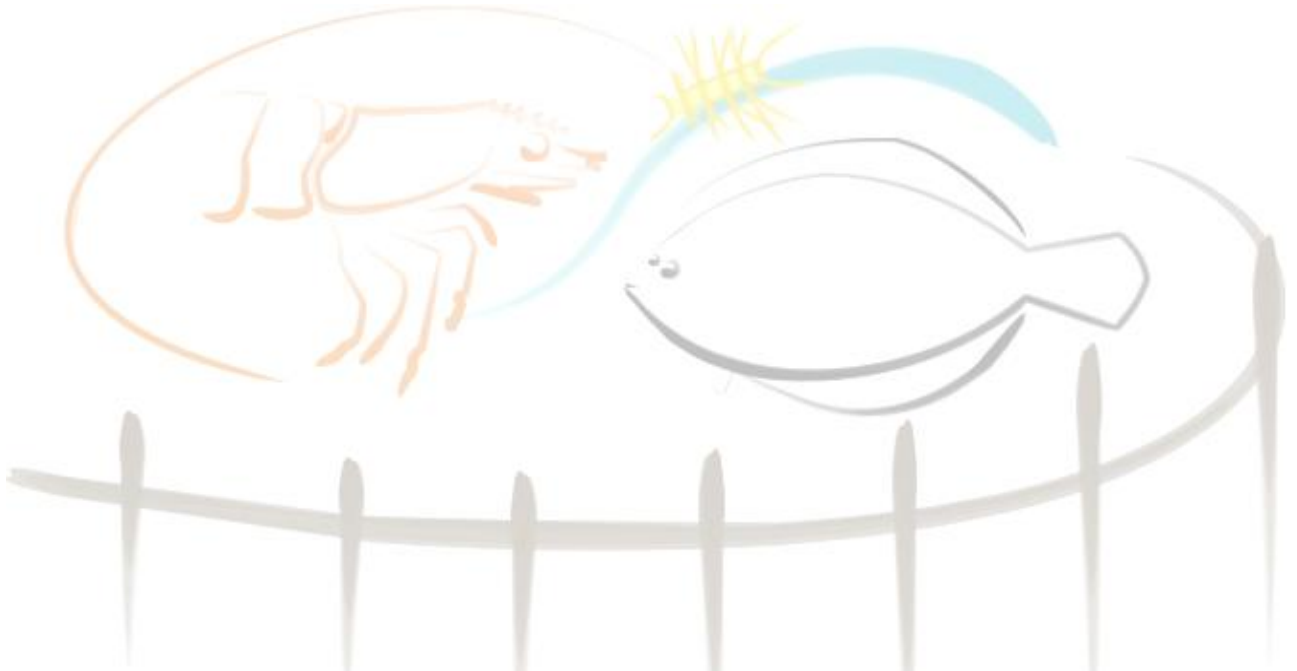




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**Influência da adição de amônia na velocidade de formação dos flocos microbianos e no desempenho do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, cultivado em sistema heterotrófico**

**MÁRCIO HENRIQUE DE CARVALHO MIRANDA**

**RIO GRANDE, RS  
2009**

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

**Influência da adição de amônia na velocidade de formação  
dos flocos microbianos e no desempenho do camarão  
branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*,  
cultivado em sistema heterotrófico**

**Márcio Henrique de Carvalho Miranda**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Dr. Luis H. Poersch

Co-orientador: Dr. Wilson Wasielesky Junior

Rio Grande – RS – Brasil  
Março, 2009

**Sumário**

<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>3</b>
<b>TABELA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>4</b>
<b>TABELA DE FIGURAS.....</b>	<b>5</b>
<b>DEDICATÓRIA.....</b>	<b>6</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1 Objetivos Específicos.....	13
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
3.1 Obtenção de Juvenis.....	14
3.2 Desenho Experimental.....	14
3.3 Formação do Floco Microbiano.....	16
3.4 Monitoramento dos Parâmetro Ambientais.....	16
3.5 Análise Estatística.....	17
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>17</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
5.1 Parâmetro Físico-Químicos de Qualidade de Água.....	20
5.2 Compostos Nitrogenados.....	21
5.3 Desenvolvimento do Floco Microbiano.....	22
5.4 Desempenho Zootécnico.....	22
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos testados no experimento.....	15
Tabela 2 - Média e desvio padrão ( $\mu \pm \sigma$ ) dos parâmetros de qualidade de água do controle e dos tratamentos (T) durante o experimento.....	17
Tabela 3 - Média e desvio padrão ( $\mu \pm \sigma$ ) dos parâmetros de desempenho de crescimento e sobrevivência do <i>L. vannamei</i> durante o experimento.....	19

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Alcalinidade média dos tratamentos e do controle nos dias 0, 7, 14 e 21.....	18
Figura 2 - Concentração média e desvio padrão de nitrito (mg/l) nos diferentes tratamentos no dia 21.....	18
Figura 3 - Valores de sólidos suspensos (mg/L) nos diferentes tratamentos utilizando o Cone de Imhoff.....	19

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a meus pais, **Fernando e Joyce Miranda**, e minhas irmãs, **Mariana e Lílian Miranda**, que me guiaram, estimularam, apoiaram e estiveram sempre presentes. Este trabalho – e minha vida – é um produto da influência de vocês.

Também dedico este trabalho a **Brunna Salgado**, grande e preciosa companheira que estive comigo durante todo o mestrado. Jamais poderei agradecer o suficiente pela amizade, dedicação, apoio, compromisso e interesse.

**Amo vocês mais do que palavras podem expressar!**

“Stay Hungry, Stay Foolish”  
(The Whole Earth Catalog)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador, Dr. Luis Poersch (Mineiro), e meu co-orientador Dr. Wilson Wasielesky (Mano) que acreditaram em mim como orientado mesmo depois da experiência relâmpago da graduação que, a propósito, acabou se repetindo no mestrado. Agradeço muito por terem acreditado desde o começo no meu trabalho e pelos anos de amizade.

Este experimento e, principalmente a idéia por trás dele, surgiu na EMA e jamais poderia ter ocorrido em qualquer outro laboratório. A ideia do trabalho é a soma de problemas, piadas, soluções fantasiosas, conversas e muita cafeína. Minha única responsabilidade foi pegar esta idéia, que estava no ar, e tentar desenhar uma metodologia para testar a hipótese. Apesar da contribuição, em maior ou menor grau, de todos os alunos e professores, alguns foram imprescindíveis nesse processo: Dariano Krummenauer, Eduardo Ballester e Geraldo Foes. Obrigado pela inspiração e pela grande amizade.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a todos os alunos, professores e servidores que trabalham na EMA, e possibilitaram a realização deste trabalho. Seria efetivamente impossível ter feito qualquer coisa sem a dedicação e o compromisso de vocês.

**Muito, Muito Obrigado!!**

## RESUMO

Nos últimos anos, o cultivo em meio heterotrófico tem se consolidando como alternativa para produção de organismos aquáticos com menor impacto ambiental, dessa forma, acelerar a formação de flocos microbianos possibilitaria melhorar os estudos acerca dos microorganismos e, eventualmente, reduzir custos de produção. O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da adição de amônia sobre o desenvolvimento dos flocos microbianos em cultivo do *Litopenaeus vannamei* em meio heterotróficos sem renovação de água. Para isto, foi montado um sistema com 15 unidades experimentais onde foram cultivados durante 21 dias juvenis de camarões em densidade de estocagem equivalentes a de 300 indivíduos/m<sup>2</sup> com peso médio inicial de  $0,58 \pm 0,21$ . Foram testados quatro tratamentos: T1, adição de 1,5 mg/L a cada 7 dias; T2, adição de 3,0 mg/L de amônia a cada 7 dias; T3, adição de 1,5 mg/L a cada 3 dias; T4, adição de 3,0 mg/L de amônia a cada 3 dias e o controle, onde não foi adicionado amônia. Em cada tratamento foram utilizadas, três repetições. Melaço de cana-de-açúcar foi adicionado como fonte de carbono visando manter uma relação carbono/nitrogênio de aproximadamente 20:1. No tratamento controle o carbono só foi adicionado quando a concentração de nitrogênio amoniacal atingia 1,0 mg/L. Para quantificar os flocos microbianos foi utilizado o Cone de Imhoff diariamente. Os dados de qualidade de água estiveram dentro da faixa considerada ideal para o cultivo do *L. vannamei* durante todo o experimento. Não houve diferença significativa no ganho de peso ou na sobrevivência dos camarões, sugerindo que as concentrações de amônia adicionada não prejudicaram os animais. Os resultados do Cone de Imhoff evidenciaram diferença significativa no desenvolvimento de flocos microbianos entre o controle e os diferentes tratamentos, e indicam que o aumento da frequência de adição de amônia é significativamente mais importante que o incremento das concentrações de amônia.



## ABSTRACT

In the last years, the bioflocs technology has been consolidated as an environmental friendly alternative to shrimp rearing. Increasing the speed of flocs formation could bring benefits in the research of ecology microorganisms and even reduce the production cost of the marine shrimp. The present experiment aimed to evaluate the influence of the addition of ammonia to increase of microbial flocs speed formation in *Litopenaeus vannamei* cultured with bioflocs technology. To investigate this hypotheses, a shrimp culture system containing 15 experimental units, with density of 300 shrimps/m<sup>2</sup>, weighting  $0,58 \pm 0,21$  were reared for 21 days. Four treatments were tested in this assay: T1, addition of 1,5 mg/L each 7 days; T2, addition of 3,0 mg/L each 7 days; T3, addition of 1,5 mg/L each 3 days; T4, addition each 3,0 mg/L in 3 days; and the control, each treatment with three replicates. Molasses was added as a carbon source aiming a carbon/nitrogen relation of 20:1. The control treatment there was no ammonia addition, and carbon were added only when concentration of TAN reach 1,0 mg/L. The Imhoff Cone was used daily to measure the microbial floc. During the experiment, the water quality data remain in standard for rear the *L. vannamei*. No significant difference was observed in weight gain or survival of shrimps, what suggests that the ammonia concentration used wasn't enough to stress the animals. The results of the Imhoff Cone show a significant difference in microbial flocs between treatments and control, and indicate that the increase of frequency is significantly more important than the increase of ammonium concentration.

## 1. INTRODUÇÃO

A emissão de efluentes resultante do cultivo de organismos aquáticos, a biosegurança e a introdução de espécies exóticas sempre estiveram em evidência, e são tratadas com particular atenção por Organizações Não Governamentais (ONGs) ligadas a questões ambientais. A utilização da farinha de peixe como fonte protéica em rações para aquicultura também é tema de discussões sobre a sustentabilidade ambiental da atividade da aquicultura e, em particular, da carcinicultura (Naylor et al., 2000).

Nos sistemas convencionais, a concentração de nitrogênio amoniacal tende a crescer ao longo do ciclo de produção devido ao aumento de biomassa dos animais cultivados, maior oferta de alimento inerte e acúmulo de matéria orgânica (Boyd, 1995). Mesmo seguindo a tabela de alimentação proposta por Jory (2001), sistemas convencionais de produção semi-intensivos e intensivos precisam ser parcialmente renovados frequentemente para que as concentrações de amônia não prejudiquem o crescimento dos animais ou atinjam níveis letais (Boyd & Tucker, 1998).

Hopkins et al. (1994) trabalhando com sistemas intensivo e sem renovação de água, testou a influência da matéria orgânica (M.O.) acumulada ao longo do cultivo sobre a sobrevivência, crescimento e ganho de peso do *L. vannamei* e concluíram que, nos viveiros aonde a M.O. foi mantida em suspensão com forte aeração, o crescimento e o ganho de peso foram superiores aos viveiros onde a M.O. foi sistematicamente retirada.

A princípio, Hopkins et al. (1994) não conseguiram explicar as razões para o incremento da produtividade dos camarões. Atualmente atribui-se este aumento da produtividade a sucessão ecológica de microorganismos, conhecida como alça microbiana (*microbial loop*). Segundo Moriarty (1997), a cadeia alimentar microbiana é parte integrante de todos os viveiros e tem impacto direto na produtividade dos organismos cultivados. Contudo, Hopkins et al. (1994) otimizaram a alça microbiana mantendo a M.O. em suspensão e evitando a formação de zonas anóxicas.

Dessa forma, Avnimelech (1999) propôs um sistema, onde, através da manipulação da relação carbono/nitrogênio (C/N) e da constante ressuspensão da M.O. era possível induzir o aumento da biomassa bacteriana, immobilizando a amônia e evitando a produção de nitrogenados. O cultivo em meio heterotrófico surgia como alternativa para a produção de organismos aquáticos com menor impacto ambiental e maior biosegurança.

Este sistema, conhecido como *ZEAH*, sigla em inglês para “Sistema Aeróbico Heterotrófico com Zero de Troca”, permite a reutilização da água por diversos ciclos consecutivos, minimizando a necessidade emissão de efluente e de captação de água, permitindo maior controle e aumento da biosegurança (Wasielesky et al., 2006).

Paralelamente, Sonnenholzner & Boyd (2000) demonstraram que o carbono não se acumula em altas taxas em viveiros de peixes ou camarões, e sugerem que o aumento da relação C/N poderia ser útil na decomposição de material orgânico refratário que se acumula durante o ciclo de produção.

Além imobilizar a amônia, a biomassa bacteriana resultante serviria como fonte de alimento. Burford et al. (2004), que demonstrou que o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, possui capacidade ingerir e reter quantidades significativas da produtividade natural em sistemas onde o floco microbiano é dominante.

Jory (2001) e Tacon et al. (2002) concluíram que o floco microbiano contém altos níveis de proteína e outros importantes componentes que suplementam a nutrição dos camarões. Segundo Moss et al. (2001) e Moss (2002) estas características propiciariam a utilização de rações de reduzido teor protéico de origem animal, minimizando o impacto ambiental.

A importância da produtividade natural dos sistemas convencionais de cultivo é inversamente proporcional a densidade de estocagem, ou seja, em cultivos extensivos a produtividade natural de um viveiro tem grande relevância, mas em cultivos intensivos ela é praticamente nula (Moss & Moss, 2004). No cultivo em meio heterotrófico, mesmo com densidades de estocagem muito superiores a sistemas convencionais, a importância da produtividade natural é alta. Wasielesky et al. (2006), reportaram ganho de peso adicional de até 32% associado a ingestão de flocos microbianos por camarões *L. vannamei* cultivados em sistemas de flocos microbianos.

De acordo com a metodologia proposta por Avnimelech (1999) e Samocha (2007), o carbono deve ser adicionado assim que a concentração de amônia atingir aproximadamente 1,0 mg/L. Entretanto, durante as fases iniciais do cultivo, com animais pequenos e pouca oferta de ração, esta concentração de pode demorar a ser atingida.

Cultivos experimentais ou comerciais invariavelmente precisam, em algum momento, iniciar o cultivo com água clara. Tanto na metodologia proposta por Avnimelech (1999), como na proposta por Samocha et al. (2007), existe um hiato entre o início do cultivo e a formação de floco microbiano, onde os benefícios do cultivo

heterotrófico não seriam tão evidentes. Wasielesky (*personal communication*) sugere que o floco demore entre quinze e vinte dias para se estabelecer de forma consistente. De fato, Vita (2008), trabalhando com probióticos em cultivo heterotrófico obteve flocos apenas a partir do dia 15º dia, tanto no controle como tratamento testado.

Em cultivos comerciais, a redução do tempo de formação dos flocos microbianos poderia contribuir para a redução dos custos de produção, melhorar a conversão alimentar e reduzir a mortalidade. Em cultivos experimentais, o estabelecimento precoce de um ambiente dominado por flocos possibilitaria investigar melhor suas características e ecologia desses microorganismos mesmo em ensaios de curta duração.

Entretanto, a adição de amônia pode causar diversos efeitos deletérios ao cultivos de camarão, trabalhos reportam que o acúmulo deste nitrogenado causa a deterioração da qualidade de água, reduzem o crescimento dos animais, aumenta o consumo de oxigênio, aumenta a excreção de amônia, altera a concentração da hemolinfa e causa mortalidade (Wickins, 1976; Chen et al., 1994).

Dessa forma, o presente trabalho tem como principais objetivos, avaliar os efeitos da adição de amônia na velocidade de formação dos flocos microbianos em sistemas de cultivo em meio heterotrófico e detectar possíveis efeitos negativos da amônia no crescimento do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*.

## 2. OBJETIVOS

Avaliar o efeito da adição de cloreto de amônia ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) na velocidade de desenvolvimento do floco microbiano em cultivo heterotrófico de *Litopenaeus vannamei*.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Analisar o crescimento do floco microbiano em cultivos heterotróficos submetidos a adição de diferentes concentrações de amônia.
- Investigar a influência da frequência de adição de cloreto de amônia na velocidade de crescimento do floco microbiano.
- Avaliar os efeitos da adição de amônia na sobrevivência e desempenho zootécnico dos camarões

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção dos juvenis

Visando obter juvenis de *L. vannamei* para o experimento, foram adquiridos náuplios de camarões de um laboratório comercial no Rio Grande do Norte (Aquatec). Inicialmente, estes animais foram transportados para a Estação Marinha de Aquacultura (EMA), onde se realizou a larvicultura da Estação Marinha de Aquacultura – EMA. As pós-larvas permaneceram no setor de larvicultura até atingirem PL20.

Posteriormente, as pós-larvas foram transferidas para um sistema de berçário super-intensivo durante 30 dias. As mesmas foram alimentadas duas vezes por dia com ração para camarões marinhos em fase de berçário (CR40 - Purina). Na ocasião do experimento os camarões pesavam em média  $0,58 \pm 0,21$  g, e foram retirados aleatoriamente 15 lotes de 109 camarões para serem estocados nas diferentes unidades experimentais.

#### 3.2 Desenho Experimental

O experimento foi conduzido na área externa da EMA, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2008. Foram utilizados como unidades experimentais quinze tanques circulares de polietileno com área de fundo de  $0,36 \text{ m}^2$  e 150 litros de volume útil.

Os tanques foram preenchidos com água marinha filtrada (salinidade 34) um dia antes do início do experimento e mantidos sob aeração constante. Visando promover circulação e homogeneidade da água das unidades experimentais, foram instalados no fundo de cada tanque dois difusores de ar conectados a um soprador radial que prôve ar para toda a EMA.

Por ser tratar de um ensaio de cultivo em meio heterotrófico, não houve renovação de água, contudo, a água perdida por evaporação era diariamente repostada com água da rede urbana declorada. Esta medida se mostrou necessária para a manutenção da salinidade e das relações estequiométricas previamente estabelecidas.

No dia zero, os animais foram transferidos do berçário intensivo para as unidades experimentais em uma densidade de estocagem equivalentes a 300 camarões/ $\text{m}^2$ , totalizando 109 animais por tanque.

O experimento foi desenhado com quatro tratamentos e um controle, com três repetições cada, totalizando quinze unidades experimentais. Objetivando testar a influencia da adiç3o de am3nia na formaç3o do floco microbiano, foi adicionado cloreto de am3nia (NH<sub>4</sub>Cl), em diferentes concentraç3es e diferentes per3odos em cada tratamento, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1: Descriç3o dos tratamentos testados no experimento

Tratamentos	NH <sub>4</sub> Cl (g)	Am3nia Total (mg/)	Frequ3ncia
T1	0,859	1,5	7 dias
T2	1,718	3,0	7 dias
T3	0,859	1,5	3 dias
T4	1,718	3,0	3 dias
Controle	-	-	-

Baseado nos ensaios de toxicidade para am3nia (Lin & Chen, 2001) e no fator emp3rico proposto por Sprague (1971), Lin & Chen (2001) determinaram que o n3vel de seguranç3a (*safety level*) para am3nia n3o-ionizada do *L. vannamei* cultivado em salinidade 35 3 de 0,16 mg/L.

Nos tratamentos T1 e T3 foi adicionado no dia zero, 0,859 g de NH<sub>4</sub>Cl. Esta foi a quantidade calculada de sal para que se obtivesse concentraç3o nominal de 1,5 mg/L de nitrog3nio na forma de am3nia total (NAT).

As concentraç3es de am3nia foram medidas diariamente atrav3s da metodologia da UNESCO (1983) e, a cada tr3s e sete dias, de acordo com o tratamento, era adicionada a quantidade de cloreto de am3nia necess3rio para restabelecer as concentraç3es iniciais de 1,5 mg/l de am3nia.

O mesmo procedimento foi adotado nos tratamentos T2 e T4. Entretanto, foi utilizado inicialmente 1,718 g de sal, objetivando assim uma concentraç3o de 3,0 mg/l de am3nia. Nos tanques controle n3o houve qualquer adiç3o de cloreto de am3nia.

Apesar destas concentraç3es serem aparentemente altas, apenas pequena fraç3o correspondente a am3nia n3o-ionizada (NH<sub>3</sub>), 3 efetivamente t3xica para os camar3es. De acordo com a bibliografia dispon3vel, a concentraç3o letal de am3nia total e de am3nia n3o-ionizada que causa a mortalidade de 50% dos animais (LC<sub>50</sub>) 3 39,54 mg/L e 1,60 mg/L, respectivamente (Lin & Chen, 2001).

Durante o experimento os juvenis foram alimentados “a lanço” duas vezes por dia com ração comercial (35% PB). A taxa de arraçoamento diário foi de 10% da biomassa (Jory et al., 2001).

A pesagem dos camarões foi programada para ser realizada quinzenalmente para determinar o crescimento dos camarões e fazer ajustes da quantidade de ração oferecida para cada unidade experimental. Contudo, um fenômeno meteorológico de grandes proporções interrompeu o experimento com 21 dias, fazendo com que as biometrias fossem realizadas no dia 0, 15 e 21.

### *3.3 Formação do Floco Microbiano*

Inicialmente todos os tanques começaram com água clara, sem qualquer tipo de inoculação intencional de fitoplâncton ou zooplâncton. A fertilização orgânica foi baseada na metodologia descrita por Avnimelech (1999) e Samocha (2006).

As fertilizações foram feitas visando manter a relação carbono e nitrogênio (C/N) na proporção vinte partes de carbono para cada parte de nitrogênio (20:1). Esta alta relação C/N beneficia o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que se utilizam os compostos nitrogenados inorgânicos, em especial a amônia, para a formação de biomassa bacteriana (Samocha, 2007).

Avnimelech (1999) propôs que quando a concentração de amônia total do sistema atingir valor igual ou superior a 1,0 mg/l seja adicionado 6 g de carbono para cada 1,0 g de nitrogênio amoniacal total (NAT) presente no sistema. Por motivos de praticidade, esse experimento utilizou como fonte de carbono o melaço de cana-de-açúcar (Samocha, 2007). Para tanto, foi realizada análise prévia do melaço no Laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande, para determinação do teor de carbono com uso do equipamento “*CHN Analyser*” (PerkinElmer Serie PE 2400), que mostrou que 63,15% da composição do melaço correspondiam a carbono, assim, foi estabelecido que para cada 1 g de NAT seria adicionado 9,8 g de melaço.

### *3.4 Monitoramento dos Parâmetros Ambientais*

Duas vezes por dia, no início da manhã e no fim da tarde, os parâmetros, temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido foram monitorados com o auxílio do aparelho multiparâmetros (modelo 556 MPS, YSI, EUA). A amônia total e o volume do floco (Eaton et al. 1995 adaptado por Avnimelech 2007) eram monitorados diariamente.



As análises de nitrito (N-NO<sub>2</sub>-, Bendschneider & Robinson 1952), nitrato (N-NO<sub>3</sub>-, Wood *et al.* 1967 adaptado por Aminot & Chaussepied 1983) e alcalinidade (Eaton *et al.* 1995) foram realizadas com frequência semanal.

### 3.5 Análise Estatística

Objetivando estabelecer se existe, ou não, diferença significativa entre os tratamentos, os dados de sobrevivência, peso médio final, parâmetros de qualidade da água e volume do floco, foram submetidos ao teste “t” levando em consideração as premissas necessárias. Para tanto foi utilizado o programa de estatística R.

## 4. RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos, medidos diariamente, não diferiram significativamente durante o experimento (Tabela 2). A salinidade, pH e oxigênio dissolvido permaneceram em níveis considerados ótimos para o cultivo do *L. vannamei*.

Tabela 2: Média e desvio padrão ( $\mu \pm \sigma$ ) dos parâmetros de qualidade de água do controle e dos tratamentos (T) durante o experimento.

Parâmetros	T1	T2	T3	T4	Controle
Temperatura AM (°C)	22,5 ± 1,44	21,9 ± 1,03	22,8 ± 1,51	22,6 ± 1,4	22,6 ± 1,47
Temperatura PM (°C)	29,6 ± 2,52	29,4 ± 2,63	29,8 ± 2,64	29,9 ± 2,55	29,3 ± 2,37
Salinidade	33,4 ± 0,97	33,0 ± 1,09	33,5 ± 0,78	33,7 ± 0,9	33,4 ± 0,97
pH	8,2 ± 0,09	8,14 ± 0,12	8,17 ± 0,11	8,12 ± 0,12	8,25 ± 0,09
Oxig. Dissolvido (mg/l)	6,0 ± 0,57	5,9 ± 0,29	6,0 ± 0,51	6,0 ± 0,61	6,0 ± 0,55

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

No experimento foi observado redução significativa da alcalinidade ao longo das três semanas, entretanto, não foi notada qualquer diferença relevante entre os diferentes tratamentos e o controle. Dessa forma, decidiu-se agrupar os dados para melhor visualização do consumo da alcalinidade ao longo do experimento (Figura 1).

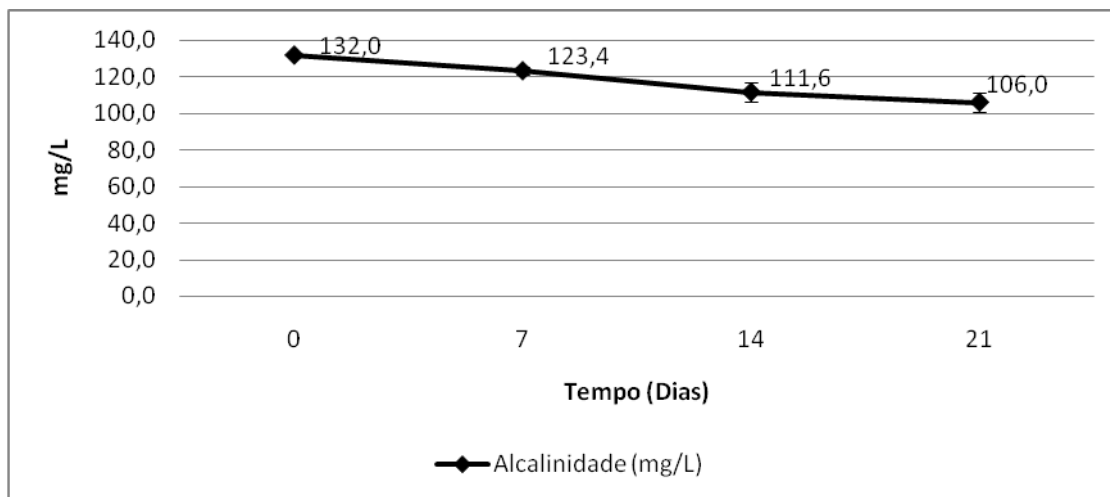


Figura 1: Alcalinidade média dos tratamentos e do controle nos dias 0, 7, 14 e 21.

Durante o ensaio, o valor máximo registrado para nitrito foi 0,21 mg/l e a maior média foi de 0,16 mg/l (Figura 2). Valor muito abaixo do nível de segurança estimado por Lin & Chen (2001), durante experimentos de concentração letal ( $LC_{50}$ ) de nitrito para *L. vannamei*. Durante este experimento não foi possível detectar qualquer concentração de nitrato.

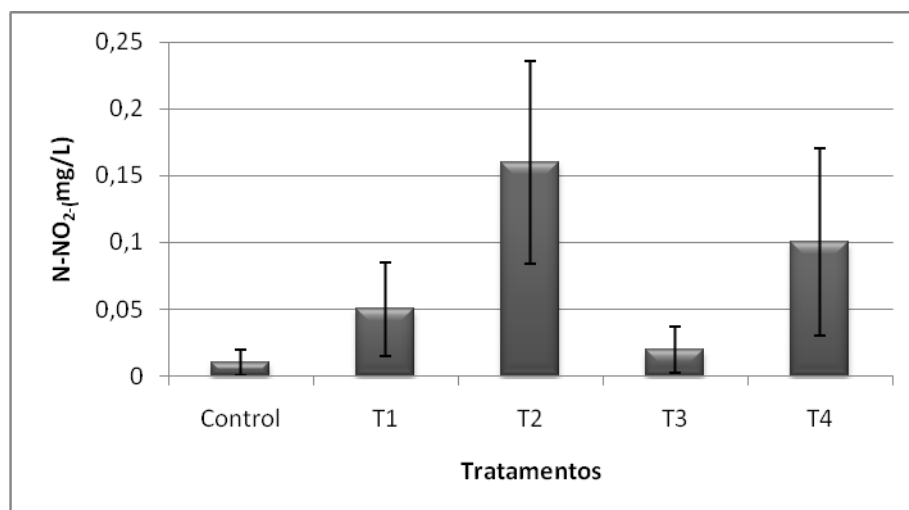


Figura 2: Concentração média e desvio padrão de nitrito (mg/L) nos diferentes tratamentos no dia 21.

O cone de Imhoff é comumente utilizado para comparar a quantidade de sólidos suspensos em diferentes soluções aquosas. Seguindo a metodologia proposta por Eaton et al. (1995), e adaptada por Avnimelech (2007), o cone foi utilizado para quantificar

diariamente o desenvolvimento do floco microbiano nos diferentes tratamentos e no controle (Figura 3).

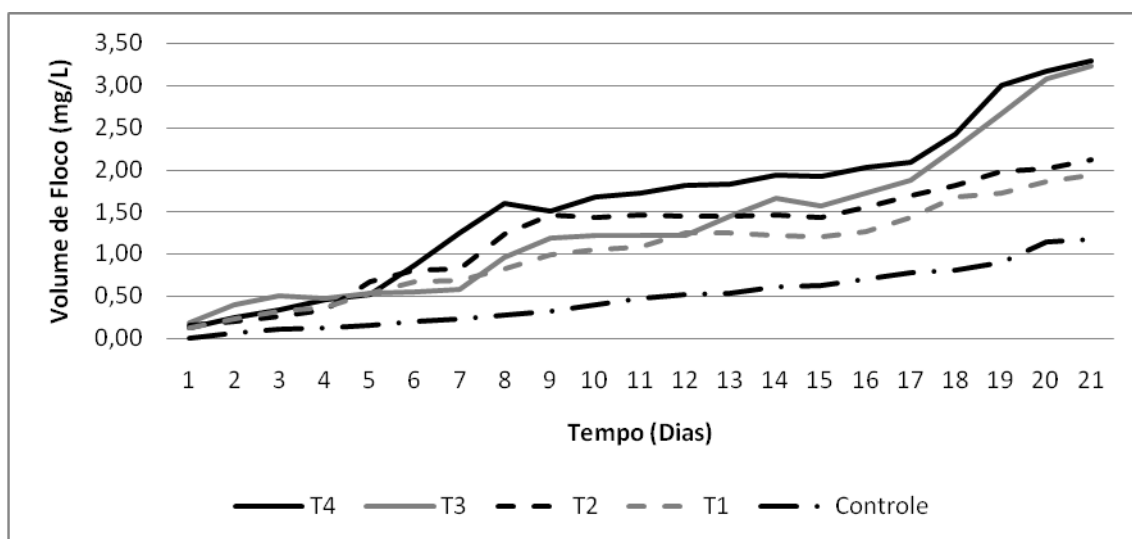


Figura 3: Valores de sólidos suspensos (mg/L) nos diferentes tratamentos utilizando o Cone de Imhoff.

As sobrevivências ficaram acima de 90%, e assim como o peso final, não houve qualquer diferença estatística entre os tratamentos e o controle (Tabela 3).

Tabela 3: Média e desvio padrão ( $\mu \pm \sigma$ ) dos parâmetros de desempenho de crescimento e sobrevivência do *L. vannamei* durante o experimento.

Parâmetros	T1	T2	T3	T4	Controle
Sobrevivência (%)	94,2 ± 2,5	93,2 ± 2,0	93,7 ± 3,0	95,7 ± 3,0	96,3 ± 3,5
Peso Inicial (g)	0,58 ± 0,21	0,58 ± 0,21	0,58 ± 0,21	0,58 ± 0,21	0,58 ± 0,21
Peso Final (g)	1,24 ± 0,55	1,25 ± 0,41	1,21 ± 0,67	1,18 ± 0,31	1,10 ± 0,46

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

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Parâmetro Físico-Químicos de Qualidade de Água

De acordo com Ponce-Palafox et al. (1997), a temperatura ótima para o cultivo do camarão branco do Pacífico estaria em torno de 25 a 30 °C. Apesar da significativa flutuação diária da temperatura, pode-se afirmar que, em média, as unidades experimentais se mantiveram na faixa ótima para crescimento do *L. vannamei*.

A salinidade do experimento se manteve, em média, em torno dos 33. Admite-se 35 como sendo a salinidade padrão dos oceanos (Sverdrup, 1942), entretanto o *L. vannamei* é cultivado em amplas faixas de salinidade. Laramore et al. (2001) não encontraram qualquer diferença significativa no crescimento do camarão branco cultivado em salinidade 30 ou salinidade 4. Apesar de Decamp et al. (2003), terem reportado diferença significativa no crescimento de camarões mantidos em sistema fechado com salinidade 36, a salinidade média do experimento se manteve dentro dos padrões estabelecidos para cultivo da espécie.

Os valores ótimos de pH para o crescimento do *L. vannamei* encontram-se na faixa de 7,0 - 8,3 (Van Wyk & Scarpa, 1999). No decorrer deste experimento, o pH se manteve em média de  $8,16 \pm 0,53$ . Wasielesky et al. (2006b), conseguiram sobrevivências de 98% em cultivo que, nos estágios finais, atingiu pH 5,1. Mesmo com estes altos níveis de sobrevivência, os dados mostram claramente que pH abaixo de 7,0 afeta significativamente o crescimento e a conversão alimentar dos animais.

Fast & Boyd (1992), afirmam que, apesar da concentração letal de oxigênio dissolvido do *L. vannamei* ser em torno 1 mg/l, concentrações inferiores a 3,5 mg/l já comprometem a assimilação do alimento fornecido, causando a estagnação do crescimento dos animais. Durante este ensaio, as concentrações de oxigênio permaneceram em níveis elevados, muitas vezes chegando a saturação, o que evidencia que os níveis de oxigênio dissolvido não foram limitantes para o crescimento dos camarões.

A manutenção da alcalinidade em cultivos é importante pois minimiza as flutuações diárias do pH (Boyd & Tucker, 1998). De acordo com Wickins (1983), sistemas de recirculação tendem a consumir quantidades significativas de alcalinidade, principalmente devido ao processo de nitrificação.

Ebeling et al. (2006) demonstra e quantifica a alcalinidade consumida pelo processo de imobilização da amônia realizado pelas bactérias heterotróficas no sistema *ZEAH*, concluindo que, assim como a nitrificação, o processo de imobilização tem importância significativa na redução da alcalinidade.

Mesmo sendo um ensaio de curta duração, foi possível observar uma importante redução dos íons responsáveis pelo processo de tamponamento do pH, entretanto, os valores de alcalinidade se mantiveram acima de 60 mg/L, nível indicados para a espécie (Boyd & Tucker, 1998). Ainda neste livro, Boyd & Tucker (1998) afirmam que não há necessidade de aplicações de carbonatos em sistemas convencionais de cultivo caso o pH estejam acima de 7,0 e a alcalinidade acima de 60 mg/L. Contudo, o consumo de alcalinidade em sistemas *ZEAH* tem se mostrado bem mais agressivo do que em sistemas convencionais, o que talvez justificasse adições preventivas de carbonatos.

## 5.2 Compostos Nitrogenados

A concentração de amônia não-ionizada varia com o pH, salinidade e temperatura e, apesar do experimento ter sido elaborado objetivando não ultrapassar os níveis de segurança para a espécie, os altos valores de pH pressionaram as concentrações de  $\text{NH}_3$ .

Na concentração de 3,0 mg/L de amônia, e, com salinidade entre 20 e 30, temperatura de 28 °C, e pH 8,0 teríamos uma concentração de amônia não-ionizada equivalente a 0,196 mg/l (Baumgarten & Nienchesky, 1990). Um valor um pouco acima do nível de segurança determinados a partir de ensaio toxicológico (Lin & Chen, 2001).

Entretanto, não foi observada qualquer diferença significativa no ganho de peso ou na sobrevivência dos camarões entre os tratamentos e o controle, o que sugere que o fator empírico proposto por Sprague (1971) é bastante conservador.

A oxidação da amônia se dá através de grupos de bactérias aeróbicas autotróficas, conhecidas como nitrossonomas e nitrobacter. As nitrossonomas são o grupo de bactérias responsável pela oxidação da amônia a nitrito, enquanto as nitrobacter oxidam o nitrito a nitrato (Boyd & Tucker, 1998).

Neste experimento ficou claro que, apesar das constantes adições de cloreto de amônia, este elemento não estava disponível para estas bactérias autotróficas, o que justifica as baixas concentrações de nitrito e as concentrações não detectáveis de nitrato.

Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados pro Avnimelech (1999). Segundo o autor, o aumento da relação carbono/nitrogênio promove o

crescimento das bactérias heterotróficas que imobilizam a amônia, não permitindo que este esteja disponível para serem reduzidos pelas bactérias autotróficas.

### 5.3 Desenvolvimento do Floco Microbiano

As diferenças significativas entre os tratamentos e o controle ficaram claras logo no início da segunda semana de experimento (dia 8), e esta diferença tendeu a se ampliar ao longo dos dias.

Percebe-se que a frequência de adição de cloreto de amônia é claramente mais importante que a concentração em que este sal é adicionado. Apesar das adições de 3,0 mg/L de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  terem tendência a acelerar mais o crescimento do floco, não foi constatada qualquer diferença significativa quando comparado com as adições na concentração de 1,5 mg/L.

Contudo, a adição de cloreto de amônia a cada três dias se mostrou muito mais eficiente do que a adição a cada sete dias. De fato, a adição de 1,5 mg/L de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a cada três dias (T3) resultou em crescimento significativamente superior às adições de 3,0 mg/L (T2) a cada sete dias.

É provável que esta diferença seja explicada pela grande capacidade que as bactérias heterotróficas têm em imobilizar a amônia. Avnimelech (1999), reportou que 10 mg/L de amônia foram completamente consumidos em apenas duas horas após a adição de carbono. Esta hipótese é suportada pelos dados obtidos na análise de nitrito e nitrato deste ensaio, observa-se que as concentrações destes dois compostos nitrogenados se mantêm baixas ao longo de todo o experimento, evidenciando que a amônia estava sendo rapidamente consumida, ou imobilizada.

### 5.4 Desempenho Zootécnico

Moss e Moss (2004), analisaram o efeito de diferentes densidades de estocagem para cultivo de *L. vannamei* na fase de berçário e concluíram que, apesar dos resultados indicarem relação inversa entre a densidade de estocagem e o desempenho do camarão, as causas desta relação ainda não estão bem elucidadas. Acredita-se que a redução do crescimento com o aumento das densidades seja resultado da soma de diversos componentes e suas respectivas interações, sendo que um dos principais componentes seria a qualidade de água e compostos nitrogenados.

De acordo com Burford et al. (2004), o camarão *L. vannamei* possui capacidade de se alimentar e reter quantidades significativas de floco microbiano em sistemas de

cultivo heterotrófico. Entretanto, apesar das diferenças significativas na concentração de flocos nos tratamentos, não foi observado qualquer diferença significativa ganho de peso dos camarões, provavelmente devido a grande heterogeneidade no peso dos animais no início do experimento e ao curto tempo de duração deste ensaios. Dessa forma não foi possível obter resultados conclusivos no que concerne ao crescimento dos camarões.

Contudo, os resultados de sobrevivência sem qualquer diferença significativa indicam que a adição de amônia em concentrações próximas ao nível de segurança não causa aumento na mortalidade dos camarões.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstram que a adição de cloreto de amônia ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) nas fases iniciais do cultivo heterotrófico do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, aumenta significativamente a velocidade de formação dos flocos microbianos.

Através dos dados coletados com o cone de Imhoff, se percebe que a frequência de adição de cloreto de amônia foi mais eficiente do que as adições em maior concentração.

Os resultados evidenciam que a adição de 1,5 mg/L de amônia a cada três dias, além de não prejudicar a sobrevivência dos camarões, aumenta significativamente a formação de flocos microbianos, e portanto, esta adição seria recomendável para cultivos experimentais, ou comerciais, que necessitem de maior velocidade no estabelecimento de um sistema heterotrófico de cultivo.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176, 227-235.
- AMINOT, A, M CHAUSSEPIED. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, CNEXO, 395p.
- BAUMGARTEN, MGZ, LF, NIENCHESKY. 1990. O estuário da Laguna dos Patos: variações de alguns parâmetros físico-químicos da água e metais associados ao material em suspensão. *Ciência e Cultura* 42(5/6): 390-396
- BENDCHNEIDER, K, ROBINSON RJ. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.*, 11, 87-96.
- BOYD, CE. 1995. Bottom Soils, Sediment, and Pond Aquaculture. Springer. 350 p.
- BOYD, CE, CS TUCKER. 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Springer. 720 p.
- BURFORD, MA, THOMPSON, PJ, MCINTOSH, RP, BAUMAN, RH, PEARSON, DC. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537.
- CHEN, JC, CHEN, CT, CHENG, SY. 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and freeamino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 110, 85–94.
- DECAMP, O, J CODY, L CONQUEST, G DELANOY, AGJ TACON. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water exchange culture system. *Aquacult. Res.*, 34, 345-355.

- EATON, AD, LS CLESERCI, AE GREENBERG. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 10th edition. Amer. Public. Health Assoc. (APHA), Washington D.C.
- EBELING, JM, TIMMONS, MB, BISOGNI, JJ, 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of hotoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture* 257, 346-358.
- FAST, AW, BOYD, CE. 1992. Artificial aeration, circulation and other pond management practices. In: Fast, A.W., Lester, L.J. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, pp. 461–500.
- HOPKINS, SH, PA, SANDIFER, CL, BROWDY. 1994. Sludge Management in Intensive Pond Culture Shrimp: Effect of Management Regime on Water Quality, Sludge Characteristics, Nitrogen Extinction and Shrimp Production. *Aquacultural Engineering*, 13, 1 – 30.
- JORY, DE. 2001. Feed management practices for a healthy pond environment. In: BROWDY CL, JORY DE (Eds.). *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 118-143.
- LARAMORE, S, CR, LARAMORE, J, SCARPA. 2001. Effect of low salinity on growth and survival of postlarvae and juveniles *Litopenaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture Society*, 32-4.
- LIN, Y, J CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259, 109–119.
- MORIARTY, DJW. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151, 333-349.
- MOSS, SM, ARCE, SM, ARGUE, BJ, OTOSHI, CA, CALDERON, FRO, TACON, AGJ. 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In: BROWDY, CL, JORY, DE (Eds.), *The New*

Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 1-19.

MOSS, SM, 2002. Dietary importance of microbes and detritus in Penaeid shrimp aquaculture. In: LEE CS and P O'BRYEN (Eds.), Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems, World Aquaculture Society. 1-18.

MOSS, K.K. & SM MOSS. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.*, 35: 536-542.

NAYLOR, RL, RJ GOLDBURG, JH PRIMAVERA, N KAUTSKY, MCM BEVERIDGE, J CLAY, C FOLKE, J LUBCHENCO, H MOONEY, M TROELL. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017-1024.

PONCE-PALAFIX, J, CA MARTINEZ-PALACIOS, LG ROSS. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157, 107-115.

SAMOCHA, TM, S PATNAIK, M SPEED, A ALI, JM BURGER, RV ALMEIDA, Z AYUB, M HARISANTO, A HOROWITZ, DL BROCK. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Eng.*, 36, 184-191.

SONNENHOLZNER, S, BOYD, CE. 2000. Chemical and physical properties of shrimp pond bottom soils in Ecuador. *Journal of World Aquaculture Society*, 31 (3).

SPRAGUE, JB. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effect and "safe" concentration. *Water Res.* 5, 245-266.

SVERDRUP, HU; MW, JOHNSON, RH, FLEMING. 1942. *The Oceans – Their physics, chemistry and general biology*. Prentice-Hall, Englewood, New Jersey, USA.

- TACON, AGJ, JJ CODY, LD CONQUEST, S DIVAKARAN, IP FORSTER, OE DECAMP. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutr.*, 8, 121 – 137.
- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Intergovernmental Oceanographic Commission, Manual and Guides, 12.
- VANWYK, P & J SCARPA. 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p. 128–138.
- WASIELESKY, WJ, H ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396-403.
- WASIELESKY, WJ, H ATWOOD, KEGL, R, BJ, STOKES, A, BROWD CL. 2006b. Efeito do pH na sobrevivência e crescimento do camarão-branco *Litopenaeus vannamei* em cultivos superintensivos. Livro de Resumos AquaCiência 2006. Bento Gonçalves – RS, Brasil.
- WICKINS, JF. 1976. The tolerance of warm-water prawn to recirculated water. *Aquaculture* 9, 19–37
- WICKINS, JF. 1983. Studies on marine biological filters. *Water Res.*, 17(12): 1769-1780.
- WOOD, ED, FAJ ARMSTRONG, FA RICHARDS. 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass., UK*, 47, 23-31.