

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

**Dinâmica do Nitrogênio e do Fósforo no Cultivo  
Superintensivo dos Camarões *Litopenaeus vannamei* e  
*Farfantepenaeus paulensis* sem renovação de água.**

Kassio Rios da Silva

Orientador: Paulo César Abreu

Coorientador: Wilson Wasielesky Jr.

Rio Grande/RS  
2009

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

Dinâmica do Nitrogênio e do Fósforo no Cultivo Super-intensivo dos  
Camarões *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis* sem renovação  
de água.

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

Kassio Rios da Silva

Orientador: Paulo César Abreu

Coorientador: Wilson Wasielesky Jr.

Rio Grande/RS  
Abril, 2009.

## ÍNDICE

<b>RESUMO .....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1 Objetivos.....	15
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
2.1 Local do experimento .....	16
2.2 Desenho experimental .....	16
2.3. Preparação do meio de cultivo .....	16
2.4. Alimentação das Pós-larvas .....	18
2.5. Amostragem.....	18
2.6. Medidas de Nutrientes e Material Particulado em Suspensão (MPS).....	18
2.7. Análises Biológicas .....	19
2.8. Determinação de nitrogênio e fósforo nos microorganismos .....	20
2.9. Balanço de massa .....	20
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Quantidades de nitrogênio e fósforo na ração e nos camarões .....	21
3.2 Índices zootécnicos .....	22
3.3 Fatores Abióticos .....	23
3.3.1 pH .....	23
3.3.2 Temperatura da água.....	23
3.3.4 Salinidade.....	24
3.3.5 Oxigênio Dissolvido .....	24
3.3 Material particulado em suspensão .....	25
3.4 Nutrientes.....	26
3.4.1 Nitrogênio amoniacal.....	26
3.4.2 Nitrito.....	26
3.4.3 Nitrato .....	27
3.4.4 Nitrogênio orgânico dissolvido .....	28
3.4.5 Nitrogênio particulado .....	28
3.4.6 Nitrogênio total.....	29
3.4.7 Ortofosfato .....	30
3.4.8 Fósforo orgânico dissolvido.....	31

3.4.9 Fósforo particulado.....	31
3.4.10 Fósforo total .....	32
3.4.11 Razão nitrogênio:fósforo .....	33
3.4.12 Razão nitrogênio particulado: material particulado em suspensão (em peso) ..	33
3.4.13 Razão fósforo particulado: material particulado em suspensão (em peso).....	34
3.5 Variáveis biológicas .....	35
3.5.1 Clorofila-a .....	35
3.5.2 Bactérias livres .....	35
3.5.3 Bactérias aderidas.....	38
3.6 Balanço de massa .....	42
3.6.1 Nitrogênio .....	42
3.6.2 Fósforo .....	43
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
4.2. Desempenho dos Camarões .....	45
4.3. Principais Processos Envolvidos Na Dinâmica Dos Nutrientes no Sistema ZEAH.	46
4.3.1 Nitrogênio .....	46
4.3.2. Fósforo .....	51
4.4. Efluente.....	52
4.5. Sugestões Para o Tratamento do efluente e Gerenciamento da Qualidade da Água	53
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>55</b>

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 Modelo conceitual do balanço de massa englobando os 3 compartimentos estudados. Compartimento 1: corresponde a quantidade de N e P retida na biomassa dos camarões. Compartimento 2: Corresponde aos nutrientes orgânicos e inorgânicos dissolvidos na água do cultivo. Compartimento 3. Corresponde ao N e P particulados somados à quantidade de N e P no biofilme. ....	21
Figura 2 (A) Variação temporal na quantidade de ração adicionada nos tanques experimentais. (B) Gráfico do crescimento dos camarões <i>Litopenaeus vannamei</i> e <i>Farfantepenaeus paulensis</i> ao longo do período experimental. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	22
Tabela 1 Dados de peso inicial, peso final, sobrevivência (%), conversão alimentar aparente -CAA ( $\pm$ desvio padrão) e taxa de crescimento específico – TCE. Letras diferentes indicam diferença significativa (teste-t, p-valor < 0,05).....	22
Figura 3. Variação temporal nos valores médios de pH nos tratamentos estudados (média entre os períodos da manhã e tarde). As barras verticais representam o desvio padrão. ....	23
Figura 4. Variação temporal nas médias diárias (manhã e tarde) dos valores de temperatura nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	24
Figura 5. Variação temporal nos valores das concentrações médias de oxigênio dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	25
Figura 6. Variação temporal nos valores das concentrações médias de material particulado em suspensão nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	25
Figura 7. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio amoniacal nos tratamentos estudados. A linha perpendicular ao eixo y representa o período no qual o melaço de cana foi adicionado, a seta indica o momento em que foi adicionado 20g de melaço de cana a mais do que a fertilização usual. As barras verticais representam o desvio padrão.....	26
Figura 8. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrito nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	27
Figura 9. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrato nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	28
Figura 10. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio orgânico dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	28
Figura 11. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio particulado nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	29
Figura 12. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio total nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	30
Figura 13. Variação temporal nos valores das concentrações médias de orto-fosfato nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	30
Figura 14. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo orgânico dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	31
Figura 15. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo particulado nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	32
Figura 16. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo total nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	32
Figura 17. Variação temporal na razão N:P média nos tratamentos estudados.....	33

Figura 18. Razão entre nitrogênio particulado e material particulado em suspensão ao longo do período experimental. Resultados expressos em $\mu\text{moles}$ de nitrogênio particulado por grama de material particulado em suspensão. As barras verticais representam o desvio padrão.....	34
Figura 19. Razão entre fósforo particulado e material particulado em suspensão ao longo do período experimental. Resultados expressos em $\mu\text{moles}$ de fósforo particulado por grama de material particulado em suspensão. As barras verticais representam o desvio padrão.....	34
Figura 20. Variação temporal nos valores das concentrações médias de clorofila-a nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.....	35
Figura 21. Variação temporal na abundância total de bactérias livres nos tratamentos estudados. Resultado expresso em $1 \times 10^6$ bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	36
Figura 22. Variação temporal na abundância de bactérias do morfotipo cocóide nos tratamentos estudados. Resultado expresso $1 \times 10^6$ em bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	37
Figura 23. Variação temporal na abundância total de bactérias do morfotipo bastonete nos tratamentos estudados. Resultado expresso em $1 \times 10^6$ bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	37
Figura 24. Variação temporal na abundância total de bactérias do morfotipo víbrio nos tratamentos estudados. Resultado expresso em $1 \times 10^6$ bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	38
Figura 25. Variação temporal na abundância total de bactérias filamentosas nos tratamentos estudados. Resultado expresso em $1 \times 10^6$ bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	38
Figura 26. Variação temporal na abundância de bactérias aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão. ....	39
Figura 27. Variação temporal na abundância de bactérias cocóides aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.....	40
Figura 28. Variação temporal na densidade de bactérias aderidas do morfotipo bastonete por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.....	40
Figura 29. Variação temporal na densidade de bactérias filamentosas aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.....	41
Figura 30. Variação temporal na abundância total de bactérias aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em $1 \times 10^6$ bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.....	41
Figura 33. Balanço de massa para fósforo nos tratamentos vannahensis (A) e paulensis (B) realizado nos compartimentos: 1 camarão; 2 nutrientes inorgânicos dissolvidos; 3 material particulado (maior que $0,7\mu\text{metros}$ ). Os valores estão expressos em miligramas de fósforo e por porcentagem em relação ao input proveniente da ração. Os valores fora do retângulo principal representam a quantidade de fósforo que não foi mensurada em nenhum dos compartimentos do modelo. ....	44

Figura 34. Balanço de massa para nitrogênio nos tratamentos vannamei (A) e paulensis (B) realizado nos compartimentos: 1 camarão; 2 nutrientes inorgânicos dissolvidos; 3 material particulado (maior que 0,7µmetros). Os valores estão expressos em miligramas de nitrogênio e por porcentagem em relação ao input proveniente da ração..... 43

Tabela 2. Quantidade de nitrogênio e fósforo produzida por tonelada de camarão cultivado em diferentes densidades..... 53

Aos meus pais e  
para Marianna a garota mais  
extraordinária deste mundo!



## **AGRADECIMENTOS**

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

Aos membros da banca pelas valiosas sugestões.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr. pelas correções e apoio durante a realização do experimento.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Cesar Oliveira Vergne de Abreu, pela orientação, ensinamentos e principalmente pela paciência e boa vontade durante todo o período da realização deste manuscrito.

A todos os professores que tive durante minha vida, principalmente para aqueles que exercem a profissão com entusiasmo e tornaram as disciplinas agradáveis e interessantes.

Aos amigos(as) da EMA pelo companheirismo, amizade e apoio durante a realização do experimento. Sem falar no futebol e nos churrascos!

Aos colegas do Labfito, em especial ao Arnaldo ao José ao Cabeção e a Vanessa pela ajuda durante o experimento e nas análises no laboratório.

A todos os demais amigos queridos que me apoiaram com muita alegria e amizade: Jack, Camilão, Sami San, Boto, João, Jack, Ricardo, Pedrão, Lú, Renatão, Sabrina, Paulinha, Gabi, Natan, Diogão, Lisa, Lise entre muitos outros que não estão citados, mas que também mereciam estar aqui.

A Marianna, pela parceria, amor e amizade, e, sobretudo, pela paciência e apoio nos momentos difíceis de desânimo e cansaço. Muito obrigado por estar ao meu lado e me fazer tão feliz.

E, principalmente, à minha família que eu amo muito, pela educação, apoio, amor e confiança.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo acompanhar a dinâmica do nitrogênio e do fósforo em um sistema de cultivo super-intensivo sem renovação de água (*Zero Exchange Aerobic Heterotrophic System - ZEAH*) dos camarões marinhos de duas diferentes espécies: *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis*. Para tal foi realizado um experimento ao longo de 42 dias que consistiu em 3 tratamentos: 1) TV – estocado com juvenis de *L. vannamei* com 0,12g de peso inicial e densidade de 300 cam/m<sup>2</sup>, 2) TP - com juvenis de *F. paulensis* com 0,13g de peso inicial e densidade de 300 cam/m<sup>2</sup> e 3) TC – sem camarão, apenas com a adição de ração. Os tratamentos tinham três repetições compostos de tanques de 210 litros de volume útil e 0,33m<sup>2</sup> de área de fundo. Variáveis físicas e químicas como pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente (manhã e tarde). Os nutrientes (nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, nitrogênio particulado, nitrogênio total, ortofosfato, fósforo particulado e fósforo total), material particulado em suspensão, clorofila-a e microorganismos foram monitorados a cada 3 dias e no final do experimento foi realizado um balanço de massa para nitrogênio e fósforo. O sistema *ZEAH* se mostrou bastante eficiente na mobilização da amônia. A oxidação da amônia pelas bactérias nitrificantes foi o principal processo de remoção deste nutriente, sendo que o nitrato correspondeu a mais de 80% do nitrogênio inorgânico dissolvido em todos os tratamentos estudados. Do total de N e P adicionado pela ração os camarões absorveram 42% do N e 35% do P no TV e 21,5% do N e 16% do P no TP, estes valores elevados indicam que os camarões conseguem aproveitar melhor os nutrientes no sistema *ZEAH*, se comparado a outros sistemas de cultivo. O acúmulo de ortofosfato foi mais intenso no TP em relação ao *vannamei*. Cerca de 35% do fósforo adicionado pela ração foi medido como ortofosfato neste tratamento. O aumento na disponibilidade do fósforo pode ocasionar problemas ao cultivo de camarões, como o surgimento de cianobactérias nocivas. Desta forma, algumas medidas de tratamento de da água de cultivo para a remoção deste nutriente são apresentadas.

## ABSTRACT

This study aimed to monitor the nitrogen and phosphorus dynamics in the super-intensive aerobic heterotrophic system (*ZEAH*) rearing two different species: *L. vannamei* and *F. paulensis*. For this an experiment consisting of 3 treatments: : 1) vannamei treatment – stocked with *L. vannamei* juveniles (0.12 g initial weight and density of 300 shrimp/m<sup>2</sup>); 2) paulensis treatment - with *F. paulensis* juveniles (0.13 g initial weight and 300 shrimp/m<sup>2</sup> density and 3) control treatment – where only feed were added with no shrimp stocked. The experiment was performed along 42 days. All treatments were conducted in triplicate. The experimental units consisted of 9 fiber glass tanks of 210 liters of useful volume and 0.33 m<sup>2</sup> of botton area. Physico-chemical variables like salinity, temperature, dissolved oxygen and pH, nutrients (total ammonia nitrogen, nitrite, nitrate, particulate nitrogen, total nitrogen, soluble reactive phosphorus, particulate phosphorus and total phosphorus), total solids , chlorophyll-a and microorganisms were monitored every 3 days. A N and P mass balance was performed at the end of the experiment. The *ZEAH* system showed to be very efficient in the ammonium elimination. The ammonium oxidation by by nitrifying bacteria was the predominant processes in the ammonium removal . At day 42 the nitrate concentration represented more than 80% of total dissolved inorganic nitrogen in all treatments. Shrimp absorbed 42% of N and 35% of P in the vannamei treatment and 21.5% of N and P in 16% in treatment paulensis. These high values suggest that shrimp feeds on the microbial flocs. The accumulation of soluble reactive phosphorus (SRP) in treatment paulensis was greater than on vannamei. About 35% of phosphorus inputs are accumulated as SRP. The increase in the orthophosphate concentration can cause some problems to the rearing system as cyanobacteria blooms. Therefore, several suggestion of *ZEAH* water treatment are presented.

# 1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da FAO (2006, 2008), nas últimas décadas o cultivo de organismos aquáticos cresceu em média 8,8% ao ano, atingindo produção anual de aproximadamente 45,5 milhões de toneladas em 2004, com previsão de 83 milhões de toneladas para 2030. De acordo com Cuzon *et al.* (2004), o hemisfério ocidental produziu 132.000 toneladas de camarão em 1998 e 271.000 toneladas em 2003. Nesse mesmo ano, o Brasil atingiu uma produção de 90.120 toneladas com produtividade média acima de 6000 kg/ha/ano (Rocha *et al.*, 2004). Entretanto, certas precauções são necessárias para garantir a sustentabilidade desta atividade.

A eutrofização de ambientes aquáticos por efluentes de cultivo, a introdução de espécies exóticas e a utilização de proteína de origem marinha são apontadas como os maiores impactos produzidos pela aqüicultura (Avnimelech, 2006, FAO, 2006, Lacerda *et al.*, 2006, Naylor *et al.* 2000, Sena *et al.* 2006). Outro problema, enfrentado especificamente pelos carcinocultores, é a incidência de doenças como a síndrome da mancha branca (“white spot syndrome virus - WSSV”) (Lightner, 1999) que, podem ocasionar a diminuição da produção (Schwab & Lehmann, 2003). A ocorrência de enfermidades está principalmente associada à baixa qualidade da água em cultivos intensivos e a captação da água proveniente de locais onde outros produtores liberaram seus efluentes (Kautsky *et al.*, 2000).

Historicamente, os cultivos intensivos de camarões se utilizaram de alta taxa de renovação de água para garantir a qualidade do meio de cultivo, liberando, via efluentes, cargas significativas de nutrientes e matéria orgânica (Lacerda *et al.* 2006, Boyd & Clay, 1998). Os efluentes provenientes de cultivos podem contribuir para a eutrofização de ambientes aquáticos de duas maneiras: 1) pela adição de matéria orgânica e/ou 2) pelo estímulo à produção de matéria orgânica pela adição de nutrientes inorgânicos dissolvidos como N e P (Cho *et al.*, 1991 e Phillips *et al.*, 1993 apud Thoman *et al.* 2001).

Em ecologia, chama-se eutrofização o processo causado pelo excesso de nutrientes (compostos químicos ricos em fósforo e/ou nitrogênio, normalmente causado pela descarga de efluentes agrícolas, urbanos ou industriais) num corpo de água mais ou menos fechado, o que leva à proliferação excessiva de algas, que, ao entrarem em decomposição, levam ao aumento do número de microorganismos e à conseqüente deterioração da qualidade do corpo de água (Wikipédia, 2009).

Atualmente, com o aumento da cobrança por parte dos órgãos ambientais e pelo risco de contaminação por patógenos, existe um interesse em buscar sistemas alternativos que garantam alta produtividade, baixo risco de contaminação e o mínimo de impacto ambiental.

Uma maneira de evitar a eutrofização é diminuir a carga de nutrientes no efluente (Thoman, 2001) ou utilizar o sistema “ZEAH” (Zero exchange aerobic heterotrophic system). Os princípios para a utilização de sistemas sem renovação ZEAH (ou renovação mínima) de água foram desenvolvidos concomitantemente em Israel, focando no cultivo de tilápias (Avnimelech *et al.*, 1989, Avnimelech *et al.*, 1994), e nos Estados Unidos da América voltado ao cultivo do camarão-branco *Litopenaeus vannamei* (Hopkins *et al.*, 1993, Chamberlain & Hopkins, 1994).

Entre as principais vantagens deste sistema estão a facilidade na implementação de estratégias de biosegurança (Moss, 1999), a possibilidade de redução nos níveis de proteína na dieta (Burford *et al.*, 2004, Ballester *et al.* 2009), e a redução ou eliminação dos impactos ambientais provocados pelos efluentes (Browdy *et al.*, 2001). Todavia, apesar das vantagens proporcionadas pelo sistema “ZEAH”, é necessária uma alta densidade (> 200 cam/m<sup>2</sup>) de estocagem para garantir sua viabilidade econômica (Van Wik, 2001, apud Weirich, 2002).

Nitrogênio e fósforo são produzidos em grandes quantidades em sistemas intensivos, podendo causar eutrofização acentuada do corpo de água receptor dos efluentes (Hakanson *et al.*, 1998). A principal fonte de nitrogênio e fósforo é proveniente da excreção e da decomposição da ração não ingerida. Kibria *et al.* (1996), relatam que na maioria das rações comerciais os níveis de fósforo estão acima das exigências nutricionais, ou estão em formas indisponíveis. Além disso, os camarões necessitam de alta concentração de proteína na dieta para suprir suas necessidades em aminoácidos essenciais e energia, sendo o produto da catálise protéica excretado principalmente, sob a forma de amônia. Na dieta, o fósforo é necessário para a obtenção de um crescimento ótimo e melhor eficiência alimentar atuando principalmente na regulação ácido-base, na formação do exoesqueleto e no armazenamento de energia (Richel & Ebeling, 2006).

A ciclagem biogeoquímica do nitrogênio e do fósforo em ambientes aquáticos naturais é um processo complexo envolvendo os compartimentos orgânico e inorgânico, assim como as formas dissolvida e particulada (Carmouze, 1994). Em sistemas ZEAH torna-se mais fácil a análise dos fluxos entre os compartimentos citados acima, uma vez que não existe renovação de água. Diversos autores investigaram o efeito da relação C: N

no desenvolvimento dos agregados microbianos e absorção de nitrogênio nestes sistemas (Avnimelech, 1999, Avnimelech 2006, Burford *et al.* 2003, Ebeling *et al.*, 2006.). O nitrogênio é removido de sua forma dissolvida ( $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$ ) por quatro vias: nitrificação, desnitrificação, volatilização da amônia gasosa ( $\text{NH}_3$ ) e assimilação por organismos fotoautotróficos e por bactérias heterotróficas (químio-organotróficas). Nos sistemas *ZEAH* a razão C:N é aumentada, através da adição de carboidrato, para favorecer assimilação de nitrogênio (principalmente na forma de amônio) pelas bactérias heterotróficas e promover a formação do floco microbiano que pode contribuir com uma parcela significativa na nutrição dos camarões peneídeos (Burford *et al.* 2004, Tacon *et al.* 2002).

Ao contrario do nitrogênio, o fósforo não apresenta nenhuma rota de saída do sistema, sendo comumente retirado por métodos físicos, químicos ou biológicos. No ambiente natural o fósforo é adsorvido pelos íons  $\text{Fe}^{+3}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  ou por partículas de argilo-minerais e matéria orgânica. As principais variáveis físico-químicas envolvidas na adsorção/dessorção do fosfato são o potencial redox e o pH (Alongi, 1997). De uma maneira geral o fósforo tende a ser adsorvido em ambientes aeróbicos e desorvido em ambientes anóxicos (Baumgarten *et al.*, 2001).

Nos sistemas de cultivo de peixes e crustáceos, os estudos sobre o fósforo são principalmente voltados ao tratamento de efluentes (Porello *et al.* 2003, Rishel *et al.* 2006) devido ao alto poder de eutrofização deste macroelemento, principalmente em ambientes límnicos, e a sua baixa toxicidade no meio de cultivo de tal forma que informações sobre a ciclagem deste nutriente no sistema *ZEAH* são escassas. Entretanto, apesar de sua baixa toxidez o fósforo, em altas concentrações, pode favorecer o florescimento de cianobactérias que provocam a obstrução das brânquias dos camarões e interferem no desenvolvimento do floco bacteriano prejudicando o bom desenvolvimento do cultivo. Já o nitrogênio foi objeto de estudo de diversos autores nos últimos anos, principalmente devido à toxidez da amônia e do nitrito, que são apontados como entraves para o desenvolvimento de cultivos superintensivos (Wasielesky *et al.*, 1994, Thompson *et al.*, 2002; Burford *et al.* 2003, Jackson, 2003, Avnimelech, 2007).

Mais recentemente, Ferreira (2007) observou que diferentes espécies de camarão (*Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis*) cultivadas em sistema *ZEAH* influenciam de maneira marcante a disponibilidade de nutrientes e a comunidade microbiana presente na água de cultivo. Foram encontradas diferenças nas quantidade de nutrientes e agregados nos tratamentos contendo espécies diferentes. Estas diferenças

dependem, provavelmente, da taxa de excreção e das proporções em que N e P são excretados pelos camarões após o consumo de ração. Questões como fisiologia, necessidades nutricionais e qualidade e especificidade da ração foram apontadas como fatores geradores destas diferenças.

O entendimento dos processos de ciclagem destes macronutrientes nos compartimentos do sistema *ZEAH* é de fundamental importância para fomentar ações de remoção de nutrientes, assim como para a implementação de sistemas integrados de recirculação e ao tratamento da água nos períodos de entressafra evitando o lançamento de efluentes. Entretanto, não temos conhecimento de qualquer trabalho que tenha caracterizado os diferentes compartimentos (camarão, água e partículas) e formas (particulada e dissolvida; orgânica e inorgânica) de nitrogênio e fósforo, nem realizado um balanço de massa destes nutrientes no sistema *ZEAH*.

## 1.1 Objetivos

Objetivo geral:

- Caracterizar as vias de aporte, remoção e transferência nos compartimentos (camarão, água e material particulado) de nitrogênio e fósforo, no cultivo dos camarões *L. vannamei* e *F. paulensis*, em sistema *ZEAH*.

Específicos:

- Determinar as principais formas (particulada e dissolvida; orgânica e inorgânica) e compartimentos (camarão, água e partículas) em que N e P ocorrem no sistema *ZEAH* durante o cultivo do camarão-branco *L. vannamei* e do camarão-rosa *F. paulensis*.
- Realizar um balanço de massa para nitrogênio e fósforo durante o cultivo de duas espécies de camarões *L. vannamei* e *F. paulensis*.
- Verificar quais os principais processos envolvidos na ciclagem do nitrogênio e do fósforo dentro do sistema *ZEAH*.
- Fornecer subsídios para o manejo da água no período entressafra para o reaproveitamento em ciclos posteriores.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local do experimento**

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura Prof. Marcos Alberto Marchiori (EMA), localizada na Praia do Cassino (32°12`S e 51°50` W), município do Rio Grande-RS.

### **2.2 Desenho experimental**

O experimento foi realizado com três tratamentos, com três repetições cada: 1- Tratamento controle (TC) - sem camarão, somente com adição de ração; 2- Tratamento paulensis (TP) –cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*, com flocos e adição de ração; 3- Tratamento vannamei (TV) - cultivo do camarão-branco *Litopenaeus vannamei*, com flocos e adição de ração.

As unidades experimentais foram constituídas de nove tanques (310 L de volume cada). Nas unidades foi montado um sistema de aeração constante, para ressuspensão do material particulado. O experimento foi conduzido por 42 dias sem renovação de água. A reposição da água decorrente da evaporação foi feita com água da companhia de abastecimento municipal (CORSAN), previamente desclorada. Os tanques com camarões foram estocados a uma densidade de 300 cam/ m<sup>2</sup> com peso inicial de aproximadamente 0,12 g. Os camarões juvenis de *F. paulensis* foram obtidos da larvicultura realizada na Estação Marinha de Aquicultura (EMA-FURG), enquanto os juvenis de *L. vannamei* foram obtidos a partir de náuplios adquiridos do laboratório comercial de produção de larvas e pós-larvas (Aquatec ®).

### **2.3. Preparação do meio de cultivo**

Três dias antes do povoamento foram inoculadas células da diatomácea *Thalassiosira weissflogii* na concentração de aproximadamente 3 x10<sup>4</sup> células/mL para fornecer substrato para a formação dos agregados e logo após dar-se início ao experimento fazendo a indução do floco e povoando os tanques. O processo de indução seguiu a abordagem proposta por Avnimelech (1999) na qual a adição de carboidrato é proporcional à quantidade teórica de nitrogênio excretada pelos camarões e/ou



remineralizada pelas bactérias. De acordo com este mesmo autor o fluxo de nitrogênio para o sistema pode ser considerado equivalente a 50% do total adicionado pelo arraçoamento. Desta maneira:

$$\Delta N = \Delta \text{Ração} \times \% \text{Nração} \times \% \text{Nexcretado/remineralizado} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

$\Delta N$  = Quantidade de nitrogênio amoniacal (em massa) no tanque

$\Delta \text{Ração}$  = Quantidade de ração ofertada

$\% \text{Nração}$  = Porcentagem de nitrogênio na ração

$\% \text{Nexcretado/remineralizado}$  = Porcentagem do nitrogênio proveniente da ração que não é assimilado pelos camarões.

Após o cálculo da quantidade de nitrogênio proveniente da excreção/remineralização calcula-se a quantidade de carboidrato a ser adicionada no sistema pela equação:

$$\Delta \text{Carboidrato} = \Delta N / (\%C \times E / C:N_{\text{mic}}) \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

- $\%C$  = porcentagem de carbono no carboidrato
- $E$  = eficiência bacteriana em transformar carbono em biomassa
- $C:N_{\text{mic}}$  = razão carbono:nitrogênio na célula bacteriana.

No presente estudo foi utilizado o melaço de cana como fonte de carbono e foram assumidos os seguintes valores para os parametros acima:  $\%C = 50$ ;  $E = 0,4$  (Gaudy & Gaudy, 1980);  $C:N_{\text{mic}} = 4$  (Gaudy & Gaudy, 1980).

Durante os 4 primeiros dias foi adicionado farelo de trigo a uma taxa de 10% do total de melaço de cana para servir de substrato para a fixação de bactérias. Após este período foi efetuada uma pausa na adição de carbono até um posterior aumento na concentração de nitrogênio amoniacal atingir  $40 \mu\text{M}$  e só então se prosseguiu com a fertilização com melaço de cana, como descrito nos parágrafos acima. Sempre que a concentração de nitrogênio amoniacal ultrapassou  $40 \mu\text{M}$  eram adicionados uma quantidade extra de melaço de cana seguindo a equação 2. O valor de  $40 \mu\text{M}$  foi adotado pois encontra-se abaixo do nível de segurança para o cultivo das espécies *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa, 1999) e *F. paulensis* (Wasielesky, 2000) mantendo o cultivo em condições favoráveis para o crescimento dos camarões.

## **2.4. Alimentação das Pós-larvas**

Os camarões foram alimentados com ração Poty Mar © contendo 38% de proteína bruta a uma taxa de 10% da biomassa ao dia, dividida em dois intervalos (09:00 e 17:00hs), no TC foi adicionada uma quantidade equivalente à média aritmética dos tratamentos TP e TV.

## **2.5. Amostragem**

A salinidade (refratômetro de mão AO-Scientific Instruments Warnner – Lambert, precisão  $\pm 1$ , escala de 1 a 100), temperatura (termômetro de mercúrio, precisão  $\pm 1$  °C) e o pH (pHmetro Handylab 2 BNC marca SCHOTT, precisão  $\pm 0,1$  ) foram medidos *in situ* diariamente. A concentração de oxigênio dissolvido foi mensurada *in situ* pelo oxymetro HandyLab OXI/SET marca Schott, precisão  $\pm 0,01$ .

As amostras de água para determinação das frações de nitrogênio e fósforo inorgânico dissolvido (NID e PID), nitrogênio e fósforo orgânico dissolvido (NOD e POD), nitrogênio e fósforo orgânico particulado (NOP e POP) e material particulado em suspensão (MPS) foram coletadas a cada 72 horas, acondicionadas em frascos de polietileno (500 mL), resfriadas e encaminhadas para análise no Laboratório de Ecologia de Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos – FURG.

O material biológico foi coletado a cada 3 dias para quantificar (número e volume) dos microorganismos (bactérias) presentes no meio de cultivo e determinar a biomassa fitoplanctônica. Este material foi fixado com formalina 4% e posteriormente analisado no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos – FURG.

## **2.6. Medidas de Nutrientes e Material Particulado em Suspensão (MPS)**

As amostras para a determinação do MPS serão filtradas em filtros GF 52C (Schleicher & Schuell) imediatamente após a chegada no laboratório e os filtros armazenados a -20 °C até posterior determinação pelo método gravimétrico descrito em Strickland & Parsons (1972), sendo o filtrado utilizado para análise de nitrito, nitrato (Strickland & Parsons, 1972), nitrogênio amoniacal (UNESCO, 1983) e PID (ortofosfato) pelo método colorimétrico (Strickland & Parsons, 1972) e o material retido no filtro

utilizado para análise de nitrogênio e fósforo particulado (NP e PP) (Carmouze, 1994, Valderrama, 1994).

Para a determinação de nitrogênio e fósforo total (NT e PT), foram utilizadas alíquotas de 50mL e analisadas pelo método de digestão com persulfato de potássio (Valderrama, 1994), seguidas por leitura colorimétrica sob a forma de nitrato ou fosfato como descrito em Strickland & Parsons (1972). As frações de NOD e POD serão obtidas pelas equações:

$$\text{NOD} = \text{NT} - \text{NID} - \text{NP}$$

$$\text{POD} = \text{PT} - \text{PID} - \text{FP}$$

## 2.7. Análises Biológicas

Para determinação da abundância de bactérias, cianobactérias e flagelados, sub-amostras de 0,3 mL foram filtradas em filtros de membrana de policarbonato (Nucleopore 0,2µm de poro e 2,5nm de diâmetro), previamente escurecidos com Irgalan Black. Os microorganismos foram corados com DNA intercalating dye 4,6 diamino-2 phenylindole (DAPI), na concentração de 15µg/mL (adaptado de Porter & Feig, 1980) e posteriormente fotografados, utilizando-se do microscópio de epifluorescência Zeiss Axioplan, equipado com um conjunto de filtros de luz 487703 (BP365/11; FT 395; LP 397) com magnificação de 1000x acoplado a uma câmera de vídeo CCD Watec (sensibilidade luminosa 0,0003 lux). O software ImageCaputre © foi utilizado para captura das imagens. Para a contagem e determinação de biovolume e biomassa bacteriana utilizou-se o software UTHSCSA ImageTools disponível em <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>).

Para contagem dos protozoários (flagelados e ciliados), 0,1 a 1mL da amostra foi colocada na câmara de sedimentação por aproximadamente 2h para posterior contagem, utilizando microscópio invertido (Zeiss Axiovert).

A concentração de clorofila *a* foi medida a partir de uma amostra de 50mL de água concentrada em filtro de fibra de vidro Whatman GF/F. Os filtros foram colocados em frascos com 10 mL de acetona 90% v/v e deixados a -18°C por 24h, para extração da clorofila-*a*. A concentração do pigmento foi determinada por fluorímetro (Turner TD700) de acordo com a metodologia descrita em Welschmeyer (1994).

## 2.8. Determinação de nitrogênio e fósforo nos microorganismos

O conteúdo de nitrogênio e fósforo contido nas bactérias e protozoários foi determinado pela equação:  $N_b = B \times (F_n \text{ ou } F_p) \times BV_{\text{médio}}$  onde B = abundância média das bactérias;  $F_n$  ou  $F_p$  = conteúdo médio de nitrogênio ou fósforo normalizado para células de  $1 \mu\text{m}^{-3}$  e  $BV_{\text{médio}}$  o volume médio das bactérias, sendo o resultado expresso em  $\text{pgN}$  e  $\text{pgP}$ . O conteúdo de nitrogênio é calculado considerando-se um valor de  $F_n$  de  $19,67 \text{ pg N m}^{-3}$  (Vrede *et al*, 2002) e de fósforo calculado utilizando-se a constante  $F_p$  ( $6,74 \text{ pg N m}^{-3}$ ) (Vrede *et al*, 2002).

A quantidade de nitrogênio e fósforo nas microalgas foi determinada de maneira indireta, pela relação carbono/clorofila (50:1) (Proença, 1990). Obtida a quantidade de carbono utiliza-se a razão de Redfield (106C:16N:1P – Redfield *et al*. 1967) para obter-se o resultado em termos de nitrogênio e fósforo.

## 2.9. Balanço de massa

O balanço de massa foi determinado pela diferença entre o aporte e a saída de material no sistema. Seguindo o princípio da conservação de massa, toda a matéria que entra em um sistema deve sair ou então ser aí acumulada. No presente estudo a ração e o melaço de cana, foram os únicos aportes e a desnitrificação e volatilização da amônia gasosa as únicas saídas de N do sistema, enquanto que o P deve apresentar um acúmulo constante, uma vez que não há produção de efluentes. Outras possíveis fontes de N e P, como a água de reposição e o melaço de cana foram considerados desprezíveis, baseados em análises prévias e não entraram nos cálculos do balanço de massa.

O balanço de massa foi realizado para determinar a capacidade de retenção do nitrogênio e do fósforo nos compartimentos (1,2,3) do sistema ZEAH (Figura 1) de acordo com as equações:

- $N_{\text{ração}} = N_{\text{camarão}} + \text{NID} + \text{NP} + (\text{volatilização e desnitrificação}) - N_{\text{inicial}}$
- $P_{\text{ração}} = P_{\text{camarão}} + \text{PID} + \text{PP} - P_{\text{inicial}}$

Onde: N ou  $P_{\text{camarão}}$  é a quantidade do respectivo nutriente no camarão, NID ou PID é a quantidade do nutriente dissolvido na água, NP ou PP se refere à quantidade de nitrogênio ou fósforo na forma particulada somada a quantidade de N e P presente no biofilme aderido a parede dos tanques. A quantidade de N e P presente no biofilme foi calculada

com base nos dados obtidos no trabalho de Ballester *et. al* (2006) (Clorofila-a no biofilme: 6,2  $\mu\text{g Cl-a} / \text{cm}^2$ ) assumindo 2.808  $\text{cm}^2$  de área colonizada por biofilme por unidade experimental. O N ou P inicial se refere à quantidade inicial do nutriente medida no dia 0.

A quantidade de nitrogênio que sairá do sistema por volatilização da amônia gasosa e desnitrificação foi calculada pela diferença entre o input total de nitrogênio e a quantidade armazenada no sistema.

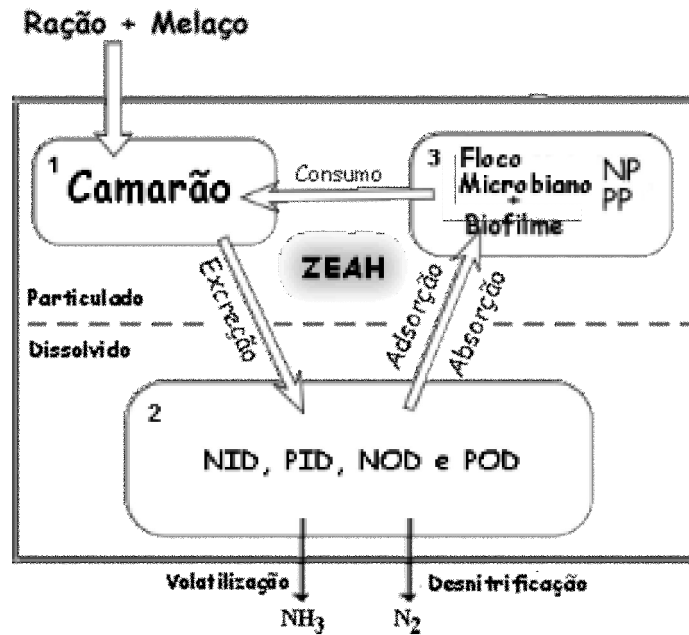


Figura 1 Modelo conceitual do balanço de massa englobando os 3 compartimentos estudados. Compartimento 1: corresponde a quantidade de N e P retida na biomassa dos camarões. Compartimento 2: Corresponde aos nutrientes orgânicos e inorgânicos dissolvidos na água do cultivo. Compartimento 3. Corresponde ao N e P particulados somados à quantidade de N e P no biofilme.

As quantidades de nitrogênio e fósforo nos camarões, na ração, no melaço de cana e no farelo de trigo foram determinadas por análise de composição proximal realizada conforme descrito em AOAC (Cunniff, 1998), pelo laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Pelotas (RS). O conteúdo de nitrogênio e/ou fósforo do floco microbiano foi determinado pela quantidade de nitrogênio e fósforo particulado (NP, PP).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Quantidades de nitrogênio e fósforo na ração e nos camarões

A quantidade de nitrogênio e fósforo nos camarões e na ração foi determinada por análise proximal e, no caso da porcentagem de fósforo na ração, por oxidação com persulfato. As porcentagens de N e P encontradas na ração foram de  $6,09 \pm 0,45\%$  e  $0,8 \pm 0,01\%$ , respectivamente ( $n = 3$ ). Nos camarões da espécie *L. vannamei* e *F. paulensis*, os teores foram de  $2,14 \pm 0,11 \%$  e  $1,85 \pm 0,17\%$  para nitrogênio, e  $0,23 \pm 0,018\%$  e  $0,18 \pm 0,008\%$  para fósforo, respectivamente ( $n = 3$ ). A porcentagem de N no melaço foi de  $0,8 \pm 0,02\%$ .

### 3.2 Índices zootécnicos

Os camarões apresentaram diferença significativa no peso médio (teste-t, p-valor < 0,05) a partir do décimo oitavo dia de experimento, com o TV apresentando os maiores valores (Figura 2, A). O camarão *Litopenaeus vannamei* apresentou peso médio final de 2,2g, i.e, 3,7 vezes superior aos camarões do TP (peso final de 0,55g). A quantidade de ração adicionada por dia nos 3 tratamentos do experimento pode ser observado no gráfico B da figura 2, o montante de ração adicionado até o final do experimento foi 190,4 g no TV, 96,4 g no TP e 130g de ração no tratamento controle.

A diferença entre o peso inicial e final, a conversão alimentar aparente, a taxa de crescimento específico e a taxa de sobrevivência para as duas espécies de camarão estão apresentadas na tabela 1.

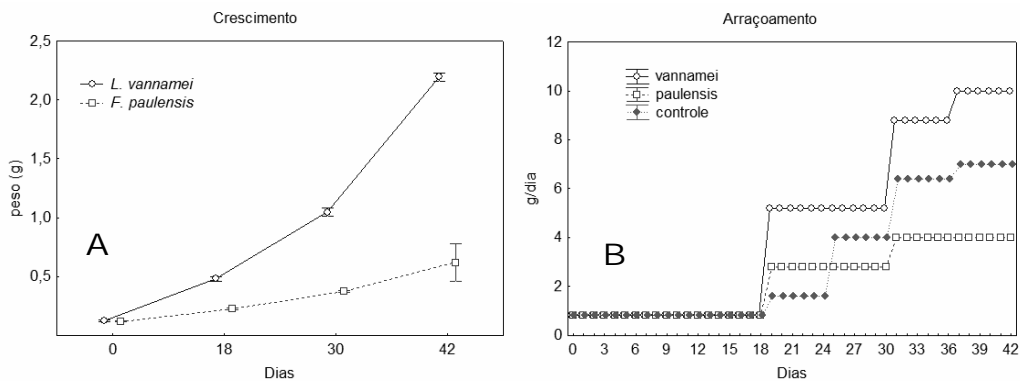


Figura 2. (A) Gráfico do crescimento dos camarões *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis* ao longo do período experimental. (B) Variação temporal na quantidade de ração adicionada nos tanques experimentais. As barras verticais representam o desvio padrão.

Tabela 1 Dados de peso inicial, peso final, sobrevivência (%), conversão alimentar aparente -CAA ( $\pm$  desvio padrão) e taxa de crescimento específico – TCE. Letras diferentes indicam diferença significativa (teste-t, p-valor < 0,05).

Esp./parâmetro	Peso inicial(g)	Peso	CAA	TCE	Sobrevivência
----------------	-----------------	------	-----	-----	---------------

		Final (g)		(%/dia)	(%)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	0,121± 0,033 <sup>a</sup>	2,2± 0,55 <sup>b</sup>	0,87 ±0,07 <sup>b</sup>	6,9	91 ± 5,5 <sup>a</sup>
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	0,127 ± 0,042 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,63± 0,59 <sup>a</sup>	3,7	95,7 ± 5,4 <sup>a</sup>

### 3.3 Fatores Abióticos

#### 3.3.1 pH

Os maiores valores de pH ocorreram no início do experimento no tratamento ração com valor médio (entre manhã e tarde) máximo de 8,9 no dia 0 do tratamento controle. Os valores de pH entre manhã e tarde foram significativamente diferentes (teste t,  $p < 0,0001$ ) com valores médios de 8,3 para manhã e 8,7 para tarde até o décimo segundo dia.

Verificou-se uma tendência de diminuição nos valores de pH com o decorrer do experimento chegando a atingir valores mínimos de 7,7 no TV ao final do experimento no período da manhã. A falta de registros a partir do dia 21 é consequência de um defeito no pHmetro utilizado neste estudo (figura 3).

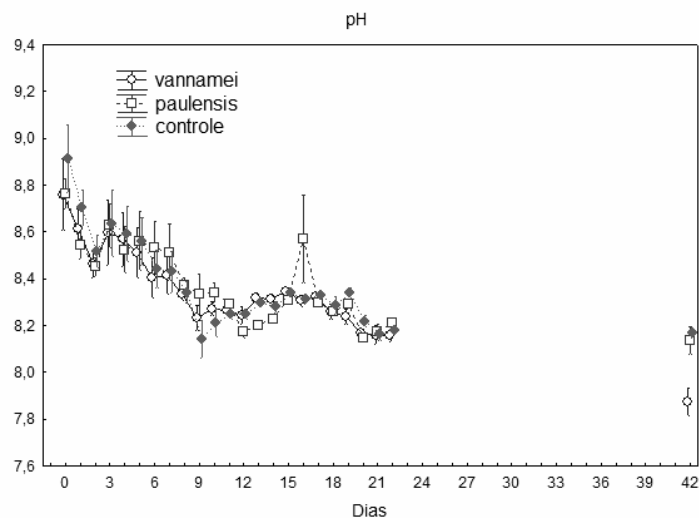


Figura 3. Variação temporal nos valores médios de pH nos tratamentos estudados (média entre os períodos da manhã e tarde). As barras verticais representam o desvio padrão.

#### 3.2.3 Temperatura da água

A temperatura média da água durante o experimento foi de 27°C com valor máximo de 31 °C no início do experimento durante o período da tarde e valor mínimo de 18 °C no vigésimo oitavo dia durante a manhã.

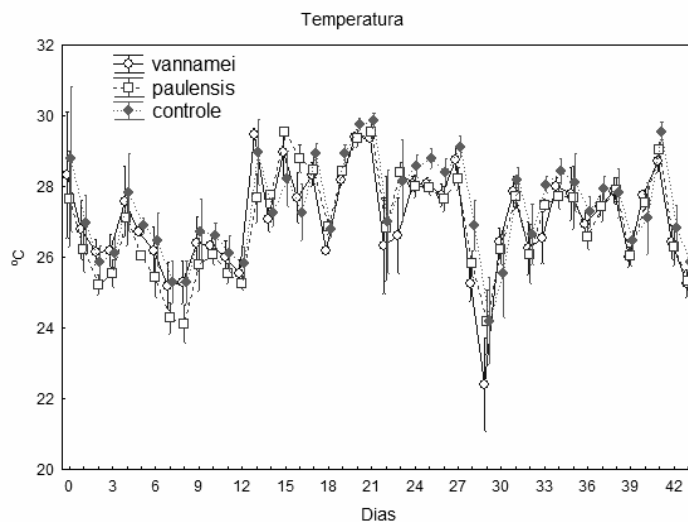


Figura 4. Variação temporal nas médias diárias (manhã e tarde) dos valores de temperatura nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.3.4 Salinidade

Como o experimento foi conduzido sem renovação de água os valores de salinidade mantiveram-se constantes ao longo do experimento com salinidades médias de  $30,8 \pm 2$ , variando minimamente em função da evaporação e reposição da água de cultivo. A água para reposição era mantida em um tanque de reposição com aeração constante e volume conhecido. Estima-se que foram repostos aproximadamente 66 litros de água por unidade experimental (33% do volume total) ao longo de todo o experimento.

### 3.3.5 Oxigênio Dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido se manteve entre 5,2 mg/L e 8,6 mg/L com valor médio de 6,8 mg/L. De maneira geral, as unidades experimentais se mantiveram bem oxigenadas com pequenas variações em decorrência de mudanças na temperatura.



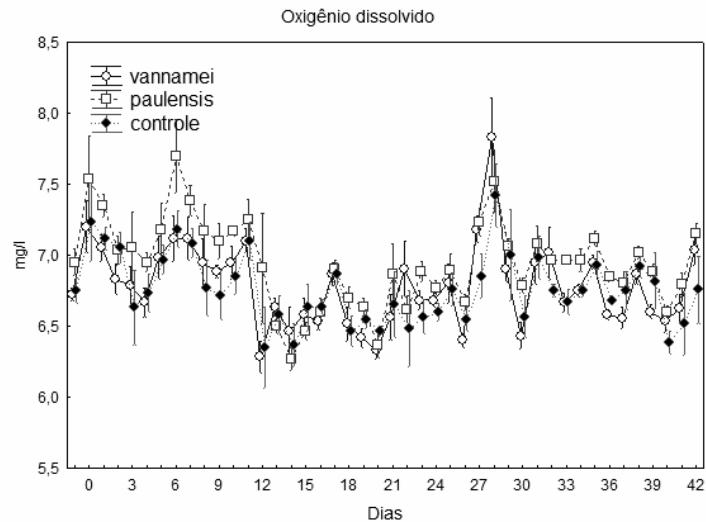


Figura 5. Variação temporal nos valores das concentrações médias de oxigênio dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.3 Material particulado em suspensão

O menor valor de material particulado em suspensão foi encontrado no dia 27 do tratamento controle (131 mg/l) já os maiores valores foram encontrados no TV no dia 42 (624 mg/l). Após o dia 27 nota-se uma diferenciação entre os tratamentos com as maiores concentrações encontradas no TV seguido pelos tratamentos TV e TC, especialmente ao final do experimento.

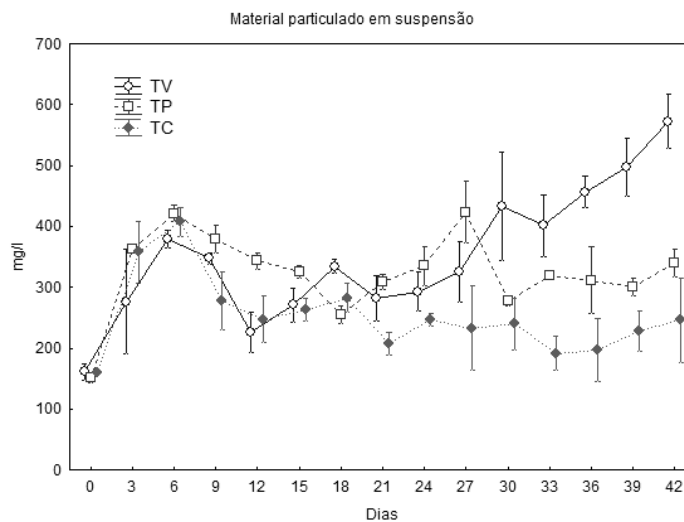


Figura 6. Variação temporal nos valores das concentrações médias de material particulado em suspensão nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4 Nutrientes

#### 3.4.1 Nitrogênio amoniacal

A concentração de nitrogênio amoniacal manteve-se abaixo de 3  $\mu\text{M}$  durante os 9 primeiros dias de experimento. Após este período a concentração aumentou até o dia 18, chegando a um valor médio máximo de 53,54  $\mu\text{M}$  no TC.

Com o intuito de diminuir a concentração de nitrogênio amoniacal, no dia 19 foram adicionados 20g de melação de cana a mais do que a fertilização descrita no material e métodos, em cada unidade experimental, o que resultou em uma diminuição pronunciada na concentração de amônia registrada no dia 21 (ver seta, figura 7), após este dia manteve-se a adição de melação usual.

Nota-se que a partir do dia 24 houve um decréscimo na concentração deste nutriente no TP, tendo o mesmo ocorrido nos tratamentos TV e TC, mas somente após o dia 27. Após a retomada na adição de melação no dia 15, o TP foi o que apresentou uma diminuição mais rápida nas concentrações do nutriente, seguido dos tratamentos TV e TC, respectivamente.

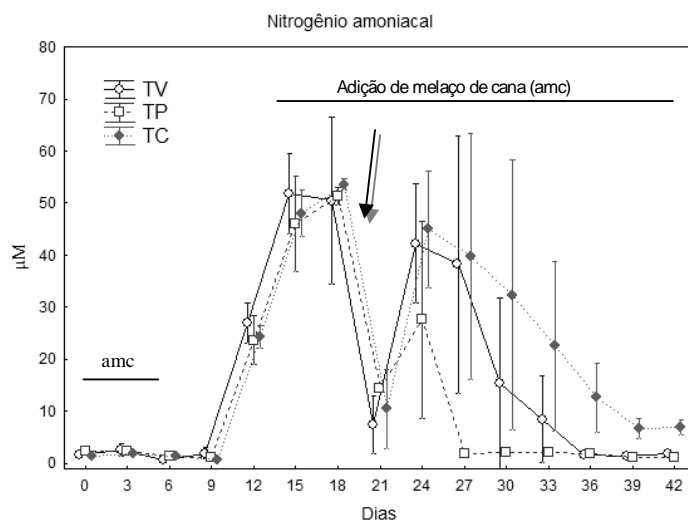


Figura 7. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio amoniacal nos tratamentos estudados. A linha perpendicular ao eixo y representa o período no qual o melação de cana foi adicionado, a seta indica o momento em que foi adicionado 20g de melação de cana a mais do que a fertilização usual. As barras verticais representam o desvio padrão.

#### 3.4.2 Nitrito

A concentração de nitrito manteve-se abaixo de  $1\mu\text{M}$  até o décimo oitavo dia de experimento. Após este período houve um aumento na concentração, chegando a  $72,1\mu\text{M}$  no dia 30 no TP. O aumento na concentração de nitrito coincide com a diminuição na concentração de nitrogênio amoniacal (figura 8), acontecendo 9 dias após o primeiro pico na concentração deste nutriente.

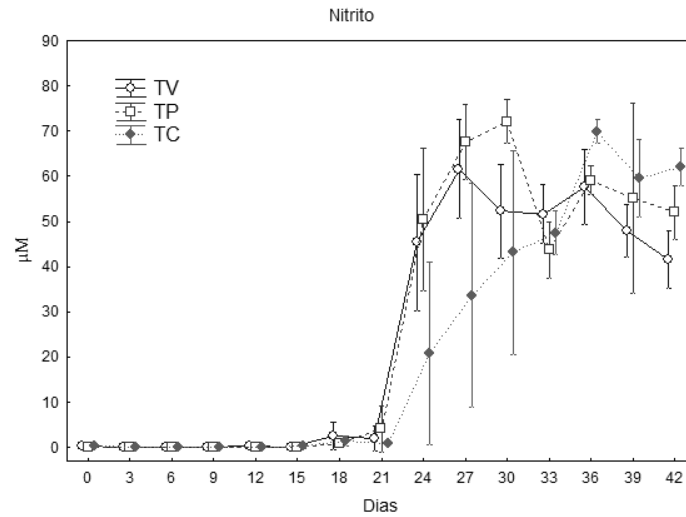


Figura 8. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrito nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.3 Nitrato

O primeiro aumento na concentração de nitrato aconteceu após o dia 21 seguindo o aumento observado no nitrito. Até o dia 21 a maior concentração foi observada no TC ( $15,1\mu\text{M}$  no dia 15). Após este dia os valores aumentam significativamente, chegando a  $325,2\mu\text{M}$  no TV dia 39.

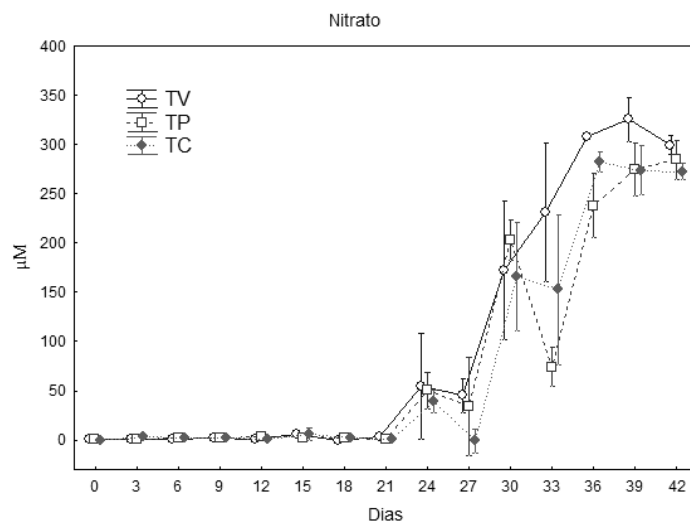


Figura 9. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrato nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.4 Nitrogênio orgânico dissolvido

A partir do dia 27 começou a ocorrer uma diferenciação entre tratamentos com os maiores valores encontrados no TV, seguido pelo tratamenmto paulsensis e controle. A menor concentração foi encontrada no TC dia 12 (27 µM), enquanto que a maior foi encontrada no dia 39 do TV (1262 µM).

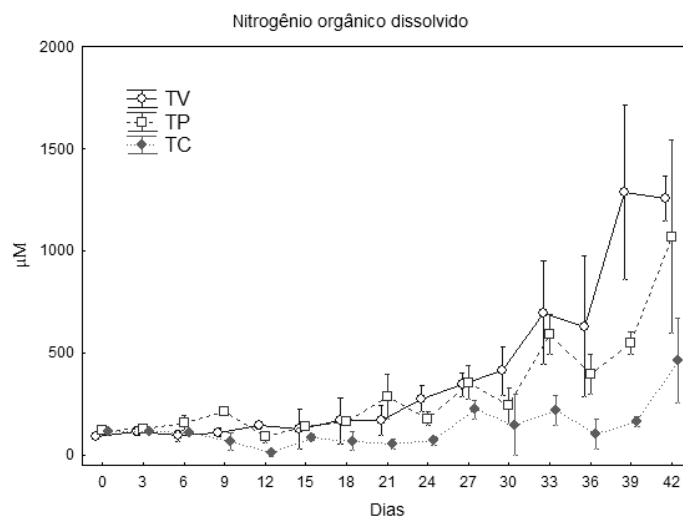


Figura 10. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio orgânico dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.5 Nitrogênio particulado

A menor concentração de nitrogênio particulado foi encontrada no dia 0 do TC (1,13 $\mu$ M). O TV apresentou concentrações superiores aos demais tratamentos nos 9 primeiros dias de experimento, após este período a concentração oscilou entre 58 e 90  $\mu$ M até o trigésimo dia, quando se observa uma queda na concentração, chegando a 6,8  $\mu$ M no dia 42.

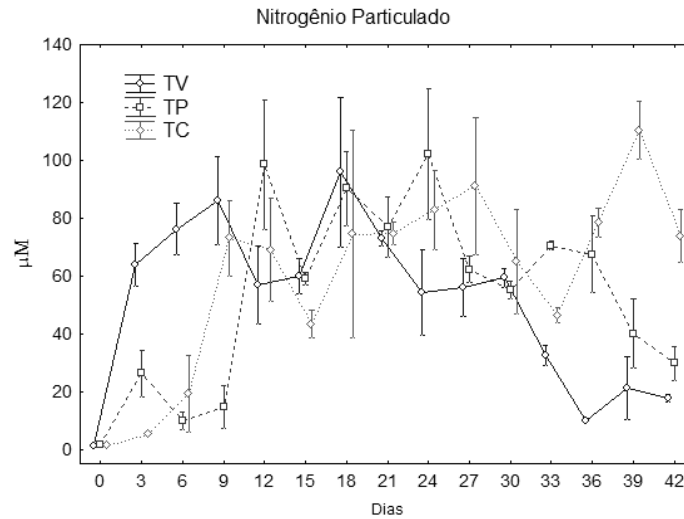


Figura 11. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio particulado nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.6 Nitrogênio total

A concentração de nitrogênio total aumentou continuamente durante o experimento. Nota-se uma tendência de diferenciação entre os tratamentos após o dia 24, com um aumento mais acentuado nas concentrações de nitrogênio total no TV, sendo seguido pelos tratamentos paulensis e controle. O menor valor foi encontrado no décimo segundo dia no TC (75,9  $\mu$ M) e o maior no dia quarenta e dois no TV (1566,8  $\mu$ M).

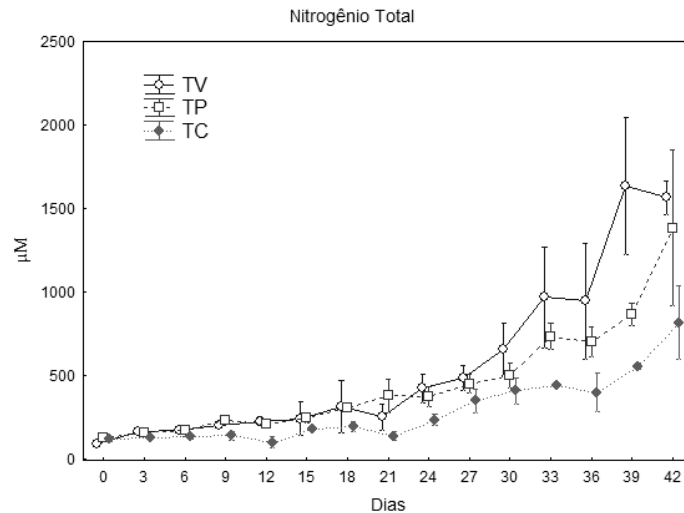


Figura 12. Variação temporal nos valores das concentrações médias de nitrogênio total nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.7 Ortofosfato

A concentração de ortofosfato segue uma tendência de aumento, especialmente a partir do dia 21. Os menores valores foram encontrados no início do experimento (não detectável, dia 0 no tratamento ração) e os maiores valores nos últimos períodos do experimento (maior valor: 45,11 µM dia 42 no TC).

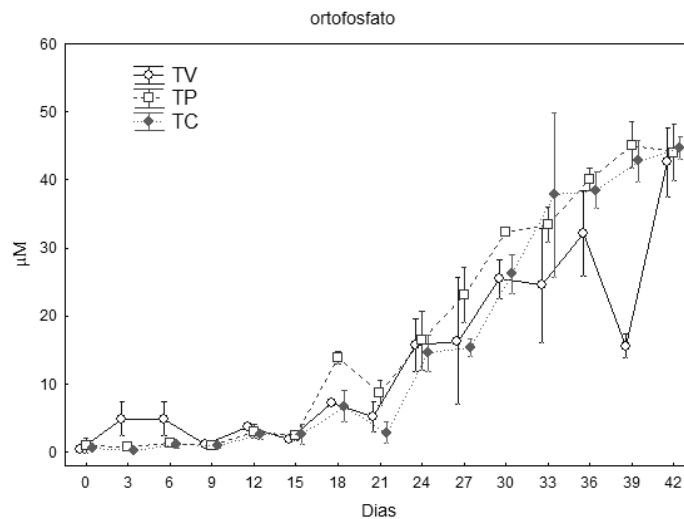


Figura 13. Variação temporal nos valores das concentrações médias de ortofosfato nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.8 Fósforo orgânico dissolvido

A concentração de fósforo orgânico dissolvido se manteve abaixo de 10  $\mu\text{M}$  até o dia 24 em todos os tratamentos. Após este período ocorreu um aumento pronunciado nas concentrações do TV (de 5 para 35  $\mu\text{M}$ ), neste mesmo tratamento foi registrado a maior concentração no dia 39 (67  $\mu\text{M}$ ).

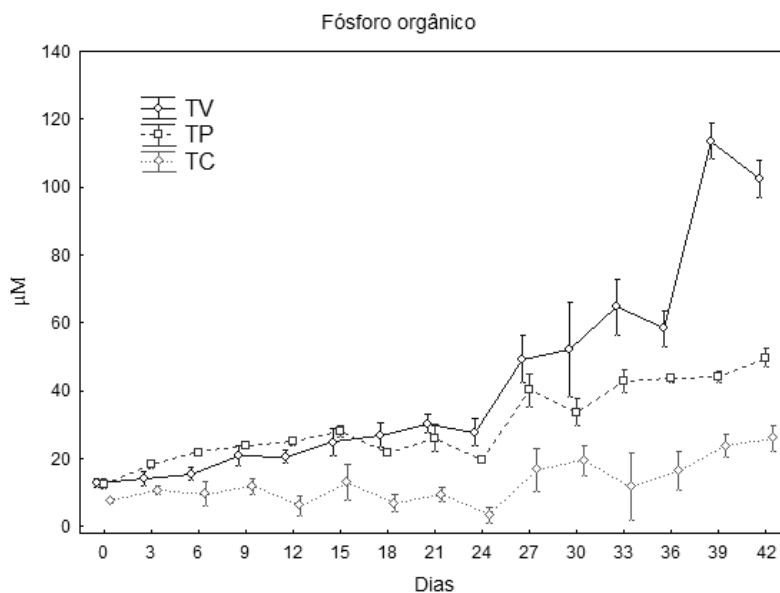


Figura 14. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo orgânico dissolvido nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.9 Fósforo particulado

A concentração de fósforo particulado oscilou entre 10 e 30  $\mu\text{M}$  até o 36º dia de experimento quando ocorreu o aumento da concentração nos tratamentos vannamei e paulensis. A maior concentração foi observada no dia 42 do tratamento vanammei (61,2  $\mu\text{M}$ ). Os valores médios encontrados para os tratamentos vannamei, paulensis e controle foram de 25, 21,2 e 10,53  $\mu\text{M}$ , respectivamente.

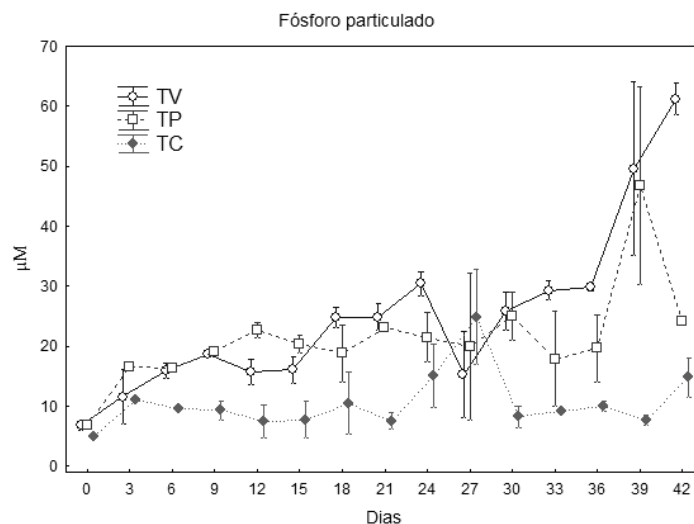


Figura 15. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo particulado nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.10 Fósforo total

A exemplo do ortofosfato, a concentração de fósforo total também aumentou ao longo do experimento, com os maiores valores encontrados nos tratamentos vannamei, paulensis e controle, respectivamente. Nota-se um aumento mais acentuado, para todos os tratamentos, após o dia 24. Nos dias 39 e 42 ocorre um pico na concentração no TV com valores chegando a 147 µM.

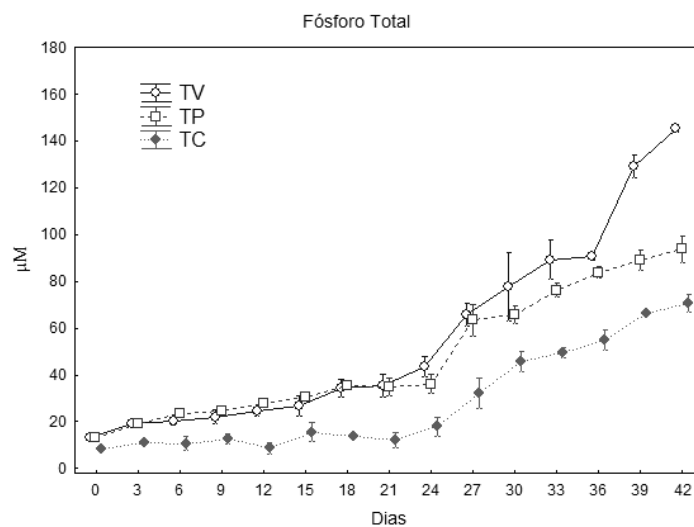


Figura 16. Variação temporal nos valores das concentrações médias de fósforo total nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.



### 3.4.11 Razão nitrogênio:fósforo (atômica)

Para o cálculo da razão N:P foram utilizados o somatório das frações inorgânicas de nitrogênio e fósforo (NID e PID) analisados neste estudo. Para o nitrogênio foi considerado o nitrogênio amoniacal, o nitrito e o nitrato e para o fósforo o ortofosfato.

A razão N:P média durante o experimento foi de 13,5, 9,8 e 10,2 para os tratamentos vannamei, paulensis e controle, respectivamente. O maior valor foi encontrado no TV no dia 15 (30,8) e o menor valor foi registrado no dia 6 neste mesmo tratamento. A partir do 15º dia a razão N:P se mantém entre 5 e 10 nos tratamentos TP e TC e acima de 9 no TV.

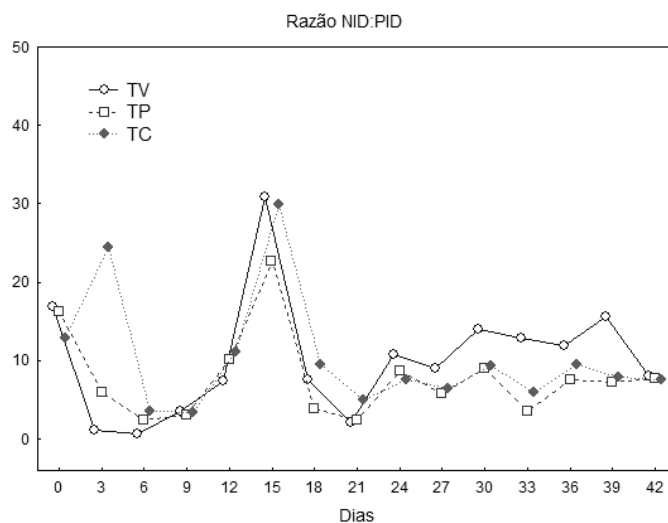


Figura 17. Variação temporal na razão N:P média nos tratamentos estudados.

### 3.4.12 Razão nitrogênio particulado: material particulado em suspensão (em peso)

A razão entre a quantidade de nitrogênio particulado e material particulado em suspensão se comportou de maneira semelhante entre os tratamentos vannamei e paulensis até o 24º dia, com valores aumentando no início do experimento e diminuindo após o 21º. Os maiores valores encontrados nestes tratamentos aconteceram entre os dias 12 e 24, período no qual as concentrações de material particulado em suspensão e nitrogênio particulado eram semelhantes (ver figura do MPS e NP). Após o 24º dia nota-se uma diferenciação entre os tratamentos com os maiores valores encontrados no TC, seguido pelos tratamentos paulensis e vannamei. No TC, os valores seguem uma tendência de aumento constante chegando a aproximadamente 0,007 dia 39.

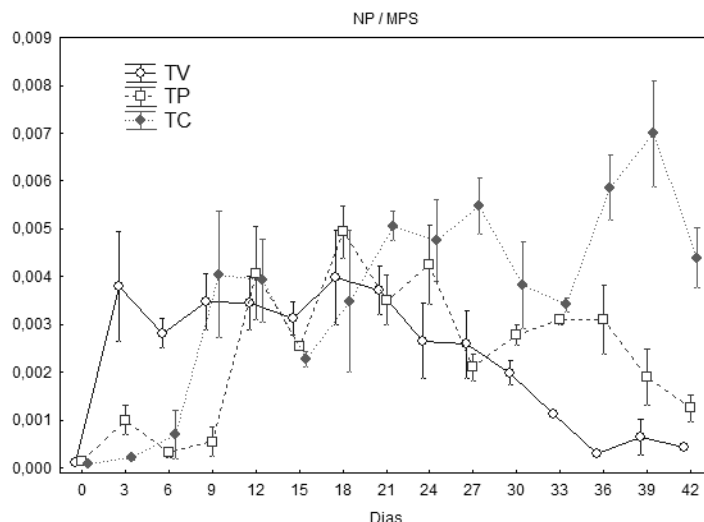


Figura 18. Razão entre nitrogênio particulado e material particulado em suspensão ao longo do período experimental. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.4.13 Razão fósforo particulado: material particulado em suspensão (em peso)

A razão entre a quantidade de fósforo particulado e material particulado em suspensão aumentou gradativamente ao longo do período estudado. A maior razão encontrada foi 0,005 no dia 39 do TP e a menor foi de 0,0007 no dia 6 do TC. Os valores médios encontrados foram de 0,002, 0,002 e 0,0014 para os tratamentos TV, TP e TC, respectivamente.

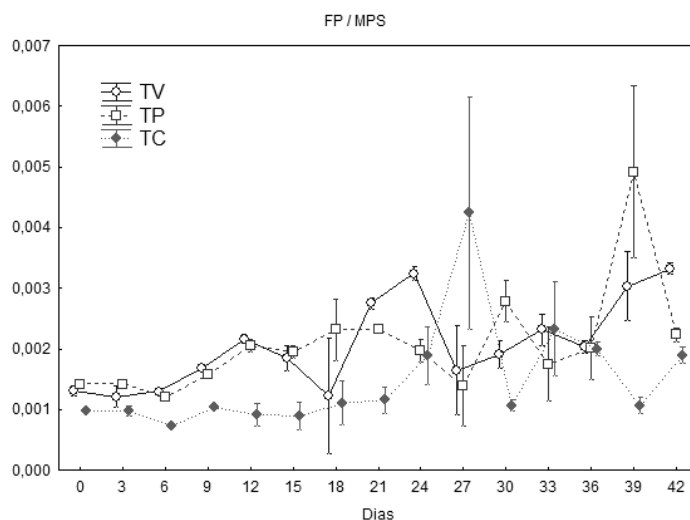


Figura 19. Razão entre fósforo particulado e material particulado em suspensão ao longo do período experimental.. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.5 Variáveis biológicas

#### 3.5.1 Clorofila-a

A concentração de clorofila-a diminuiu significativamente nos primeiros 15 dias de experimento, em função da morte da diatomácea *Thalassiosira weissflogii* que foram inoculadas no começo do experimento, saindo de valores superiores a 1000 µg/l (maior concentração de clorofila-a foi mensurada no início do experimento no TV - 1031 µg/l) chegando a 17 µg/l no dia 12 no TC. Entretanto, após o décimo oitavo dia nota-se um aumento da concentração deste pigmento nos tratamentos paulensis e vannamei chegando a valores médios de 338 µg/l e 547 µg/l no final do experimento devido, principalmente, ao crescimento de cianobactérias nestes tanques.

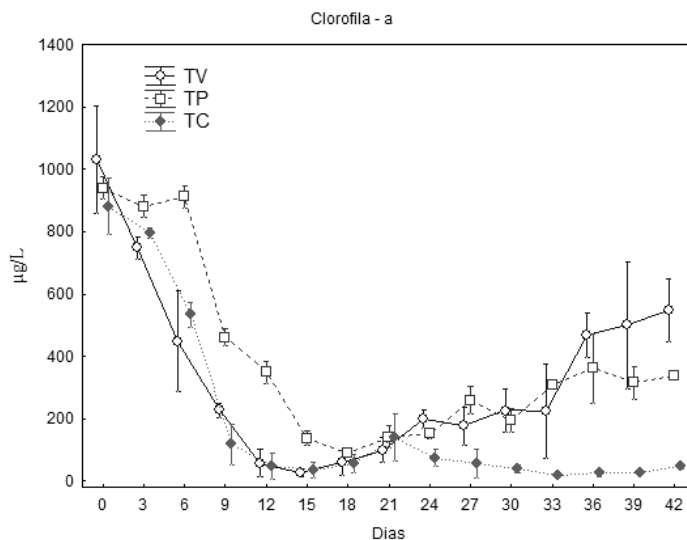


Figura 20. Variação temporal nos valores das concentrações médias de clorofila-a nos tratamentos estudados. As barras verticais representam o desvio padrão.

#### 3.5.2 Bactérias livres

A abundância total de bactérias livres oscilou entre  $4,56 \times 10^6$  bact./mL (bactérias por mililitro) no TC dia 18 e  $1,95 \times 10^7$  bact./mL no TP dia 24. Ao final do experimento o TV apresentou a maior abundância de bactérias, seguido pelo TC e paulensis (figura 21).

As bactérias cocóides foram o morfotipo predominante nos 3 tratamentos estudados com abundância média de  $5,56 \times 10^6$  bact./mL. Ocorreu um aumento pronunciado na abundância deste morfotipo no dia 24, principalmente no TP ( $1,57 \times 10^7$  bact./mL), com posterior queda e estabilização entre  $4$  e  $8 \times 10^6$  bact./mL. A média encontrada foi de 5,26,

6,29 e  $5,09 \times 10^6$  bact./mL para os tratamentos vannamei, paulensis e controle, respectivamente (figura 22. ).

As bactérias do morfotipo bastonete (figura 23) foram mais abundantes no TC (média de  $2,94 \times 10^6$  bact./mL), seguido pelos tratamentos vannamei (média de  $2,14 \times 10^6$  bact./mL) e paulensis ( $1,2 \times 10^6$  bact./mL). No TV ocorreu um aumento no dia 27 com subsequente diminuição na abundância chegando a  $6,24 \times 10^5$  bact./mL no dia 42. Nota-se um aumento constante na concentração de bastonetes no TC após o dia 27 e queda nos demais tratamentos, sendo que ao final do experimento a concentração média era de  $4,46 \times 10^6$  bact./mL no TC,  $4,4 \times 10^6$  bact./mL no TP e  $6,24 \times 10^6$  bact./mL no TV.

A abundância de vibrios (figura 24) foi maior no TC com valor médio de  $2,32 \times 10^5$  bact./mL. O maior valor foi encontrado neste tratamento no dia 21 ( $6,59 \times 10^5$  bact./mL). A abundância média de vibrios nos tratamentos vannamei paulensis foi de  $8,36$  e  $4,8 \times 10^4$  bact./mL. Em alguns dias não foram encontrados vibrios nas contagens (ex. dia 21 dos tratamentos vannamei e paulensis).

A abundância média de bactérias filamentosas foi de  $1,24 \times 10^6$  bact./mL. A maior abundância foi encontrada no TV ao final do experimento ( $3,74 \times 10^6$  bact./mL) e menor no dia 0 do TC ( $1,74 \times 10^5$  bact./mL). Até o trigésimo terceiro dia a abundância de bactérias filamentosas era bastante semelhante nos 3 tratamentos após este período nota-se um aumento dos valores no TV (figura 25).

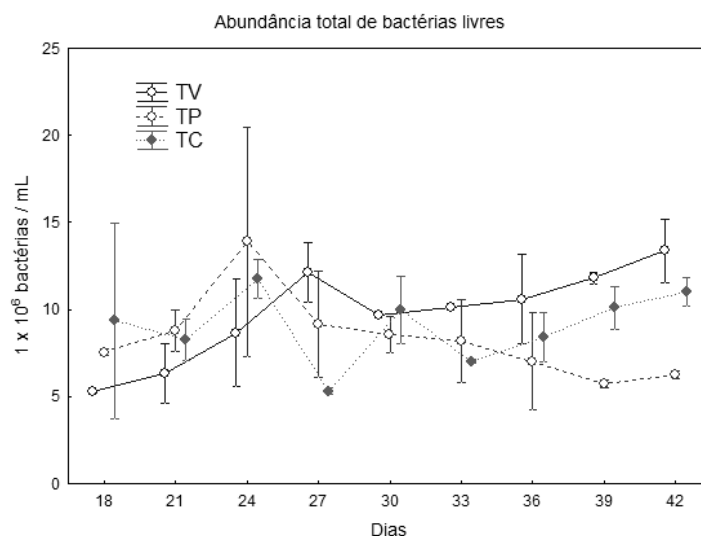


Figura 21. Variação temporal na abundância total de bactérias livres nos tratamentos estudados. Resultado expresso em  $1 \times 10^6$  bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

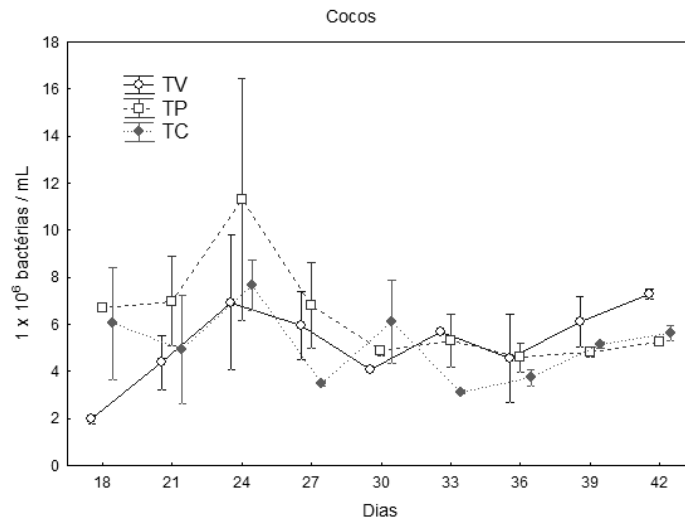


Figura 22. Variação temporal na abundância de bactérias do morfotipo cocóide nos tratamentos estudados. Resultado expresso  $1 \times 10^6$  em bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

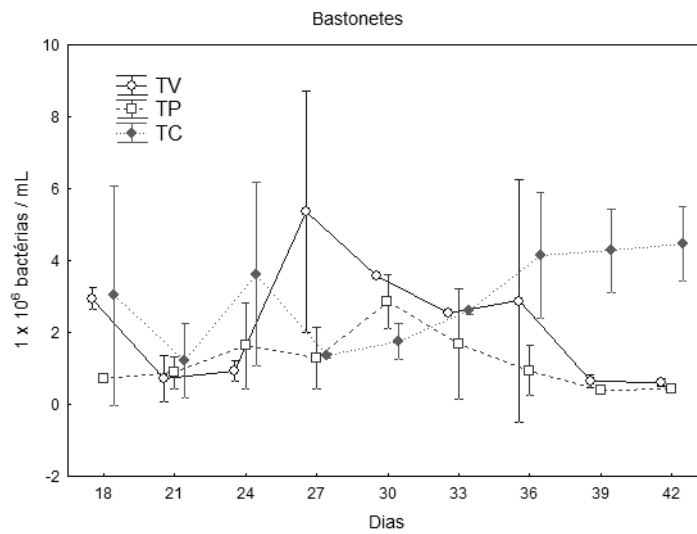


Figura 23. Variação temporal na abundância total de bactérias do morfotipo bastonete nos tratamentos estudados. Resultado expresso em  $1 \times 10^6$  bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

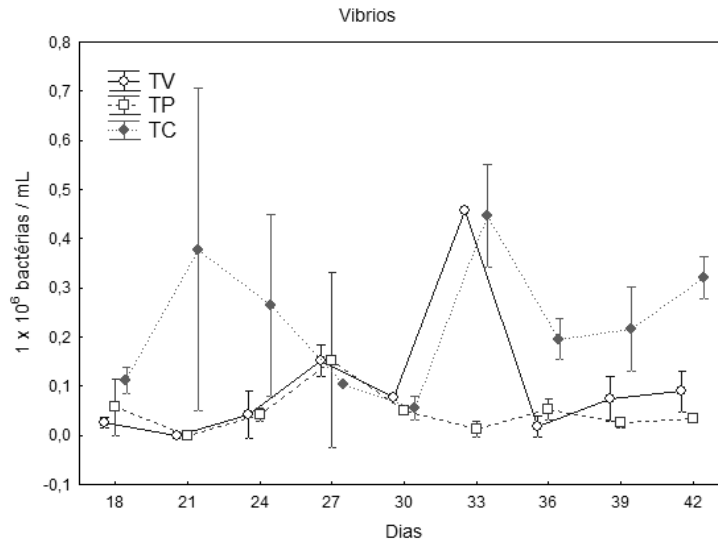


Figura 24. Variação temporal na abundância total de bactérias do morfotipo víbrio nos tratamentos estudados. Resultado expresso em  $1 \times 10^6$  bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

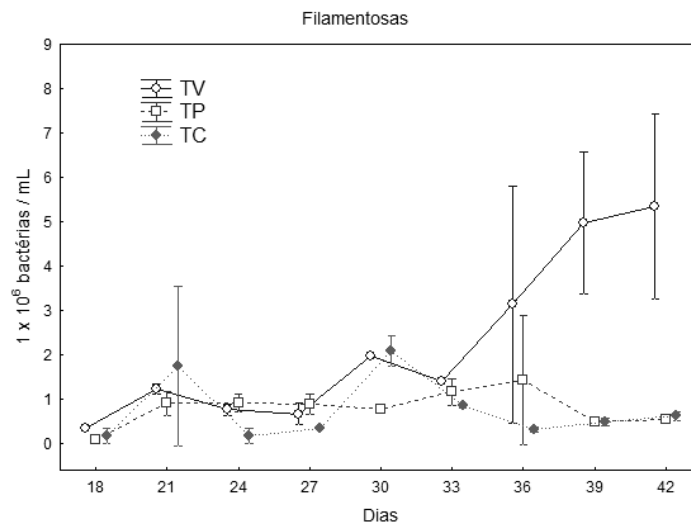


Figura 25. Variação temporal na abundância total de bactérias filamentosas nos tratamentos estudados. Resultado expresso em  $1 \times 10^6$  bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.5.3 Bactérias aderidas

Os resultados obtidos pela contagem de bactérias aderidas foram divididos em duas seções. A seção 3.5.3.1 contém os dados de bactérias aderidas por micrometro quadrado de material agregado. Já na seção 3.5.3.2 são apresentados os dados referentes à abundância total de bactérias aderidas por mL de amostra.

### 3.5.3.1 Bactérias aderidas por área de agregado

A densidade média de bactérias aderidas foi de 1,92, 1,87 e 1,34 bactérias por micrometro quadrado ( $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ ) nos tratamentos vannamei, paulensis e controle, respectivamente (figura 26. ). A menor densidade foi encontrada no dia 36 do TC (0,12  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ ) e a maior no dia 39 no TP (3,2  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ ). As bactérias cocóides foram as mais abundantes correspondendo a 98, 95 e 91% do total de bactérias aderidas contadas no TV, paulensis e controle.

As maiores densidades de bactérias cocóides foram verificadas no TV seguido pelo TP e controle, com valores médios de 1,9; 1,8 e 1,2  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ , respectivamente (Figura 27. ).

Não foram encontradas bactérias aderidas do morfotipo víbrio em nenhum dos tratamentos. O morfotipo bastonete apareceu em três ocasiões, dias 21 e 30 no TC e dia 24 no TV, com densidade inferior à 0,06  $\text{org}/\mu\text{m}^2$ .

A densidade média de bactérias filamentosas foi 0,085  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ . A maior densidade foi encontrada no TC (0,1  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ ) a menor foi encontrada no TV (0,008  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ ). A densidade média encontrada para o tratamentos TV, TP e TC foram 0,04, 0,09 e 0,118  $\text{bact}/\mu\text{m}^2$ , respectivamente (figura 29).

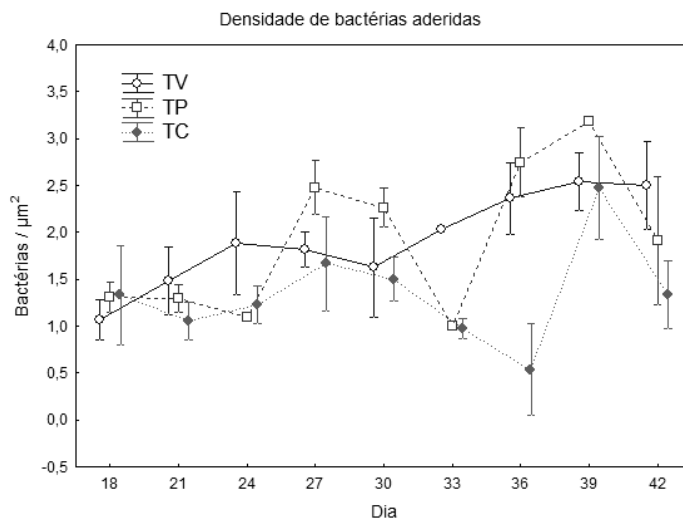


Figura 26. Variação temporal na abundância de bactérias aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.

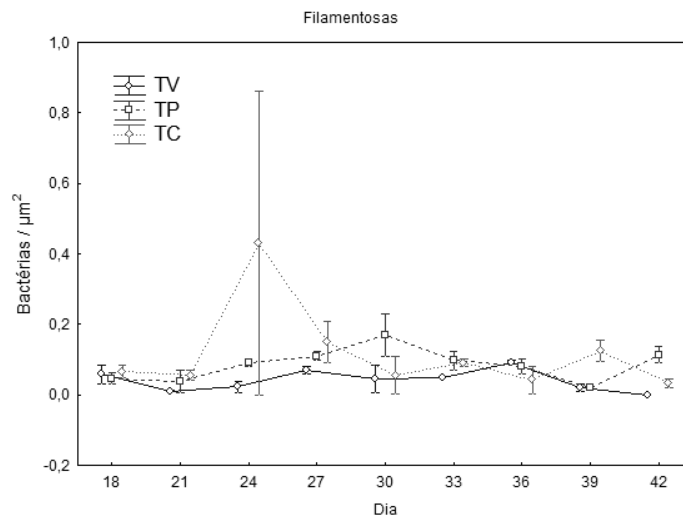


Figura 27. Variação temporal na abundância de bactérias cocóides aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.

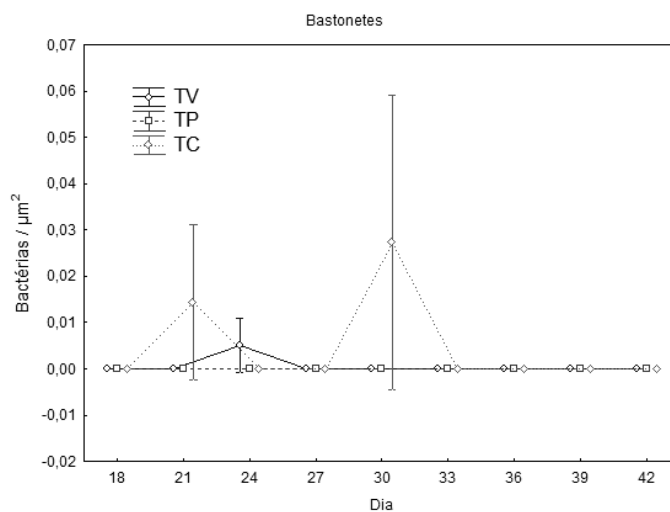


Figura 28. Variação temporal na densidade de bactérias aderidas do morfotipo bastonete por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.



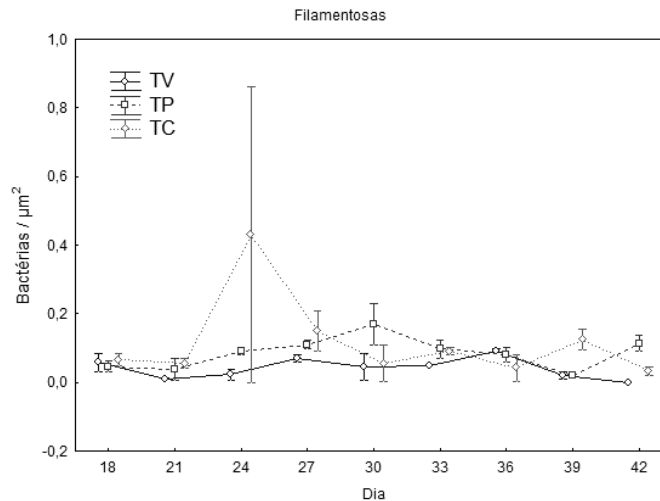


Figura 29. Variação temporal na densidade de bactérias filamentosas aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em bactérias por micrometro quadrado de material agregado. As barras verticais representam o desvio padrão.

### 3.5.3.2 Abundância total de bactérias aderidas

A abundância média de bactérias aderidas foi de  $3,7 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$  e  $1,5 \times 10^6$  bactérias por mL nos tratamentos vannamei, paulensis e controle, respectivamente. Estes valores correspondem a 37,7%, 24,5% e 17% do total de bactérias livres nos seus respectivos tratamentos. A concentração de bactérias aderidas foi praticamente constante nos tratamentos paulensis e controle com valores oscilando em torno de  $1 \times 10^6$  e  $2 \times 10^6$  bactérias/mL. A maior abundância foi encontrada no dia 42 do TV ( $6,02 \times 10^6$  bactérias/mL) a menor foi encontrada no dia 18 do TC ( $5,5 \times 10^5$  bactérias/mL).

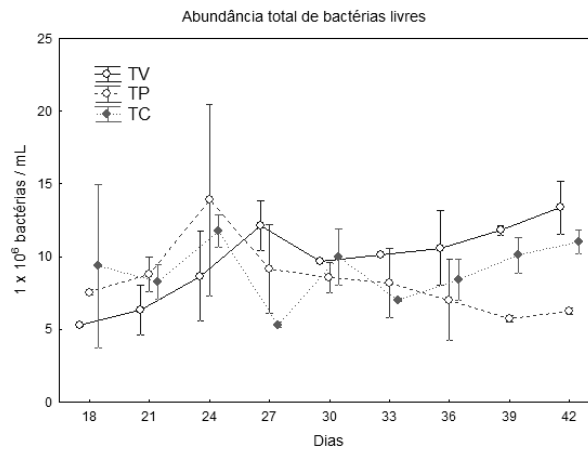


Figura 30. Variação temporal na abundância total de bactérias aderidas por micrometro quadrado nos tratamentos estudados. Resultado expresso em  $1 \times 10^6$  bactérias por mililitro. As barras verticais representam o desvio padrão.

### **3.6 Balanço de massa**

Foi realizado um balanço de massa para nitrogênio e fósforo considerando-se os dados ao final do experimento (dia 42). Para facilitar o entendimento o sistema foi dividido em três compartimentos: 1 – corresponde ao total de nitrogênio e fósforo incorporado pelos camarões; 2 – corresponde as frações de nitrogênio e fósforo na forma inorgânica dissolvida (NID - nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato; PID - ortofosfato) e orgânica dissolvida (NOD e POD); 3 – compartimento correspondente ao nitrogênio e fósforo particulado (NP e PP) absorvido/adsorvido por partículas ou microorganismos com diâmetro superior a 0,7 micrometros e também aos microorganismos presentes no biofilme aderido à superfície interna dos tanques.

Para o cálculo da quantidade total de nutrientes nos tanques experimentais foi assumido o volume médio de 200 litros e massa atômica de 14g para o nitrogênio e 31g para o fósforo.

#### **3.6.1 Nitrogênio**

No TV e paulensis do total de nitrogênio proveniente da ração 39,15% e 20% foram aproveitados pelos camarões, respectivamente (compartimento 1) (figura 34). Do restante, a maior parte se acumulou na forma dissolvida (compartimento 2 – 48,9% no TV e 60,37% no TP), principalmente sob a forma orgânica. Na fração inorgânica a forma predominante foi o nitrato (87,1% do NID para o TV e 84,2% no TP), seguidos por nitrito e nitrogênio amoniacal. As frações de nitrito e nitrogênio amoniacal somadas representam menos de 20% do NID em ambos os tratamentos.

De acordo com o balanço de massa a perda de nitrogênio do sistema através da volatilização da amônia gasosa e/ou desnitrificação foi estimada em aproximadamente 20,55% e 16,4% para os tratamentos vannamei e paulensis, respectivamente.

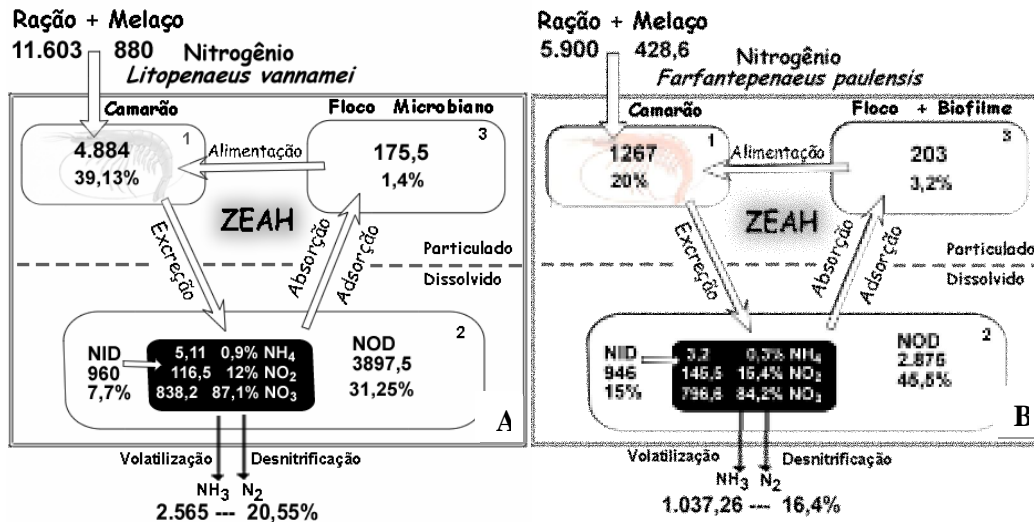


Figura 34. Balanço de massa para nitrogênio nos tratamentos vannamei (A) e paulensis (B) realizado nos compartimentos: 1 camarão; 2 nutrientes inorgânicos dissolvidos; 3 material particulado (maior que 0,7µmetros). Os valores estão expressos em miligramas de nitrogênio e porcentagem em relação ao input proveniente da ração mais melaço de cana.

### 3.6.2 Fósforo

Do total de fósforo adicionado pelo arraçoamento os camarões dos tratamentos vannamei e paulensis absorveram 35% e 16%, respectivamente (figura 33 – A e B). A quantidade de fósforo particulado (compartimento 3) correspondeu a 26,4% do montante proveniente da ração no TV e a 22,15% no TP. Destas, 133mg e 82 mg (tratamentos vannamei e paulensis) são provenientes do fitoplâncton e de cianobactérias (estimados a partir da clorofila – *a*) e 14 mg e 1,12 mg nos tratamentos vannamei e paulensis, respectivamente, são provenientes da biomassa bacteriana. No TP a maior parte do fósforo ficou armazenado no compartimento dissolvido, principalmente na forma inorgânica (compartimento 2, 35,4%), no TV os camarões foram responsáveis pela maior absorção de P.

No TV e no TP 4,5% e 2,5% do fósforo proveniente da ração não foram detectados em nenhum dos compartimentos estudados.

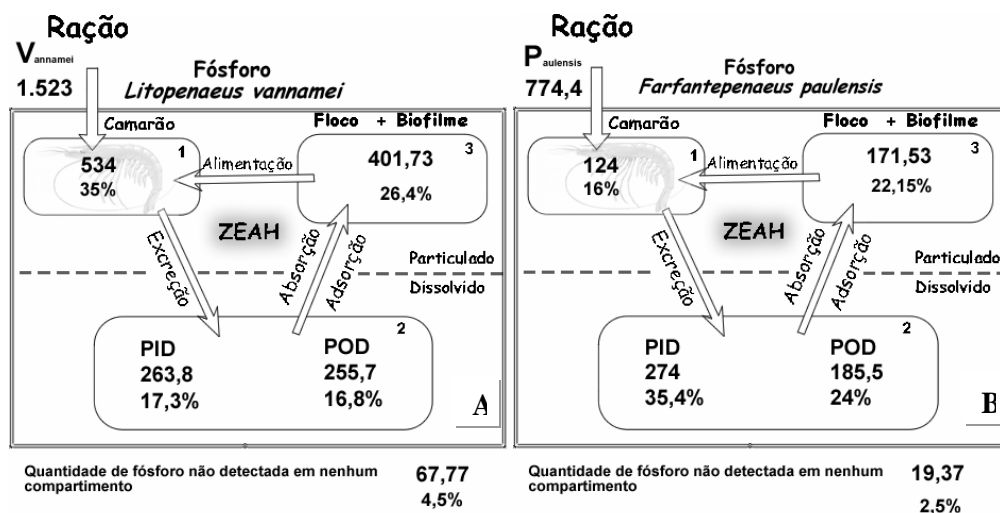


Figura 33. Balanço de massa para fósforo nos tratamentos vannamei (A) e paulensis (B) realizado nos compartimentos: 1 camarão; 2 nutrientes inorgânicos dissolvidos; 3 material particulado (maior que 0,7µmetros). Os valores estão expressos em miligramas de fósforo e por porcentagem em relação ao input proveniente da ração. Os valores fora do retângulo principal representam a quantidade de fósforo que não foi mensurada em nenhum dos compartimentos do modelo.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.2. Desempenho dos Camarões

Os parâmetros físico e químicos da água avaliados durante o experimento ficaram dentro dos limites estabelecidos como aceitáveis para o crescimento e a sobrevivência de *F. paulensis* (Wasielesky, 2000) e *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa, 1999, Wickins, 1976).

As taxa de crescimento específico para *L. vannamei* e *F. paulensis* determinadas neste estudo (6,9 e 3,7, respectivamente) foram inferiores às encontradas por Ferreira, 2008 (8,2 e 5,2 para as mesmas espécies) para estas mesmas espécies, entretanto, no presente estudo, foram observados melhores valores de conversão alimentar aparente para *L. vannamei* (0,87) do que aquele determinado pela autora para esta mesma espécie (1,09 - Ferreira, 2008).

O maior crescimento específico obtido no estudo de Ferreira (2008) se deve, provavelmente, ao ajuste mais freqüente na quantidade de ração. No referido estudo o ajuste no arraçoamento era realizado a cada 5 dias, de acordo com a biomassa determinada nas biometrias, enquanto que no presente estudo este intervalo foi em média de 13 dias. Desta maneira os camarões daquele experimento foram providos com maior quantidade de alimento, o que provavelmente resultou no maior crescimento. Por outro lado, as menores taxas de conversão alimentar aparente obtidas em nosso experimento indicam que *L. vannamei* consumiu uma maior quantidade de microorganismos presentes nos tanques, provavelmente devido à menor disponibilidade de ração.

A eficiência na utilização do N e P proveniente da ração pelos organismos cultivados determina a quantidade de nutrientes que vai ser disponibilizada para a água e, por conseguinte, para os microorganismos. Neste experimento uma porção significativa de N e P ficou retida na biomassa dos camarões (39,2% do N e 35% do P no TV; 20% do N e 16% do P no TP). A absorção de nutrientes provenientes da ração pela espécie *L. vannamei* foi aproximadamente duas vezes maior do que à medida para *F. paulensis*, sendo também muito superior às taxas de retenção determinadas para esta mesma espécie (*L. vannamei*) em outros estudos (Boyd & Clay, 2002, Casillas-Hernández *et al*, 2006, Funge-Smith & Briggs, 1998, Jackson *et al*, 2003, Martin *et al*, 1998).

Entretanto, a melhora na conversão alimentar, crescimento e retenção de proteína pelos camarões no sistema *ZEAH* em comparação com aqueles cultivados em sistemas comuns (apenas ração), é uma clara indicação de que estes organismos estão se utilizando dos flocos microbianos como fonte alimentar como observado por Burford *et al.*,(2004) e Wasielesky *et al* (2006). Além disso, os microrganismos presentes nos agregados contribuem para a reciclagem dos nutrientes não utilizados (excretados ou mineralizados da ração) e os tornam novamente disponíveis para os camarões na forma de biomassa microbiana.

Neste estudo, verificou-se novamente uma maior quantidade de agregados (MPS) no TV em relação ao paulensis. Ferreira (2008), sugere que a relação NID:PID mais elevada, encontrada nos tanques com *Litopenaeus vannamei*, devido a menor excreção de fósforo por esta espécie, favoreceu o desenvolvimento de bactérias cocóides formadoras de muco, e que estas auxiliam na agregação de partículas e na formação dos agregados microbianos. Também em nosso estudo verificou-se uma maior relação NID:PID no TV, e uma maior abundância de bactérias cocóides neste tratamento (Figuras 21 e 30). Entretanto, deve-se levar em conta que o TV recebeu quase o dobro (1,96 vezes) de carbono, nitrogênio e fósforo, o que também pode ter colaborado para a maior abundância de microorganismos e, por conseqüência, mais agregados neste tratamento.

### **4.3. Principais Processos Envolvidos Na Dinâmica Dos Nutrientes no Sistema *ZEAH*.**

#### **4.3.1 Nitrogênio**

A maior absorção de nitrogênio na biomassa dos camarões (compartimento 1) do TV (39,13%) em relação ao TP (20%) já era esperada, tendo em vista as características zootécnicas superiores da espécie *Litopenaeus vannamei* e a ração comercial utilizada, que é especificamente formulada para atender as exigências nutricionais desta espécie. Cavalli *et al.* (2004) mostraram que a farinha de peixe, principal componente protéico da ração utilizada, não é a melhor fonte de proteína para o camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*, tendo o mesmo apresentado menor taxa de crescimento quando alimentado com esta fonte protéica, em comparação a rações formuladas com farinhas de lula e mexilhão. A assimilação de nitrogênio por camarões cultivados pode variar entre 18 e 63% (Smith &

Stewart, 1996; Velasco *et al.*, 1999; Philips *et al.*, 1993) dependendo, principalmente, da qualidade da ração e da disponibilidade de alimento natural.

Em sistemas de cultivo convencionais a qualidade da água é controlada, de maneira ativa, através da renovação da água. Em sistemas sem renovação de água, como o ZEAH, a qualidade da água é controlada através da manipulação da comunidade microbiana, para que esta absorva a amônia (Avnimelech, 1999, Avnimelech, 2006) ou a oxide para a fração menos tóxica ( $\text{NO}_3^-$ ) pelo processo de nitrificação. Ao contrário de outros sistemas, onde geralmente o amônio é a fração nitrogenada dissolvida mais abundante (Lorenzen *et al.*, 1997), no sistema ZEAH o nitrato foi a forma predominante, correspondendo a mais de 80% do Nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) em todos os tratamentos estudados. A adição de melão de cana juntamente com o processo de nitrificação se mostrou eficiente na retirada do amônio do sistema.

A rápida absorção de nitrogênio amoniacal pelas bactérias heterotróficas já foi demonstrada em outros estudos. Avnimelech (1999) obteve uma queda de 500  $\mu\text{M}$  para 70  $\mu\text{M}$  de nitrogênio amoniacal em apenas 5 horas após a adição de carboidrato. No presente trabalho foram adicionados 20g extra de melão após o dia 18 o que reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal de aproximadamente 50 para 10  $\mu\text{M}$  no dia 21 sem que houvesse a formação de nitrito, evidenciando a rapidez e eficiência com que as bactérias heterotróficas absorvem amônia com a adição de uma fonte de carbono lábil.

A nitrificação é um processo seqüencial de duas etapas ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ), onde a oxidação da amônia a nitrito é mediada pelas bactérias do grupo *Nitrosomonas* e a oxidação do nitrito a nitrato é realizada pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*, ambos são constituídos por bactérias gram-negativas de formato bastonete com tempo de geração entre 20 e 40 horas (Hargreaves, 1998).

Entre os dias 9 e 15 ocorreu a morte repentina do fitoplâncton inoculado no início do experimento (“phytoplankton crash”), provavelmente devido a falta de luz e nutrientes, sendo que no dia 15 foram encontrados os menores valores médios de clorofila-*a* (figura 20). Este evento culminou em uma série de acontecimentos posteriores na dinâmica dos nutrientes, como o aumento na concentração de nitrogênio amoniacal e a diminuição do valor médio e da oscilação diurna nos valores de pH.

As bactérias nitrificantes necessitam de um meio ligeiramente alcalino (7 – 8,5) para crescimento ótimo. Em ambientes com pH superior a 8,5 a nitrificação começa a ser inibida, sendo o gênero *Nitrobacter* (bactérias que oxidam nitrito) mais sensível a elevação

do pH em comparação ao gênero *Nitrossomonas* (bactérias que oxidam amônia)(Fenchel & Blackburn, 1979).

O aumento na concentração de nitrito observado entre os dias 19 e 21 (figura 8) pode ser explicado pela diminuição nos valores de pH medidos ao final da tarde (frequentemente acima de 8,5 superando 9 em algumas ocasiões) e pelo aumento na concentração de nitrogênio amoniacal, que propiciaram condições favoráveis para a nitrificação. Entre os dias 21 e 27 ocorreu um aumento aproximado de 2332,86  $\mu\text{moles NO}_2 / \text{dia}$  no TP e de 2000 mg  $\text{NO}_2 / \text{dia}$  no TV. Após este período as concentrações de nitrito estabilizaram indicando que possa ter ocorrido um equilíbrio entre a oxidação de amônia e a passagem do nitrito a nitrato.

As concentrações finais de nitrato em todos os tratamentos foram, no mínimo, duas vezes maiores do que a soma dos maiores valores de amônia e nitrito. Este fato indica que os valores medidos de amônia e nitrito podem ter sido subestimados devido a uma maior velocidade nas taxas de nitrificação. Entretanto, fica claro que a nitrificação foi o processo mais eficiente para retirar amônia do sistema de cultivo.

Já foi verificado em outros estudos que os processos de nitrificação/desnitrificação parecem ser mais intensos no sistema *ZEAH* do que em outros sistemas intensivos descritos na literatura (Burford & Longmore, 2001). Entretanto, verificou-se neste estudo que o processo de nitrificação aconteceu de maneira diferenciada nos dois tratamentos com camarões. Por exemplo, no TP a passagem da amônia a nitrito se deu de forma mais rápida, enquanto que no TV a oxidação do nitrito a nitrato aconteceu de forma mais intensa resultando em maiores concentrações de nitrato ao final do experimento. Estes fatos indicam que, a exemplo do referido para a maior formação de agregados estar relacionado à espécie de camarão cultivada, as comunidades de bactérias nitrificantes também parecem ter sido afetadas pela excreção diferenciada de nutrientes pelas duas espécies de camarão. Nota-se que, após o dia 27, aconteceu um aumento médio de 46mg  $\text{NO}_3/\text{dia}$  que foi acompanhado por um pico, principalmente no TV, na abundância de bactérias livres do morfotipo bastonete, podendo estar associado a bactérias nitrificantes.

Uma vez sobre a forma de nitrato, o nitrogênio pode escapar do sistema via desnitrificação, processo pelo qual o nitrogênio volta à atmosfera sob a forma de gás ( $\text{N}_2$ ). Este processo ocorre através de bactérias desnitrificantes (tais como *Pseudomonas* sp. e *Clostridium* sp.) que, em condições anaeróbicas, têm a capacidade de respirar nitrato. Desta maneira, a desnitrificação depende de microsítios anaeróbios encontrados em biofilmes, na camada nefelóide do sedimento (Hargreaves, 1998), ou nos próprios



agregados. A velocidade da reação é dependente da concentração de nitrato, da fonte de carbono orgânico e da concentração de oxigênio. No presente trabalho, a taxa de desnitrificação + volatilização da amônia gasosa foi de aproximadamente 20,55% para o TV e 16,4% para o TP.

Teoricamente, em uma situação como a do sistema *ZEAH* com aeração constante e aparentemente livre de zonas anaeróbicas, o processo de desnitrificação não deveria ocorrer, entretanto, diversos autores relatam a presença de microsítios anóxicos em partículas de detrito e em agregados microbianos (“marine snow”) com tamanho superior a 100µm. Jørgensen, 1977, encontrou centros anóxicos em partículas que variavam 100µm a alguns milímetros. Paerl, 1984, estimou que em agregados detriticos, biofilmes e em algumas simbioses planctônicas, os microsítios começam a aparecer quando estas estruturas atingem aproximadamente 100µm. Além do tamanho, a taxa de consumo de oxigênio dentro do agregado, a taxa de difusão de oxigênio e a geometria da partícula determinam a quantidade de microsítios anaeróbicos dentro da partícula (Focht & Verstraete, 1977).

No decorrer do experimento, a presença dos agregados microbianos era facilmente avistada após a primeira semana de experimento podendo propiciar, desde então, micronichos para a ocorrência da desnitrificação. Apesar do potencial para sustentar certos níveis desnitrificação, as porcentagens encontradas pelo balanço de massa sugerem uma taxa diária de desnitrificação de 145mg no TV e de 40,6mg no TP (considerando que a desnitrificação só começou a ocorrer após o dia 27). É pouco provável que a produção de nitrato via nitrificação sustente taxas tão altas como estas e que existam tantas zonas anaeróbicas para suportar tamanha comunidade de bactérias desnitrificantes.

Parte do nitrogênio pode sair do sistema através da volatilização da amônia gasosa. A volatilização aumenta com o aumento do pH, da temperatura, da taxa de evaporação e com o aumento da superfície de contato água – ar. A volatilização pode ser considerada insignificante quando a concentração de nitrogênio amoniacal é inferior a 72 µM em uma faixa de pH entre 7,5 – 8,5 (Kochba *et al.*, 1994, Hargreaves, 1998, Lorenzen *et al.*, 1997). Neste estudo a taxa de evaporação, a temperatura e a superfície da água foram mantidos praticamente constantes durante o período experimental. Assim, condições mais favoráveis para a volatilização da amônia gasosa foram encontradas no início do experimento (entre os dias 0 – 9) quando os valores de pH estavam elevados (valor médio 8,5). Entretanto, devido às baixas concentrações de nitrogênio amoniacal neste período (< 5µM) pode-se inferir que a volatilização não foi o principal sumidouro de nitrogênio.

Entretanto, é também possível que grande parte do nitrogênio computado como volatilização + desnitrificação seja, de fato proveniente de erros analíticos inerentes ao método de digestão por persulfato e da determinação por nitrato. A fração orgânica dissolvida (NOD) correspondeu a aproximadamente 33,6% e 48,7% do total nos tratamentos *vannamei* e *paulensis*, respectivamente, constituindo a principal fração de nitrogênio no TP. O acúmulo de NOD no final do experimento pode ser atribuído à lixiviação da ração e das fezes (Burford & Williams, 2001) tendo em vista que a concentração de NOD seguiu o aumento nas quantidades de ração oferecidas aos camarões. Jackson *et al*, 2003 encontrou resultado semelhante, com a maior proporção do nitrogênio na forma orgânica dissolvida.

É sabido que o fitoplâncton pode liberar quantidades significativas de aminoácidos livres durante a fotossíntese (Rosenstock & Simon, 2001). Bronk & Ward (1999) reportaram que 90% do nitrato absorvido pela comunidade fitoplanctônica, em condições de foto limitação, pode ser liberado como NOD. Glybert & Bronk (1994) reportaram que cerca de 50% do total de nitrogênio fixado pela cianobactéria *Trichodesmium* é liberado na forma de NOD, podendo ser utilizado pelo restante da cadeia que não fixa nitrogênio ou por bactérias heterotróficas. A pastagem do zooplâncton (“sloppy feeding”) sobre o fitoplâncton e demais microorganismos e a lise celular ocasionada por infecção viral são outras fontes que podem contribuir significativa para o pool de NOD (Moller, 2007, Titelman, *et al* 2008).

Uma vez no sistema, o NOD pode ser utilizado por bactérias heterotróficas que, dependendo da razão C:N, podem liberar ou consumir amônia da coluna d’água. Diversas espécies de cianobactérias parecem se beneficiar de nitrogênio e fósforo orgânico. Glibert *et. al* associaram altas concentrações de NOD e POD com o bloom de cianobctérias na baía Flórida. A retenção de nitrogênio no compartimento 3 foi a menor entre os 3 compartimentos, nos tratamentos estudados.

A baixa quantidade de N particulado, encontrada no final do experimento, sugere que os agregados microbianos não representam uma fonte abundante de proteínas neste período. Os baixos valores de nitrogênio neste compartimento podem ser explicados pela pressão de pastagem realizada pelos camarões que desta maneira mobilizam o nitrogênio do material particulado para sua própria biomassa.

A diminuição da quantidade de nitrogênio nos agregados no final do experimento apresentou uma ligação com a abundância de bactérias do morfotipo bastonete que também diminuíram nos tratamentos com camarão no final do experimento (figura 23). As

bactérias deste morfotipo, apesar de menos abundantes, apresentaram a maior biomassa se comparadas aos morfotipos cocos e vibrios.

#### 4.3.2. Fósforo

Nos cultivos em viveiros, o fósforo é removido pela troca de água no sistema e, principalmente, pela adsorção e acumulação deste no sedimento (Casillas-Hernandes *et al.*, 2006). No sistema ZEAH, estas duas rotas não estão disponíveis, fazendo com que este nutriente se acumule na coluna de água. Ademais, ao contrário do nitrogênio, o fósforo não possui nenhum processo que permita a sua eliminação do fósforo do sistema para a atmosfera.

Do total de fósforo, 2,5% no TP e 4,5% no TV não foram computados em nenhum dos compartimentos analisados. Estas sobras podem ser atribuídas a erros sistemáticos inerentes à determinação do fosfato.

De todo o fósforo proveniente da ração, 35% e 16% foram absorvidos pelos camarões no TV e paulensis, respectivamente. Estes resultados podem ser considerados excelentes, superando níveis de absorção encontrados em outros sistemas intensivos e semi-intensivos (Casillas-Hernandes *et al.*, 2006 – 28% N e 12% P; Páez-Ozuna *et al.*, 1997 – 35% N e 6,1% P; Funge-Smith & Briggs, 1998 – 18% N e 6% P; Thakur & Lin, 2003 – 22-30% N e 10- 13% P).

A menor retenção de fósforo nos camarões do TP, pode ser explicada pela menor capacidade de absorção deste elemento pela espécie ou ainda pelo fato de que a fonte de fósforo utilizada na ração pode não ser a adequada para a espécie. A excreção de fósforo pelos camarões depende não só da quantidade, mas também da forma na qual este elemento é oferecido nas rações (Hua *et al.* 2006). As formas de fósforo orgânico e inorgânico, presentes na ração, influenciam diretamente na dinâmica do fósforo no sistema de cultivo, devido às diferenças de solubilidade e assimilação pelos camarões (Montoya *et al.* 2000).

A quantidade de fósforo inorgânico dissolvido na água (compartimento 2), parece estar associada ao aproveitamento do fósforo contido na ração pelos camarões e pela ciclagem deste elemento da forma dissolvida para a forma particulada e, posteriormente, pelo consumo das partículas pelos camarões. Apesar do material particulado ser um importante sumidouro para ortofosfato, em alguns casos ele não é tão eficiente como o

sedimento, Funge-Smith & Briggs, 1998 relatam a retenção de até 84% do fósforo introduzido no sistema, pelo sedimento.

A toxicidade do íon é praticamente nula, entretanto altas concentrações devem ser evitadas devido a outros fatores como a proliferação de cianobactérias (Anderson *et al*, 2002, Smith, 1983). O excesso destas bactérias pode provocar o entupimento das brânquias dos camarões e a descaracterização do gosto da carne (“off-flavor”)(Tucker, 2000). Existe, ainda, o risco de produção de toxinas por algumas espécies tóxicas (Alonso-Rodriguez & Paez-Osuna, 2003).

Em nosso estudo verificou-se que a razão FP/MPS se manteve praticamente constante ao longo do experimento, sendo que a capacidade do floco de reter P parece estar limitada a uma taxa entre 50-150  $\mu$ moles de P por grama de MPS. Esta razão se mantém praticamente constante para os tratamentos *vannamei* e *paulensis*.

Em função do acúmulo contínuo de fósforo dissolvido no Sistema ZEAH e da incapacidade dos agregados de reter uma maior quantidade deste elemento, torna-se necessário a utilização de estratégias para a remoção do excesso de fósforo do sistema, seja para a reutilização da água, seja para o despejo de efluente ao final do período de cultivo.

#### **4.4. Efluente**

Utilizando como base os dados obtidos neste trabalho, pode-se dizer que se a água deste cultivo fosse descartada “*in natura*” seriam liberados aproximadamente 20 kg de N e 4,1 kg de P para cada tonelada de camarão da espécie *L. vannamei* produzido. Já para o cultivo de *F. paulensis* seriam liberados aproximadamente 90 kg de N e 13,5 de P para cada tonelada de camarão produzido.

Uma análise comparativa das quantidades de N e P por tonelada de camarão produzido pode ser visualizado na tabela 2. A menor produção de efluente no sistema ZEAH só é possível devido a presença dos agregados microbianos que, de acordo com a relação C:N:P da água permite o surgimento de uma comunidade microbiana capaz de reciclar e absorver o excedente destes nutrientes. A formação dos agregados contribui para a ciclagem de nutrientes no sistema mobilizando os nutrientes do compartimento dissolvido para o particulado. Uma vez na forma de agregados os nutrientes podem ser aproveitados pelos camarões aumentando a taxa de retenção neste compartimento e diminuindo a quantidade de efluentes.

Tabela 2. Quantidade de nitrogênio e fósforo não recuperada na biomassa dos camarões por tonelada de camarão cultivado em diferentes densidades.

Espécie	Densidade	Nitrogênio Kg / ton	Fósforo Kg / ton	Referência
<i>F. paulensis</i>	Super intensivo	90	13,5	Presente estudo
<i>L. vannamei</i>	Super-intensivo	20	4,1	Presente estudo
<i>P. monodon</i>	Intensivo	72	-	Jackson <i>et al</i> (2003)
<i>P. monodon</i>	Intensivo	81	44	Briggs and Funge-Smith (1994)
<i>P. monodon</i>	Intensivo	112	31	Robertson & Phillips (1995)
<i>P. monodon</i>	Intensivo	72	-	Jackson <i>et al</i> (2003)
<i>L. vannamei</i>	Semi-intensivo	73	12	Casillas-Hernandes <i>et al</i> (2006)
<i>L. vannamei</i>	Semi-intensivo	36	12	Páez-Osuna <i>et al.</i> (1997)
<i>L. vannamei</i>	Semi-intensivo	29	12	Teichert-Coddington <i>et al.</i> (2000)

Apesar do melhor aproveitamento dos nutrientes no sistema *ZEAH*, o lançamento de efluentes torna-se inevitável, nos períodos de entressafra, se não forem utilizadas estratégias para o reuso da água de cultivo. A determinação da técnica de tratamento mais adequado ao sistema *ZEAH* depende de qual nutriente se deseja eliminar e em qual forma ele se encontra mais abundante.

#### 4.5. Sugestões Para o Tratamento do efluente e Gerenciamento da Qualidade da Água

Minimizar a utilização de água é um dos princípios básicos da aquicultura moderna, ambientalmente correta. A redução, ou a eliminação das trocas de água trás benefícios para o produtor e para o meio ambiente. Este deixa de receber nutrientes e matéria orgânica provenientes do cultivo, enquanto que o produtor economiza nos gastos com bombeamento, maximiza a utilização dos nutrientes e protege a criação contra a entrada de possíveis organismos patogênicos (IPRSF, 2006).

Uma alternativa para o tratamento da água remanescente do sistema *ZEAH*, antes de sua liberação no meio durante os períodos sem produção, seria a utilização da combinação ostras – algas/microalgas/biofilme para a remoção combinada de material em suspensão e nutrientes dissolvidos. Jones *et al.* 2001, propuseram o tratamento integrado com sedimentação, ostras e macroalgas como uma alternativa limpa ao monocultivo do camarão *P. japonicus*. Além disso, a possibilidade de tratamento através do cultivo

integrado com outra espécie com valor econômico pode aumentar a lucratividade da atividade.

Neste tipo de cultivo integrado os nutrientes orgânicos dissolvidos e particulados servem como alimento para as ostras que os absorvem e os agregam em partículas maiores de mais fácil sedimentação conhecidas como pseudofezes. Os nutrientes inorgânicos restantes são absorvidos por um tratamento composto por macroalgas, microalgas ou ainda em sistemas de biofilme.

Jones & Preston (1999), mostraram a habilidade de bivalves filtradores em reduzir significativamente a concentração de bactérias, partículas em suspensão e fitoplâncton em efluente do cultivo de camarão. Além do material particulado, as ostras podem absorver nutrientes orgânicos (NOD e POD) e matéria orgânica dissolvida diretamente da coluna d'água (Manhan *et al.*, 1982, Dame, 1996). Segundo Pomeroy *et al.* (1954) a ostra americana *Crassostrea virginica* pode absorver fosfato diretamente da coluna d'água e utilizá-lo na transferência de energia, na metabolização carboidratos e, ainda, para o depósito na concha.

Apesar de eficientes removedoras de nutrientes particulados, Jones *et al.* (2001) encontraram o aumento nas concentrações de nutrientes dissolvidos, principalmente amônia (taxa de 5,7µmoles/hora) na etapa do tratamento no qual o efluente era filtrado pelas ostras. Dame *et al.*(1996) estimou que de todo o nitrogênio ingerido pelas ostras, aproximadamente 10% é direcionado para o crescimento, 10% para formação das gônadas, 50% é perdido via biodeposição por pseudofezes e 27% como excreção.

Hopkins *et al.* (1993), observou a ocorrência de doenças quando as ostras foram cultivadas com alta concentração de material particulado em suspensão e sugere a diminuição na concentração antes da água entrar em contato com as outras.

A integração animal-planta na aqüicultura tem se revelado como um mecanismo efetivo de redução nos níveis de nutrientes pela absorção de nitrogênio e fósforo por micro/macroalgas e plantas (Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004; Crab *et al.*, 2007).

As macroalgas (“seaweeds”) comprovadamente retiram parte dos nutrientes contidos nos efluentes da aqüicultura (Chopin *et al.*, 2001, Neori *et al.*, 2004). As características que as conferem esta habilidade estão associadas à alta taxa de crescimento, além da facilidade no manejo e reprodução. Ademais, algumas espécies conseguem armazenar quantidades extras de nitrogênio para posterior utilização (Neori *et al.*, 2000; Nagler *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2006) atuando como um grande removedor de nitrogênio.

Msuya *et al.* (2006), utilizando a macroalga *Ulva reticulata* em um sistema de bioremediação bastante simples, observaram a remoção de 65% e 33% de nitrogênio amoniacal e ortofosfato, respectivamente, no efluente de um cultivo de peixes na Tanzânia. Copertino *et al.*, 2008, relataram taxa de remoção de 383mg de NID/ m<sup>2</sup>/ dia e 99 mg de PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>/ m<sup>2</sup>/ dia com a utilização da macroalga *Ulva clathrata* no efluente de uma fazenda de camarões produzindo *L. vannamei* no extremo sul do Brasil. Estes valores equivalem a 40% do total de NID e a 37% do total de PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> encontrados no final do experimento para o TV.

A utilização de biofilmes, comunidade microbiana associada a uma matriz de polímeros extracelulares aderida em superfície submersa, pode ser uma alternativa para remoção/transformação do nitrogênio e do fósforo. No experimento realizado por Thompson *et al.* (2002) o aumento na área de superfície para a fixação do biofilme diminuiu a exportação de fosfato em 33%, porém não houve diminuição na exportação de nitrogênio (NID), ocorrendo, apenas, a mudança nas frações predominantes com maior predominância de nitrogênio amoniacal no TC e nitrato no tratamento com biofilme.

Jones *et al.* (2001), efetuaram um tratamento integrando sedimentação, a filtração por ostras e, em uma última etapa, a absorção direta por macroalgas. Os resultados obtidos foram impressionantes com um percentual de 84% para remoção de fósforo e 72% para nitrogênio. No presente estudo somente a remoção dos sólidos em suspensão aliada à retirada dos camarões já removeriam 60% do total de fósforo adicionado pela ração no TV e 36% no TP. A utilização de mecanismos para a remoção dos sólidos em suspensão como sedimentação/filtração deve ser suficiente para suportar diversos ciclos de cultivo para a espécie *L. vannamei*. No cultivo de *F. paulensis* a sedimentação/filtração deve ser combinada com algum dos tratamentos descritos nos parágrafos acima para a remoção de maiores quantidades de fósforo do compartimento dissolvido.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Mesmo considerando-se todos os possíveis problemas decorrentes do cultivo de uma espécie exótica, pode-se dizer que o cultivo de *L. vannamei* é preferível especialmente quando considerado do ponto de vista da produção de efluentes. O maior crescimento apresentado por esta espécie é reflexo do melhor aproveitamento dos nutrientes oferecidos na ração sendo que uma porção significativamente maior

de N e P (se comparado a espécie nativa *F. paulensis*) fica incorporado na biomassa do camarão e é retirado do sistema após a despesca.

- Apesar de ser considerado como uma das limitações em outros sistemas intensivos, as frações tóxicas do nitrogênio não representam um problema no sistema *ZEAH*.
- A possibilidade de tratamento da água no período entressafra e, por conseguinte, a reutilização da água para posteriores safras faz com que o sistema *ZEAH* seja “ambientalmente amigável”, além de garantir biossegurança, pois se evita a troca de água com o ambiente. Neste sistema se pode produzir 1 kg de camarão utilizando apenas 160 litros de água (Otoshi *et al*, 2006) enquanto nos sistemas convencionais são utilizados até 64000 litros de água para produzir 1 kg de camarão (Hopkins *et al*, 1993).
- Mesmo se considerarmos um possível descarte da água (efluente) no final do ciclo de cultivo no sistema *ZEAH*, a quantidade de N e P descartada por tonelada de camarão produzido é inferior aos dados encontrados na literatura para os sistemas de cultivo tradicionais.
- A exemplo do que já foi comprovado para proteína, os teores de fósforo contidos nas rações para este tipo de cultivo podem, provavelmente, ser diminuídos sem comprometer o crescimento e sobrevivência dos camarões, tendo em vista o alto aproveitamento do fósforo encontrado para as espécies cultivadas neste sistema.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONGI, D. M. 1997. Coastal Ecosystem Processes. pp. 419.

ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA. 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219: 317-336

ANDERSON, D. M., GLIBERT, P. M., BURKHOLDER, J. M. 2002. Harmful Algal Blooms and Eutrophication Nutrient Sources, Composition, and Consequences. *Estuaries* 25: 704-726.

AOAC. Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington, 1995. v. 2, cap.35, p.1-30, 1995.

AVNIMELECH, Y., MOKADY, S., SCHROEDER, G.L. 1989. Circulated ponds as efficient bioreactors for single-cell protein production. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 41(2):58–66.

AVNIMELECH, Y., KOCHVA, M., DIAB, S., 1994. Development of controlled intensive *aquaculture* systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 46(3):119–131.

AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227–235.

AVNIMELECH, Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Research*. 34:172–178.

AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264:140–147.

BAUMGARTEN, M. G. Z.; NIENCHESKI, L.F.; VEECK, L. 2001. Nutrientes na coluna d'água e na água intersticial de sedimentos de uma enseada rasa estuarina com aportes antrópicos (RS – Brasil). *Atlântica*. 23:101-116.

BOYD, C.E.; CLAY, J.W. 1998. Shrimp Aquaculture and the Environment. *Scientific American*. 278(6):58-65.

BOYD, C. E.; CLAY, J.W. 2002. Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Superintensive Shrimp Aquaculture System . Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 17 pp.

BRONK, D. A., GLIBERT, P. M., AND WARD, B. B.1994. Nitrogen uptake, dissolved organic nitrogen release, and new production, *Science*. 265:843-1846.

BROWDY, C.L., BRATVOLD, D., STOKES, A.D., MCINTOSH, R.P. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: BROWDY, C.L., JORY, D.E. (Editores.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, pp. 20–34.

BURFORD, M.A., LONGMORE, A.R., 2001. High ammonium production from sediments in hypereutrophic shrimp ponds. *Marine Ecology. Progress Series* 224, 187–195.

BURFORD, M.A., WILLIAMS, K.C., 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture* 198, 79–93.

BURFORD, M. A., THOMPSON P. J., MCINTOSH R. P., BAUMAN, R. H., PEARSON D. C. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219:393– 411.

BURFORD, M.A., THOMPSON, P.J., MCINTOSH, R.P., BAUMAN, R.H., PEARSON, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zeroexchange system. *Aquaculture* 232:525–537.

CARMOUZE, J. P. 1994. O metabolismo de ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas. FAPESP, São Paulo. p. 253.

CASILLAS-HERNÁNDEZ, R, MAGALLÓN-BARAJAS, F., PORTILLO-CLARCK, G., PÁEZ-OSUNA, F. 2006. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. *Aquaculture* 258: 289–298

CAVALLI, R. O., ZIMMERMANN, S. & RC SPECK. 2004. Growth and feed utilization of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* fed diets containing different marine protein sources. *Ciência Rural*, 34: 891–896.

CHAMBERLAIN, G.W., HOPKINS, S.J. 1994. Reducing water use and feed cost in intensive ponds. *World Aquaculture* 25:29–32.

CHOPIN, T., BUSCHMANN, A.H., HALLING, C., TROELL, M., KAUTSKY, N., NEORI, A., KRAEMER, G.P., ZERTUCHE-GONZÁLEZ, J.A., YARISH, C., NEEFUS, C., 2001. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *J. Phycol.* 37, 975–986.

COPERTINO, M. S. ; TORMENA, THIAGO ; SEELIGER, ULRICH. 2008. Biofiltering efficiency, uptake and assimilation rates of *Ulva clathrata* (Roth) J. Agardh (Clorophyceae) cultivated in shrimp aquaculture waste water. *Journal of Applied Phycology*, p. 1-15, 2008.

CRAB, R., AVNIMELECH, Y., DEFOIRDT, T., BOSSIER, P., VERSTRAETE, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1–14.

CUNNIFF, P. A. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16<sup>th</sup> ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists. 2v. 1998.

CUZON, G., LAWRENCE, G. GAXIOLA, C. ROSAS AND J. GUILLAUME. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235 (1-4): 513-551.

EBELING, J. M., TIMMONS M. B., BISOGNI, J. J. 2007. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257 : 346–358

DAME, R.F. 1996. Ecology of Marine Bivalves: An Ecosystem Approach. CRC Press, New York

FAO, 2006. SOFIA - The State of World Fisheries and Aquaculture. Disponível em <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0699e/a0699e.pdf> acessado em 02/05/2007.

FAO, 2009. SOFIA – The State of Word Fisheries and Aquaculture. Disponível em <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250e/i0250e.pdf> acessado em 01/03/2009.

FENCHEL, T., BLACKBURN, T.H. 1979. Bacteria and Mineral Cycling. Academic Press, London.

FERREIRA, L. M. M. H. M. 2008. Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do camarão-branco *Litopenaeus vannamei*. 44pp. Tese de mestrado. Rio Grande – RS.

FOCHT, D.D., VERSTRAETE, W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Advanced Microbia. Ecology*. 1, 135–211.

FUNGE-SMITH, S. J., BRIGGS, M. R. P. 1998. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds: implications for sustainability. *Aquaculture* 164: 117-133.

GAUDY, A.F., JR., GAUDY, E.T., 1980. Microbiology for Environmental Scientists and Engineers. McGraw-Hill, Nova York, 736 pp.

GLIBERT, P. M., BRONK, D. A. 1994. Release of Dissolved Organic Nitrogen by Marine Diazotrophic Cyanobacteria, *Trichodesmium* spp.t. *Applied And Environmental Microbiology*. 60(11) : 3996- 4000.

GLIBERT P. M., HEIL C. A.; HOLLANDER D.; REVILLA M.; HOARE A.; ALEXANDER J.; MURASKO S. 2004. Evidence for dissolved organic nitrogen and phosphorus uptake during a cyanobacterial bloom in Florida Bay. *Marine ecology. Progress series*. 280:73-83.

GRASSHOFF K., EHRHARDT M., KREMLING K. 1983. Methods of Seawater Analysis, 2nd, Verlag Chemie, Weinheim, 419 p.

HAKANSON, L., CARLSSON, L., JOHANSSON, T. 1998. A new approach to calculate the phosphorus load to lakes from fish farm emissions. *Aquacultural Engineering*. 17(3):149–166.

HARGREAVES, J.A., 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166 (3– 4), 181–212.

HOBBIE, J.E., DALEY, R.J., JASPER, S., 1977. . Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied Environmental. Microbiology* 33:1225–1228.

HOPKINS, J.S., HAMILTON, R.D. II, SANDIFER, P.A., BROWDY, C.L., 1993. The production of bivalve mollusks in intensive shrimp ponds and their effect on shrimp production and water quality. World Aquaculture Society. 24, 74–77.

HUA, K & DP BUREAU. 2006. Modelling digestible phosphorus content of salmonid fish feeds. *Aquaculture*, 254: 455–465.

INTERNATIONAL PRINCIPLES FOR RESPONSIBLE SHRIMP FARMING. 2006. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. 20 pp. Disponível em: <http://library.enaca.org/shrimp/publications/shrimp-principles-2006.pdf> acessado em: 25/12/2008.

JACKSON, C., PRESTON, N., THOMPSON, P. J, BURFORD, M. 2003 Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture*. 218:397– 411

JONES, A.B., PRESTON, N.P. 1999. Oyster filtration of shrimp farm effluent, the effects on water quality. *Aquaculture Research*. 30, 51–57.

JONES, A. B., DENNISON, W. C. PRESTON, N. P. 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. *Aquaculture* 193:155–178.

JØRGENSEN, B.B. 1977. Bacterial sulfate reduction within reduced microniches of oxidized marine sediments. *Mar. Biol.* 41, 7–17.

KAUTSKY, N., RONNBACK, P., TEDENGREN, M., TROELL, M. 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*. 191:145–161.

KEMP, P. F., B.F. SHER., E.B. SHER, J.J. COLE. 1993. Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis 777p.

KIBRIA, G., NUGEGODA, D., LAM, P., FAIRCLOUGH, R. 1996. Aspects of phosphorus pollution in aquaculture . Disponível em: <http://www.csa.com/hottopics/aquacult/biblio40.html> acessado em 03/2008.

KOCHBA, M., DIAB, S., AVNIMELECH, Y. 1994. Modeling of nitrogen transformation in intensively aerated fish ponds. *Aquaculture* 120, 95– 104.

KOROLEFF, F.; PALMORK, K.; ULLTANG, O.; GIESKES, J. M. 1977. The international intercalibration exercise for nutrient methods. Technical Report 67, ICES/SCOR Cooperative Research Report.

LACERDA, L. D., VAISMAN, A. G., MAIA, L. P., SILVA C. A. R., CUNHA, E. M. S. 2006. Relative importance of nitrogen and phosphorus emissions from shrimp farming and other anthropogenic sources for six estuaries along the NE Brazilian coast. *Aquaculture*. 253:433–446.

LIGHTNER, D.V. 1999. The Penaeid Shrimp Viruses TSV, IHNV, WSSV and YHV: Current Status in the Americas, Available Diagnostic Methods and Management Strategies. *Journal of Applied Aquaculture*. 9:27-52.

LORENZEN, K., STRUVE, J., COWAN, V.J. 1997. Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. *Aquaculture Research* 28:493–507.

MANAHAN, D.T., WRIGHT, S.H., STEPHENS, G.C., RICE, M.A. 1982. Transport of dissolved amino acids by the mussel, *Mytilus edulis*: demonstration of net uptake from natural seawater. *Science* 215, 1253–1255.

MARTIN, J. M., VERAN, Y, GUELORGET, O., PHAM D. 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture* 164:35–149.

MOLLER F. E. 2007. Production of dissolved organic carbon by sloppy feeding in the copepods *Acartia tonsa*, *Centropages typicus*, and *Temora longicornis*. *Limnology and Oceanography*. 52:79–84

MONTOYA, RA, AL LAWRENCE, WE GRAND & M VELASCO. 2000. Simulation of phosphorus dynamics in an intensive shrimp culture system: effects of feed formulations and feeding strategies. *Ecological Modelling*, 129: 131–142.

MOSS, S.M. 1999. Biosecure Shrimp Production: Emerging Technologies for a Maturing Industry. *Global Aquaculture Advocate* 2:50-52.

MSUYA, E. F., KYEWALYANGA, S. M., SALUM, D. 2006. The performance of the seaweed *Ulva reticulata* as a biofilter in a low-tech, low-cost, gravity generated water flow regime in Zanzibar, Tanzania. *Aquaculture* 254 : 284–292

NAGLER, P.L., GLENN, E.P., NELSON, S.G., SHERMAN NAPOLEAN, S. 2003. Effects of fertilization treatment and stocking density on the growth and production of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in cage culture at Molokai, Hawaii. *Aquaculture* 219:379–391.

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

NEORI, A., CHOPIN, T., TROELL, M., BUSCHMANN, A.H., KRAEMER, G.P., HALLING, C., SHPIGEL, M., YARISH, C. 2004. Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture* 231, 361–391.

OTOSHI, C. A., SCOTT M. S., NAGUWA, F. C., MOSS, S. M. 2007. Production/Commercial-Scale RAS Trial Yields Record Shrimp Production for Oceanic Institute. Volume 10, 74.

PAERL, H.W., 1984. Alteration of microbial metabolic activities in association with detritus. *BULL. MAR. SCI.* 35,393–408.

PAEZ-OZUNA, R., GUERRERO-GALVAN, A. C., RUIZ-HERNANDEZ, A. C., ESPINOZA-ÂNGULO, R. 1996. Fluxex and Mass Balances of Nutrients in a Semi-Intensive Shrimp Farm in North-Western Mexico. *Marine Pollution Bulletin*. 32(5):290-297.



- PEREIRA, R., YARISH, C., SOUSA-PINTO, I. 2006. The influence of stocking density, light and temperature on the growth, production and nutrient removal capacity of *Porphyra dioica* (Bangiales, Rhodophyta). *Aquaculture* 252, 66–78.
- POMEROY, L.R., HASKIN, H.H. 1954. The uptake and utilisation of phosphate ions from sea water by the American oyster *Crassostrea Íirginica\_Gmel...* Biol. Bull. 107, 123–129.
- PORRELLO, S., LENZI, M., PERSIA, E., TOMASSETTI, E., FINOIA, M. G. 2003 Reduction of aquaculture wastewater eutrophication by phytotreatment ponds system I. Dissolved and particulate nitrogen and phosphorus. *Aquaculture*. 219:515–529.
- PORTER, K. G., FEIG, S. Y. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microfloral. *Limnol. Oceanogr.*, 25:943-948
- PROENÇA, L.A.O. 1990. Ciclo anual da produção primária, biomassa do fitoplâncton e carbono orgânico particulado em área rasa da porção sul da Lagoa dos Patos. Tese de Mestrado em Oceanografia Biológica, FURG, Rio Grande, RS, 81p
- SHPIGEL, M., NEORI, A., POPPER, D.M., GORDIN, H. 1993. A proposed model for Aenvironmentally clean land-based culture of fish, bivalves and seaweeds. *Aquaculture* 117, 115–128.
- REDFIELD, A.C.; KETCHUM B. H. & RICHARDS F.A 1963. The influence of organisms on the composition of sea-water em HILL, M. H. (editor), The sea. Interscience, Nova Iorque. P. 26 – 77.
- RISHEL L. R. & EBELING, J. M. 2006. Screening and Evaluation of Alum and Polymer Combinations as Coagulation/Flocculation Aids to Treat Effluents from Intensive Aquaculture Systems. *Journal of World Aquaculture Society*. 37(2):191-199.
- ROCHA, I.P., RODRIGUES, J., AMORIN, L. 2004. The Brazilian shrimp culture in 2003. *Brazilian Association of Shrimp Rearing Magazine*. 6(1):30-36.

ROSENSTOCK, B. AND SIMON, M. 2001. Sources and sinks of dissolved free amino acids and protein in a large and deep mesotrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 46, 644–654.

SAMOCHA, T.M., PATNAIK, S., GANDY, R.L., 2004. Heterotrophic intensification of pond shrimp production. Book of abstract of Fifth International Conference on Recirculating Aquaculture, 22– 25 July 2004, Roanoke, Virginia, USA.

SAMOCHA, T. M., PATNAIK, S., SPEED, M., BURGER, J. M., ALMEIDA, V., AYUB, Z., HARISANTO, M, HOROWITZ, A., BROCK, D. L. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and growth-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 36: 184–191.

SCHWAB, B., M. & LEHMANN, B. 2003. Key Management Challenges for the Development and Growth of a Shrimp Farm in Northeast Brazil: A Case Study of Camanor Produtos Marinhos Ltda. Report prepared under the World Bank, NACA,

SENA S. S., THUY T. T. N., NIGEL W. A., UPALI S. A. 2006. An evaluation of the role and impacts of alien finfish in Asian inland aquaculture. *Aquaculture Research*. 37:1-17

SMITH, V.H.1983 Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*, 221: 669–671

STRICKLAND, J.L.H.; PARSONS, T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board. Can. Bull., Ottawa, p.167.

TACON, A.G.J., CODY, J., CONQUEST, L., DIVAKARAN, S., FORSTER, I.P.,DECAMP, O. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*. 8:121–137.

THAKUR, D. P.; LIN, K. C. 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* 27:159 - 176.

THOMAN, E. S., INGALL, E. D., DAVIS A. D., ARNOLD, R. C. 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering*. 24:195 – 211.

THOMPSON F.L., ABREU P.C., WASIELESKY W.J. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture *Aquaculture* 203: 263-278.

TITELMAN, J., RIEMANN, L., HOLMFELD, K., NIELSEN, T. 2008. Copepod feeding stimulates bacterioplankton activities in a low phosphorus system. *Aquatic biology* 2: 131–141.

TUCKER, C. S., 2000. Off-Flavor Problems in Aquaculture. *Reviews in Fisheries Science*. 8:45-88.

UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Paris, France: Intergovernmental Oceanographic Commission. Manual and guides,12.

VALDERRAMA, J.C. 1981. The Simultaneous Analysis of Total Nitrogen and Total Phosphorus in Natural Waters. *Marine Chemistry*. 10(2): 109-122.

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

VANWYK, P., SCARPA, J. 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, pp. 128–138.

VREDE, K., HELDAL, M., NORLAND, S., BRATBAK, G. 2002 Elemental Composition (C, N, P) and Cell Volume of Exponentially Growing and Nutrient-Limited Bacterioplankton. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(6): 2965–2971

WASIELESKY JR., W., M. A. MARCHIORI & M.H. SANTOS. 1994. Efeito da amônia no crescimento de pós-larvas do camarão-rosa *Penaeus paulensis* PérezFarfante, 1967 (Decapoda: Penaeidae). *Nauplius*, 2:99-105.

WASIELEWSKY Jr, W. 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: efeitos de parâmetros ambientais e manejo de cultivo. Rio Grande, FURG. 199p. (Tese de Doutorado)

WEIRICH, C.R., C.L., BROWDY, D. BRATVOLD, B.J. MCABEE, AND A.D. STOKES. 2002. Preliminary characterization of a prototype minimal exchange super-intensive shrimp production system. Pages 255-270 in Proceedings of the IVth International Conference on Recirculating Aquaculture. Virginia Tech University, Blacksburg, Virginia, USA.

WELSCHMEYER, N.A. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and phaeopigments. *Limnol. and Ocean.* 39 (8):1985-1992

WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, A STOKES & CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396–403.

WICKINS, J.F. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture* 9, 19–37.

WIKIPÉDIA – A enciclopédia livre. Disponível em <http://pt.wikipedia.org/wiki/Eutrofização> acessado em: 02/2009.