significativas no manejo alimentar e desempenho zootécnico na criação de *L. vannamei*, quando comparados com outros métodos de fornecimento de ração em estudos de larga escala (NAPAUMPAIPOM et al., 2013; JESCOVITCH et al., 2018; ULLMAN et al., 2019a,b; REIS et al., 2020,2021). Do ponto de vista do comportamento alimentar, nossos resultados estão em consonância com as pesquisas prévias que indicaram benefícios no emprego de múltiplas alimentações com o uso de equipamentos automatizados. Entretanto, mais pesquisas etológicas são necessárias para melhorar nosso conhecimento em relação às práticas de manejo em sistemas de criação, considerando hábitos e comportamentos alimentares dos camarões sob diferentes condições experimentais, que são mais facilmente controladas e monitoradas em laboratório.

Os resultados do presente estudo evidenciam a contribuição do uso PAM em estudos relacionados ao comportamento alimentar de *L. vannamei* em laboratório (DE TAILLY et al., 2021; REIS et al., 2022; LI et al., 2024). Esta tecnologia, aliada a outras recentemente aplicadas em estudos etológicos com camarões, como por exemplo a visão computacional, surgem como novas ferramentas para estas pesquisas e podem contribuir com o desenvolvimento da carcinicultura.

5. Referências bibliográficas

AALIMAHMOUDI, M.; REYSHAHRI, A.; BAVARSAD, S. S.; MANIAT, M. Effects of feeding frequency on growth, feed conversion ratio, survival rate and water quality of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). **Int J Fish Aquat Stud**, 4, 29-297. 2016.

AHAMAD-ALI, S.; GOPAL, C.; RAMANA, J.V. Attractant and growth promoting properties of some feed materials and chemicals incorporated in the diets for *Penaeus monodon* (Fabricius). **Indian J Fish**. 54, 67-73. 2007.

BARDERA, G.; OWEN, M. A. G.; FACANHA, F. N.; ALCARAZ-CALERO, J. M.; ALEXANDER, M. E., SLOMAN, K. A. The influence of density and dominance on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feeding behaviour. **Aquaculture**, 531, 735949. 2021.

BARDERA, G.; USMAN, N.; OWEN, M.; POUNTNEY, D.; SLOMAN, K. A.; ALEXANDER, M. E. The importance of behaviour in improving the production of shrimp in aquaculture. **Rev Aquacult**, 11, 1104-1132. 2019a.

BARDERA, G.; OWEN, M. A. G.; POUNTNEY, D.; ALEXANDER, M. E.; SLOMAN, K. A. The effect of short-term feed-deprivation and moult status on feeding behaviour of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 511, 734222. 2019b.

CARVALHO, E. A.; NUNES A. J. P. Effects of feeding frequency on feed leaching loss and grow-out patterns of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed under a diurnal feeding regime in pond enclosures. **Aquaculture**, 252, 494-502. 2006.

DE TAILLY, J. B. D.; KEITEL, J.; OWEN, M. A. G.; ALCARAZ-CALERO, J. M.; ALEXANDER, M. E.; SLOMAN, K. A. Monitoring methods of feeding behavior to answer key questions in penaeid shrimp feeding. **Rev Aquac**, 13, 1828-1843. 2021.

DERBY, C. D.; ELSAYED, F. H.; WILLIAMS, S. A.; GONZALEZ, C.; CHOE, M.; BHARADWAJ, A. S.; CHAMBERLAIN, G. W. Krill meal enhances performance of feed pellets through concentration-dependent prolongation of consumption by Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 458, 13–20. 2016.

ESPINOZA-ORTEGA, M.; MOLINA-POVEDA, C.; JOVER-CERDÁ, M. Feeding frequency effect on water quality and growth of *Litopenaeus vannamei* fed extruded and pelleted diets. **Aquacult Int**, 32, 413-429. 2024.

HAMILTON, S.; SILVA, J. F.; COSTA FILHO, F.; PEIXOTO, S. Sound emission of *Macrobrachium rosenbergii* during feeding activity. **Aquac Res**, 52, 4841-4848. 2021.

HAMILTON, S.; COSTA FILHO, F.; SILVA, J. F.; DUARTE-NETO, P. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. The loud crowd: Interactions between stocking density and acoustic feeding activity of different size classes of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 563, 738904. 2023.

IHSANARIO A.; RIDWAN, A. Optimal feeding frequency on the growth performance of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during grow-out phase. **3BIO: J Biol Sci Tech Manag**, 3, 42-55. 2021.

JESCOVITCH, L. N.; ULLMAN, C.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac Res**, 49, 526-531. 2018.

KAWAMURA, G.; BAGARINAO, T. U.; SENIMAN, N. S.; YONG, A. S. K.; LIM, L. S. Comparative morphology and function of feeding appendages in food intake behaviour of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Borneo J Mar Sci Aquac**, 2, 26-39. 2018.

LI, D.; LIU, C.; SONG, Z.; WANG, G. Automatic Monitoring of Relevant Behaviors for Crustacean Production in Aquaculture: A Review. **Animals**, 11, 2709. 2021.

LIMA, P. P.; PONTES, C. S.; ARRUDA, M. F. Activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in laboratory as a function of different feeding frequencies. **Aquac Res**, 41, 53-60. 2009.

MONTOYA-MARTÍNEZ, C.; NOLASCO-SORIA, H.; VEGA-VILLASANTE, F.;

CARRILLO-FARNÉS, O.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, A.; CIVERA-CERECEDO, R. Attractability and palatability of ingredients in longarm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. **Lat Am J Aquat Res**, 46, 615-620. 2018.

NAPAUMPAIPOM, T.; CHUCHIRD, N.; TAPARHUDEE, W. Study on the efficiency of three different feeding techniques in the culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **J Fish Environ**, 37, 8-16. 2013.

NERY, R.; COSTA, C. B.; RODRIGUES, F.; SOARES, R.; BEZERRA, R. D. S.; PEIXOTO, S. Effect of feeding frequency on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* during the grow-out phase in biofloc system. **Aquacult Nutr**, 25, 577- 584. 2019.

NUNES, A. J. P.; PARSONS, G. J. Food handling efficiency and particle size selectivity by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* fed a dry pelleted feed. **Mar Fresh. Behav Phy**, 31, 193-213. 1998.

NUNES, A. J. P.; SA, M. V. C.; ANDRIOLA-NETO, F. F.; LEMOS, D. Behavioural response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 260, 244-254. 2006.

NUNES, A. J. P.; SABRY-NETO, H.; OLIVEIRA-NETO, S.; BURRI, L. Feed preference and growth response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to supplementation of marine chemoattractants in a fishmeal-challenged diet. **J World Aquac Soc**, 50, 1048-1063. 2019a.

NUNES, A. J. P.; SABRY-NETO, H.; DA SILVA, F. H. P.; DE OLIVEIRA-NETO, A. R.; MASAGOUNDER, K. Multiple feedings enhance the growth performance and feed efficiency of juvenile *Litopenaeus vannamei* when fed a low-fish meal amino acid-supplemented diet. **Aquacult Int**, 27, 337–347. 2019b.

NUNES, A. J. P.; DALEN, L. L.; LEONARDI, G.; BURRI, L. Developing sustainable, cost-effective and high-performance shrimp feed formulations containing low fish meal levels. **Aquacult Rep**, 27, 101422. 2022.

OBALDO, L.G.; MASUDA, R. Effect of diet size on feeding behavior and growth of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J Appl Aquac**, 18, 101-110. 2006.

PARRA-FLORES, A. M.; PONCE-PALAFOX, J. T.; SPANOPOULOS-HERNÁNDEZ, M.; MARTINEZ-CARDENAS, L. Feeding behavior and ingestion rate of juvenile shrimp of the genus *Penaeus* (Crustacea: Decapoda). **J Sci**, 3, 111-113. 2019.

PEIXOTO, S. R. M.; SILVA, E.; COSTA, C. B.; NERY, R. C.; RODRIGUES, F. F.; SILVA, J. F.; SOARES, R. Effect of feeding frequency on growth and enzymatic activity of *Litopenaeus vannamei* during nursery phase in biofloc system. **Aquac Nutr**, 24, 579-585. 2018.

PEIXOTO, S.; SOARES, R.; SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; MOREY, A.; DAVIS, D. A. Acoustic activity of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. **Aquaculture**, 525, 735307. 2020a.

PEIXOTO, S.; SOARES, DAVIS, D. A. An acoustic based approach to evaluate the effect of different diet lengths on feeding behavior of *Litopenaeus vannamei*. **Aquacult Eng**, 91, 102114. 2020b

PEIXOTO, S.; STREBEL, L.; SOARES, R.; & DAVIS, D. A. Acoustic feeding responses using marine chemoattractants in plant-based diets for naive and non-naive *Litopenaeus vannamei*. **Appl Anim Behav Sci**, 257, 105792. 2022.

PONTES, C. S.; ARRUDA, M. F.; MENEZES, A. A.; LIMA, P. P. Daily activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) juveniles under laboratory conditions. **Aquac Res**, 37, 1001-1006. 2006.

PONTES, C. S.; LIMA, P. P.; ARRUDA, M. F. Feeding responses of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed at different frequencies under laboratory conditions. **Aquac Res**, 39, 1416-1422. 2008.

REGO, M. A. S.; SABBAG, O. J.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Financial viability of inserting the biofloc technology in a marine shrimp *Litopenaeus vannamei* farm: a case study in the state of Pernambuco, Brazil. **Aquacult Int**, 25, 473-483. 2017.

REIS, J.; NOVRIADI, R.; SWANEPOEL, A.; JINGPING, G.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Optimizing feed automation: improving timer-feeders and on demand systems in semi-intensive pond culture of shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 519, 734759. 2020.

REIS, J.; WELDON, A.; ITO, P.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Automated feeding systems for shrimp: Effects of feeding schedules and passive feedback feeding systems. **Aquaculture**, 541, 736800. 2021.

REIS, J.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; RHODES, M.; CHING, C.; DAVIS, D. A.; Passive acoustic monitoring as a tool to assess feed response and growth of shrimp in ponds and research systems. **Aquaculture**, 546, 737326. 2022.

REIS, J.; HUSSAIN, A. S.; WELDON, A.; WALSH, S.; STITES, W.; RHODES, M.; DAVIS, D. A. Passive acoustic feeders as a tool to assess feed response and growth in shrimp pond production. **Aquac Int**, 31, 1643-1657. 2023.

SANCHEZ, D. R.; FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; CASTILLE, F. L.; DUNSFORD, B. A methodology for evaluation of dietary feeding stimulants for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 36, 14-23. 2005.

SANTOS, A. D. A.; LÓPEZ-OLMEDA, J. F.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; FORTES-SILVA, R. Synchronization to light and mealtime of the circadian rhythms of self-feeding behaviour and locomotor activity of white shrimps (*Litopenaeus vannamei*). **Comp Biochem Physiol**, 199, 54-61. 2016.

SILVA, J. F.; HAMILTON, S.; ROCHA, J. V.; BORIE, A.; TRAVASSOS, P.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei* in captivity. **Aquaculture**, 501, 76-81. 2019.

SILVA, P. F.; MEDEIROS, M. S.; SILVA, H. P. A.; ARRUDA, M. F. A study of feeding in the shrimp *Farfantepenaeus subtilis* indicates the value of species level behavioral data for optimizing culture management. **Mar Fresh Behav Phy**, 45, 121-134. 2012.

SMITH, D. V.; SHAHRIAR, M. S. A context aware sound classifier applied to prawn feed monitoring and energy disaggregation. **Knowl-Based Syst**, 52, 21-31. 2013.

SMITH, D. V.; TABRETT S. The use of passive acoustics to measure feed consumption by *Penaeus monodon* (giant tiger prawn) in cultured systems. **Aquac Eng**, 57, 38-47. 2013.

SMITH, D. M.; TABRETT, S.; BARCLAY, M.; IRVIN, S. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. **Aquac Nutr**, 11, 263-272. 2005.

SOARES, R.; PEIXOTO, S.; DAVIS, R. P.; DAVIS, D. A. Feeding behavior and growth of *Litopenaeus vannamei* fed soybean-based diets with added feeding effectors. **Aquaculture**, 536, 736487. 2021

STREBEL, L. M.; NGUYEN, K.; ARAUJO, A.; CORBY, T.; RHODES, M, BECK, B. H.; ROY, L. A.; DAVIS, D. A. On demand feeding and the response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to varying dietary protein levels in semi-intensive pond production. **Aquaculture**, 574, 739698. 2023.

SURESH, A. V.; KUMARAGURU-VASAGAM, K. P.; NATES, S. Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry byproduct meal. **Aquaculture**, 319, 132-140. 2011.

TABBARA, M.; STREBEL, L.; PEIXOTO, S.; SOARES, R.; MORAIS, S.; DAVIS, D. A. Use of passive acoustic monitoring to evaluate the effects of a feed effector on feeding behavior, growth performance, and salinity stress tolerance of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 582, 740499. 2024.

TACON, A. G. J.; CODY, J. J.; CONQUEST, L. D.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I. P.; DECAMP, O. E. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquac Nutr**, 8, 121-139. 2002.

ULLMAN, C.; RHODES, M.; CLINE, D.; HANSON, T. R.; DAVIS, D. A.; Effects of four different feeding techniques on the pond culture of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **J World Aquac Soc**, 50, 54-64. 2019a.

ULLMAN, C.; RHODES, M. A.; DAVIS, D. A. Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 498, 44-49. 2019b.

VELASCO, M.; LAWRENCE, A. L.; CASTILLE, F. L. Effect of variations in daily feeding frequency and ration size on growth of shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, 179, 141-148. 1999.

WALSH, S.; NGUYEN, K.; STREBEL, L.; RHODES, M.; DAVIS, A. Utilising feed effectors and automated feeders for Semi-intensive pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. **Aquac Fish Fish**, 2, 540-551. 2022.

WASIELESKY, W. Jr.; BEZERRA, A.; POERSCH, L.; HOFFLING, F. B.; KRUMMENAUER, D. Effect of feeding frequency on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* during the pilot-scale nursery phase of a superintensive culture in a biofloc system. **J World Aquacult Soc**, 51, 1175-1191. 2020.

XU, W.; XU, Y.; SU, H.; HU, X.; XU, Y.; LI, Z.; WEN, G.; CAO, Y. Effects of feeding frequency on growth, feed utilization, digestive enzyme activity and body composition of *Litopenaeus vannamei* in biofloc-based zero-exchange intensive systems. **Aquaculture**, 522, 735079. 2020.

YE, L.; LIN, H.; LI, Z.; WEN, G.; MA, Z.; ZHU, C. The effect of feeding frequency on growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and water quality. **South China Sea Fish Sci**, 1, 56-60. 2005.

YUAN, Y.; LAWRENCE, A. L.; CHEHADE, S. B.; JENSEN, K. BARRY, R. J.; FOWLER, L. A.; MAKOWSKY, R.; POWELL, M. L.; WATTS, S. A. Feed intake as an estimation of attractability in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 532, 736041. 2021.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente Tese buscou explorar as aplicações do monitoramento acústico passivo (PAM) na avaliação do comportamento alimentar de camarões em ambiente de laboratório. Algumas das principais conclusões e recomendações estão incluídas a seguir:

- A bioacústica, em especial os estudos com PAM, somam-se atualmente a outras metodologias etológicas não invasivas para auxiliar na construção do conhecimento sobre o comportamento alimentar de camarões em laboratório;
- O emprego adequado de PAM como ferramenta de estudo, depende, indubitavelmente, de conhecimentos básicos sobre conceitos na área de acústica, equipamentos e *softwares* especializados para análise e interpretação de resultados relacionados a atividade alimentar de camarões;
- A carcinicultura conta atualmente com ampla gama de conhecimento advindo de diversas áreas da ciência relativos à diferentes espécies e sistemas de criação, os quais são fundamentais na definição de possíveis contribuições de estudos com ferramentas acústicas, delineamentos experimentais, e interpretação adequada dos resultados obtidos em laboratório;
- Dentre as principais contribuições da aplicação de PAM em estudos laboratoriais com camarões, até o presente, pode-se destacar: a caracterização acústica de cliques e estrutura mandibular associada à sua emissão para diferentes espécies; variações em parâmetros acústicos de cliques em função do tamanho dos animais, textura e tamanho dos péletes de ração; e efeitos no comportamento alimentar causados pelo tamanho dos camarões, densidade de estocagem e características específicas de dietas artificiais (textura, formulações, aditivos e tamanhos de pélete);
- O ciclo de muda de *L. vannamei* nos estágios de pós-muda e intermuda afetou as características acústicas dos cliques emitidos durante a alimentação, provavelmente pelas diferenças observadas na espessura da cutícula mandibular entre estes estágios. Assim, sugere-se que a menor espessura cuticular em camarões na pós-muda estaria associada a emissão de cliques com menor energia acústica;
- Embora variações na energia acústica máxima dos cliques tenham sido observadas em relação aos ciclos de muda analisados, acredita-se que as variações na energia da paisagem acústica também estariam relacionadas a reduções na taxa de emissão de cliques

associadas a diminuição da atividade alimentar dos camarões no estágio pós-muda;

- O comportamento alimentar acústico de *L. vannamei* foi afetado pelas diferentes frequências de alimentação de uma a oito vezes ao dia, obtendo-se valores superiores de número de cliques emitidos e consumo de ração em grupos de camarões alimentados mais vezes ao dia;

- Nas diferentes frequências alimentares testadas (uma a oito vezes ao dia) ocorreu um pico inicial de cliques associado a primeira alimentação do dia, entretanto novos picos de atividade acústica ocorreram somente após novas ofertas de alimento nos grupos de camarões submetidos às frequências de duas, quatro e oito vezes ao dia;

- A presente Tese reafirma e ressalta a contribuição do uso PAM em estudos relacionados ao comportamento alimentar de camarões em laboratório. Acredita-se que esta tecnologia, aliada a outras metodologias etológicas, como por exemplo a visão computacional, surgem como novas ferramentas para pesquisas comportamentais com camarões visando o desenvolvimento da carcinicultura.