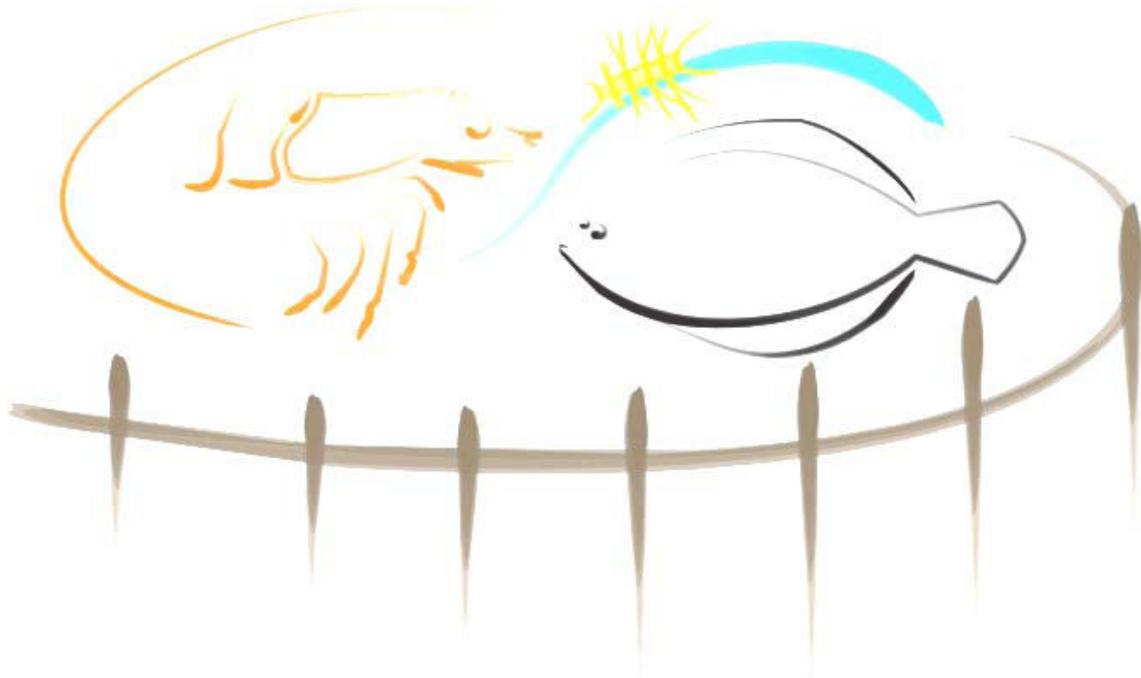


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE**  
**INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**



**O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bio-flocos e desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água**

**SABRINA MEDEIROS SUITA**

**FURG**  
**RIO GRANDE, RS.**  
**2009**

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

O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bio-flocos e desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água

SABRINA MEDEIROS SUITA

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

**Orientador:** Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr.

**Co-orientador:** Prof. Dr. Paulo César Abreu

Rio Grande – RS – Brasil

Março, 2009

## Índice

<b>RESUMO</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>1. Introdução</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Objetivo geral</b> .....	<b>7</b>
2.1. Objetivos específicos: .....	7
<b>3. Metodologia</b> .....	<b>8</b>
3.1. Local do experimento .....	8
3.2. Desenho experimental .....	8
3.3. Adição de Carbono .....	9
3.3.1. Fase 1 .....	9
3.3.2. Fase 2 .....	9
3.4. Medidas dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água .....	10
3.5. Nitrogenados e Fosfato .....	10
3.6. Sólidos suspensos totais e Volume dos Flocos .....	10
3.7. Clorofila - $\alpha$ e Carbono orgânico dissolvido .....	11
3.8. Comunidade microbiana .....	11
3.9. Análise Proximal .....	12
3.10. Desempenhos dos camarões .....	12
3.12. Análises Estatísticas .....	13
<b>4. Resultados:</b> .....	<b>14</b>
4.1. Concentração de carbono e nitrogênio .....	14
4.2. Parâmetros físicos e químicos da água .....	14
4.3. Clorofila - $a$ .....	18
4.4. Adição de Carbono .....	18
4.5. Volume dos Flocos microbianos .....	19
4.6. Sólidos em Suspensão totais .....	20
4.7. Análise Proximal dos Bio-Flocos .....	20
4.8. Desempenho dos camarões .....	21
4.8.1. Análise Proximal dos camarões .....	22
4.9. Microrganismos .....	22
4.9.1 Protozoários e Microalgas .....	22
4.10. Dados básicos de custos .....	27
<b>5- Discussão</b> .....	<b>28</b>
<b>6- Conclusões e considerações finais:</b> .....	<b>37</b>
<b>7. Referências Bibliográficas</b> .....	<b>38</b>

*Dedico aos meus pais e irmãos*

## *AGRADECIMENTOS*

*Agradeço em primeiro lugar a minha família, meus pais, Edson e Sandra e meus irmãos Priscila e Junior, por me apoiarem e proporcionarem oportunidades. Ao Sêca por alegrar nossas vidas.*

*Ao meu orientador Prof. Wilson Wasielesky e co-orientador Prof. Paulo Cesar Abreu pela disposição e paciência em ensinar e pela confiança depositada.*

*Ao Eduardo Ballester pela grande e imprescindível ajuda, e muitos ensinamentos proporcionados nestes dois anos de convivência.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura e toda equipe que faz a Estação Marinha de Aqüicultura (EMA) funcionar, entre eles Sr. Hermes, Pita, Lina, Zezinho, Getúlio, Anderson, Marcelo, Sandro, Nero e toda equipe de vigilância.*

*Ao Laboratório de Fitoplâncton e Ecologia de Microrganismos Marinhos.*

*Ao Cauê Targot pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.*

*A todos os amigos que fazem parte do Projeto Camarão Adri, Gabi, Charles, Geraldo, Diogão, Dariano, Plínio, Juscilaine, Kássio, Manuel, André, Paula, Tati, Prof. Luis Poersch (Mineiro)...enfim, á todos que, de uma forma ou outra, ajudaram na conclusão deste trabalho. Também agradeço aos demais colegas da Estação, Prof. Kleber Miranda (Klebinho), Okamoto, Ricardo, Shei, Cristina, Viviana, Cauê, Artur, Eduardo Martins, Marcondes, Sergião, Carol (Manaus), Léa, Renatão... Também aos amigos de Pernambuco (Felipe, Daniel e Marcelinho).*

*E falando em colegas da Estação...agradecimento especial á toda diretoria da Equipilantra...*

*Agradeço também a todas minhas amigas que convivem comigo fora da EMA e tornam minha vida MUITO mais animada, Em especial a Cilene e Tatiane Penteado ...E por falar em amizade...Não deixaria de agradecer a duas grandes amigas: Adriana e Gabi de Iaraará!! Não importa onde estivermos...México...Floripa.... sempre o bom e velho chimarrão e as boas gargalhadas serão lembradas...Amo vocês!!*

*Enfim, obrigado a todos!!!*

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bio-flocos, além da sua contribuição para manutenção da qualidade da água e para o desempenho de juvenis de camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivados em sistemas super-intensivos sem renovação de água. Foram empregados dois tratamentos Dextrose e Melaço com quatro repetições cada. A adição de carbono foi realizada mantendo-se uma relação C:N de 20:1 e C-N-AT de 6:1. Os parâmetros físicos e químicos da água como temperatura, pH, salinidade, oxigênio dissolvido e transparência (Secchi) foram monitorados diariamente. O crescimento dos camarões foi monitorado mediante biometrias periódicas. Ao final do experimento os camarões remanescentes em cada tanque foram contados para determinar a taxa de sobrevivência e a biomassa produzida em cada tratamento. A taxa de conversão alimentar foi calculada a partir do ganho de peso e da quantidade de ração consumida pelos camarões. Durante o experimento amostras foram coletadas a cada três dias para avaliar carbono orgânico dissolvido, clorofila-*a*, sólidos em suspensão, volume dos flocos e as concentrações de amônia, nitrito, nitrato e fosfato. A composição de microrganismos presentes na água e nos flocos microbianos foram quantificados e qualificados por grupos. Os parâmetros de qualidade de água mantiveram-se dentro de faixa aceitável para o cultivo desta espécie. A transparência da água do cultivo parece ter tido influência sobre o desempenho da comunidade microbiana. Pode-se verificar que ambos os tratamentos tiveram mesmo desempenho no controle de amônia, embora a formação dos bio-flocos tenha ocorrido com maior antecedência no tratamento Melaço. Ainda que para formação de bio-flocos tenham ocorrido diferenças nas duas primeiras semanas experimentais, pode-se notar um melhor desempenho dos camarões no tratamento com uso de dextrose, contudo, os altos níveis de nitrito podem ter causado baixas taxas sobrevivências e peso médio final em ambos os tratamentos. A partir dos dados obtidos no presente estudo, pode-se sugerir que o uso da dextrose, como fonte de carbono possa proporcionar melhores índices zootécnicos para o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas super-intensivos sem renovação de água.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of dextrose as carbon source in bio-flocs development, as well as, its contribution to water quality maintenance and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared in super-intensive system without water exchange. They were used two treatments, dextrose and molasses, with four replicates each. The carbon addition was carried out maintaining a C:N ratio of 20:1 and a C:TA-N ratio of 6:1. The physical and chemical water parameters, as temperature, pH, salinity, dissolved oxygen and transparency (Secchi) were daily monitored. The shrimps growth was monitored through periodic biometries. At the end of experiment, the remaining shrimps in each tank were counted to determine the survival rate and the biomass produced in each treatment. The feed conversion rate was calculated through the weight gain and the amount of consumed feed. During the experiment, they were collected samples, every three days, to evaluate the concentrations of dissolved organic carbon, chlorophyll *a*, suspended solids, flocs volume, ammonia, nitrite, nitrate and phosphate. The microbial composition present in the water and in the microbial flocs was quantified and classified by groups. The water quality parameters were within the acceptable range for the species rearing. The water transparency seemed to influence the microbial community performance. It was verified that both treatments demonstrated same performance on ammonia control, although, bio-flocs formation has earlier occurred in molasses treatment. Although differences have occurred in bio-flocs formation, during the first two experimental weeks, it was noted better shrimps performance in dextrose treatment, however, the high nitrite levels may have caused low survival rate and final weight in both treatments. The data obtained in this study suggest that the dextrose use, as carbon source, can provide better zootechnical indexes for the culture of *Litopenaeus vannamei* in super-intensive system without water exchange.





## 1. Introdução

O declínio dos recursos pesqueiros, causado em parte pela pesca desordenada, faz da maricultura uma importante ferramenta na produção de pescado e na geração de empregos e renda para as comunidades costeiras. A boa qualidade dos produtos oriundos da pesca, especialmente camarões, tem alcançado altos valores de mercado, contribuindo para a geração de uma nova ordem econômico-social para a população litorânea. Também, o fato do pescado ser importante fonte de nutrientes como minerais, ácidos graxos essenciais e proteína, torna seu consumo um hábito benéfico à saúde, o que incentiva o crescimento desta atividade no mundo (FAO 2009).

Embora sejam reconhecidos os benefícios da maricultura, sabe-se que a produção intensiva de organismos aquáticos pode gerar deterioração de ecossistemas costeiros, devido à liberação de efluentes, salinização de corpos de água, danos pela introdução de espécies exóticas, poluição química e disseminação de doenças (Boyd 2003).

Goldburg & Naylor (2005) alertam para o fato de que o crescimento da aquicultura em zonas costeiras poderá causar alterações nos estoques pesqueiros, na economia da pesca e também transformar a dinâmica dos oceanos, sendo o impacto semelhante ao da agricultura. Estes autores enfatizam que uma visão futura para ecossistemas marinhos irá, certamente, exigir interação entre políticas governamentais de manejo da pesca, fazendas de cultivo e racionalização do uso dos recursos naturais.

Tendo em vista esta problemática, pesquisadores do Waddel Mariculture Center (Carolina do Sul – EUA), na década de 90, iniciaram estudos visando desenvolver cultivos com renovação limitada de água. Na década seguinte estudos com mínima troca de água mostraram que poderia haver redução no risco de introdução e expansão de epidemias virais e bacterianas (McIntosh *et al.* 2000). Portanto pesquisas com esse enfoque vêm alcançando âmbito e sendo aplicadas em diversas fazendas ao redor do mundo (Wasielesky *et al.* 2006a).

Assim, o desenvolvimento de sistemas de cultivo denominados “ZEAH”, (Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems), prezam pelo menor uso de água, racionalizando a emissão de efluentes para o ambiente, conseqüentemente agem atenuando o risco de danos ambientais (McIntosh *et al.* 2000, Burford *et al.* 2003).

Este tipo de sistema também pode ser denominado de bio-flocos, já que existe a formação dos agregados microbianos, ricos em proteína e outros nutrientes, que podem

ser utilizadas como fonte de alimento para os organismos cultivados, além de manter uma boa qualidade da água pela absorção da amônia. Desta forma é possível diminuir a demanda de proteína utilizada na ração, além de contribuir com a manutenção da qualidade da água (Avnimelech 1999, McIntosh *et al.* 2000, Burford *et al.* 2003, Hari *et al.* 2004, Crab *et al.* 2007).

De acordo com Avnimelech (1999) a manipulação da razão carbono-nitrogênio (C:N) pode acelerar os processos de retirada do nitrogênio inorgânico de uma forma mais acelerada que a nitrificação, diminuindo rapidamente as concentrações de amônia dissolvida na água (Azim & Little 2008). Para que as bactérias possam usar este excedente de amônia, é necessária a aplicação de alguma fonte de carbono orgânico no sistema, este carbono possibilita a transformação do nitrogênio inorgânico em proteína microbiana (Avnimelech 1999, Hari *et al.* 2004, Ebeling *et al.* 2006, Samocha *et al.* 2007).

Wasielesky *et al.* (2006b) sugerem a utilização de melaço de cana de açúcar, para promover a formação dos flocos e balancear as proporções C:N. O melaço funciona como fonte de C auxiliando na conversão do N em proteína (Burford *et al.* 2003), sendo um instrumento efetivo no controle de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e amônia (N-AT) (Samocha *et al.* 2007). Emerenciano *et al.* (2006) recomendam que sejam realizados mais estudos avaliando outras fontes de carbono, bem como relação C:N adequada para a formação dos bio-flocos.

Diferentes formas de carboidratos podem ser usadas como fonte de carbono, sendo mais comumente utilizado o melaço (na forma líquida ou em pó). A dextrose é um carboidrato simples, industrialmente obtido através do amido (Lehninger 1995). Esta pode ser uma alternativa de uso nos cultivos super intensivos de camarões sem troca de água. Pelo fato deste produto ser um açúcar simples e sua forma de comercialização ser mais refinada, acredita-se que possa facilitar a dissolução do carbono no meio permitindo o crescimento bacteriano. Além disto, supõe-se que a utilização deste açúcar possa proporcionar menor turbidez da água, em comparação ao melaço, melhorando o manejo do sistema.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização da dextrose como fonte de carbono para formação dos bio-flocos e sua ação no desempenho dos camarões e no controle de amônia em comparação com o melaço, tradicionalmente utilizado em cultivos com sistemas “ZEAH”.

## **2. Objetivo geral**

Avaliar o efeito da dextrose na produção de agregados microbianos (bio-flocos) e sua contribuição na qualidade da água e no crescimento de juvenis de camarão-branco *L. vannamei* cultivados em sistemas super-intensivos sem renovação de água.

### **2.1. Objetivos específicos:**

1. Comparar a formação dos flocos microbianos em tratamentos com utilização de melação ou dextrose como fonte de carbono.
2. Quantificar microorganismos presentes no meio de cultivo.
3. Monitorar os parâmetros físicos e químicos da água do cultivo.
4. Avaliar o desempenho dos camarões cultivados.

### **3. Metodologia**

#### **3.1. Local do experimento**

O experimento foi realizado no período compreendido entre 25 de Abril e 25 de Maio de 2008, na Estação Marinha de Aqüicultura Prof. Marcos Alberto Marchiori – EMA, localizada na praia do Cassino, Rio Grande, RS, Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

#### **3.2. Desenho experimental**

Foram utilizados como unidades experimentais oito tanques de PVC com capacidade de 310 litros e volume útil de 163 litros, distribuídos em dois tratamentos (Dextrose e Melaço) com quatro repetições cada (Figura 1). A água utilizada para o experimento foi bombeada da praia do Cassino, filtrada por filtro de areia e posteriormente por cartucho com 5 µm de poro.

As unidades experimentais foram mantidas sem renovação ou recirculação de água (sistema estático), providas por aeração individual, sendo que cada unidade experimental possuía um círculo de mangueiras com quatro pedras porosas, acopladas a canos de PVC, este sistema foi abastecido por um soprador central da estação marinha. Após o enchimento dos tanques foi adicionado a microalga *Thalassiosira weissflogii* na densidade de  $6 (\pm 1) \times 10^4$  células/ml. A estocagem dos camarões foi realizada imediatamente após a adição das microalgas, sendo estocados 110 camarões por unidade experimental, o equivalente a uma densidade de 300 camarões/m<sup>2</sup>.

A espécie utilizada foi o camarão-branco *Litopenaeus vannamei*, provenientes da empresa Aquatec® LTDA (Rio Grande do Norte). Os camarões foram previamente mantidos em um berçário no laboratório, por um período aproximado de 30 dias, até atingirem peso médio de  $1,44 \pm 0,33$  (g), para o início do experimento.

A ração (38% Proteína bruta – Guabi® - Potimar) foi fornecida em bandejas de alimentação, conforme metodologia descrita por Wasielesky *et al.* (2006 b). A taxa de arraçoamento inicial foi de 6,5% da biomassa total dos camarões por tanque, dividida em duas alimentações diárias. Após 6 dias de experimento o percentual da ração oferecida foi elevada para 7,5% da biomassa, conforme recomendado por Jory *et al* (2001), esta taxa foi mantida até o encerramento do experimento.



Figura 1: Unidades experimentais providas de aeração, utilizadas ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei*, em sistemas de bio-flocos.

A reposição do volume de água evaporada das unidades experimentais foi feita a cada dois dias, através da adição de água da companhia de abastecimento da cidade de Rio Grande (CORSAN), previamente declorada.

### 3.3. Adição de Carbono

Análises prévias da ração, dextrose, melão e farelo de trigo foram realizadas no Laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande, para determinação do teor de carbono e nitrogênio com uso do equipamento “CHN Analyser” (PerkinElmer® Serie PE 2400).

A adição de carbono orgânico para formação do floco microbiano foi dividida em duas fases descritas a seguir:

#### 3.3.1. Fase 1

Durante os três primeiros dias experimentais foi adicionado carbono orgânico, na forma de dextrose ou melão, e farelo de trigo, a fim de fornecer substrato inicial para o crescimento de bactérias heterotróficas. Para tanto, foi empregada uma relação de 20:1 (C:N) (Avnimelech 1999). Esta razão foi estabelecida a partir da quantidade de nitrogênio que era adicionado no sistema via ração, quando então foram calculadas as quantidades de carbono necessárias para equilibrar a razão C:N. O farelo de trigo foi empregado como substrato para formação dos bio-flocos, desta forma, foi adicionado em uma proporção de 5% do total de fertilizantes orgânicos fornecidos.

#### 3.3.2. Fase 2

A partir do quarto dia experimental, a adição dos fertilizantes orgânicos (dextrose e melão) foi realizada sempre que a concentração de amônia no sistema ultrapassou a concentração de 1mg/L, mantendo relação C:N-AT de 6:1, onde 6g de

carbono são necessárias para converter 1g de nitrogênio total na forma de amônia (N-AT) em proteína microbiana (Ebeling *et al.* 2006).

Para calcular a quantidade de fertilizantes adicionados para mobilizar o nitrogênio amoniacal foram estabelecidos os seguintes cálculos:

$$\text{N-AT (g)} = \text{Volume do tanque (L)} * \text{N-AT (mg/L)} / 1000.$$

$$\text{Carbono (g)} = 6 * \text{N-AT (g)}$$

**Fertilizante (g)** = (x) \* carbono (g), onde (x) é a quantia de carbono existente por grama de fertilizante.

### **3.4. Medidas dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água**

Uma vez ao dia, pela manhã, foram monitoradas a concentração de oxigênio dissolvido, com uso de oxímetro digital (Handylab OXI/SET, Schott) e temperatura, com uso de termômetro de mercúrio e transparência da água, com uso de disco de Secchi. A cada dois dias foi medida a salinidade com uso de refratômetro óptico (Atago). O pH das unidades experimentais foi verificado, uma vez ao dia (9:00h) com auxílio de pH-metro digital (DMpH-1, Digimed). A alcalinidade (mg/L de CaCO<sub>3</sub>) foi verificada a cada três dias.

### **3.5. Nitrogenados e Fosfato**

Coletas de água para análise de amônia (N-(NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)) foram realizadas a cada dois dias e para análise de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e fosfato (P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) a cada três dias (UNESCO, 1983). A verificação dos níveis de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foi realizada semanalmente (Strickland & Parsons 1972).

Todas as coletas foram realizadas por filtração de amostra de água de cada repetição em filtros de fibra-de-vidro GF50-A (Schleicher & Schuell- 47±0,5 mm Ø), utilizando bomba de vácuo (Diapump®). As amostras foram posteriormente enviadas para análise no Laboratório de Química da EMA- FURG.

### **3.6. Sólidos suspensos totais e Volume dos Flocos**

O peso dos sólidos suspensos totais (mg/L) foi determinado por gravimetria mediante filtragem de alíquotas de 50 mL de água em filtros de fibra de vidro GF 50-A (Schleicher & Schuell- 47±0,5 mm Ø). Os filtros foram colocados previamente para secar em estufa a 60°C por 24 horas e, posteriormente, após a filtragem, recolocados em estufa e pesados em balança analítica de precisão (Sartorius MC1, analytic AC 210S)

até atingir peso constante para determinação de peso final. O valor dos sólidos foi estimado pela diferença entre o peso inicial e final de cada filtro (AOAC, 2000).

O volume total dos flocos (ml/L) foi obtido com uso de cones Imhoff, para tal amostras individuais de um litro de água, de cada unidade experimental, foram colocadas em cones plásticos por vinte minutos, e posteriormente, foi verificado o conteúdo de flocos sedimentáveis (Avnimelech 2007).

### **3.7. Clorofila - $\alpha$ e Carbono orgânico dissolvido**

A concentração de clorofila  $\alpha$  foi determinada, a cada três dias, a partir de amostras de 50 mL de água do cultivo filtrada em microfiltros GF 50-A de fibra-de-vidro (Schleicher & Schuell-  $47 \pm 0,5$  mm  $\varnothing$ ). A extração da clorofila foi realizada mediante imersão dos filtros em 10 mL de acetona 90%, acondicionados em frascos escuros e mantidos em congelador ( $-12^{\circ}\text{C}$ ). Após um período de 24 horas foi realizada a leitura da concentração de clorofila  $\alpha$ , com uso de fluorímetro Turner TD700. As análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos da FURG (Welschmeyer 1994).

A determinação de carbono orgânico dissolvido foi realizada mediante coletas de água três vezes por semana, utilizando-se a mesma metodologia de amostragem descrita para clorofila- $\alpha$ , e, posteriormente analisados pelo princípio “*NPOC Analysis*” (TOC-V CPH) no laboratório de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas (FURG).

### **3.8. Comunidade microbiana**

Para caracterização e quantificação da comunidade microbiana presentes nos flocos microbianos e na água do cultivo foram coletados amostras de água de cada tanque. As amostras eram fixadas em formalina 4%, mantidos em frascos âmbar para posterior contagem e identificação de grupos de microorganismos presentes.

Para determinação da abundância de bactérias, as amostras fixadas foram filtradas em filtros de membrana de polycarbonato (Nucleopore,  $0,2$   $\mu\text{m}$  de poro e  $2,5$  mm de diâmetro) e coradas com Laranja de Acridina 1%, na concentração de  $1$   $\mu\text{g/mL}$  (Hobbie *et al.* 1977).

As bactérias foram fotografadas com uso de câmera fotográfica acoplada a microscópio de epifluorescência, Zeiss Axioplan, com um conjunto de filtros de luz 487709 (BP3450-490, FT510, LP520) com magnificação de 1000X, para posterior

contagem de 30 campos escolhidos aleatoriamente, com auxílio do programa computacional “*Image tool*” versão 3.00.

Para contagem de ciliados, flagelados e microalgas foi utilizado o microscópio invertido Zeiss Axiovert com magnificação de 400 x, onde alíquotas de 0,5 mL de amostra foram colocadas em câmara de sedimentação e 50 campos aleatórios foram contados (Utermohl, 1958). Os microorganismos foram enquadrados em grupos diferenciados por tamanho. A quantificação da comunidade microbiana foi feita apenas para os dias experimentais (9, 15 e 21), baseado nas concentrações de carbono orgânico dissolvido e N-AT. Todas as contagens foram feitas no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos da FURG.

### **3.9. Análise Proximal**

Amostras dos camarões e dos flocos microbianos foram coletadas no último dia experimental e enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) para determinação de teor de proteína bruta, fibras, extrato etéreo, cinzas e matéria seca (AOAC 1984).

Para coleta do floco, a água de cada tanque foi filtrada com auxílio de peneira com malha de 50 µm e separadas em duas amostras diferenciadas por tratamento.

### **3.10. Desempenhos dos camarões**

Uma biometria inicial (n=100) foi realizada para selecionar camarões para estocagem, estimando peso médio e biomassa de camarões por tanque. Posteriormente, no 15º e no 30º dia experimental (final), foram pesados 30 camarões de cada tanque para determinar o crescimento dos camarões de cada tratamento. A sobrevivência foi determinada através da contagem dos camarões remanescentes em cada tanque ao final do cultivo. A taxa de sobrevivência foi estimada pela diferença entre o número de indivíduos estocados no dia 0 e número de sobreviventes no dia 30 multiplicado por 100 (%). A taxa de conversão alimentar aparente (TCA) foi calculada de acordo com a fórmula:

$$TCA = RF/B_f - B_i$$

Onde: **TCA**= Taxa conversão alimentar aparente, **RF**= quantidade de ração fornecida, **B<sub>f</sub>**= Biomassa final, **B<sub>i</sub>**= Biomassa inicial.

### **3.11. Dados básicos de custos**

Foi realizada pesquisa local de custos básicos com obtenção dos fertilizantes orgânicos (dextrose e melão) e estimada a quantidade (g) de fertilizante adicionado ao longo de todo período experimental para conversão de N-AT em ambos os tratamentos.

### **3.12. Análises Estatísticas**

Os testes estatísticos foram aplicados após serem verificadas as condições de homocedasticidade das variâncias e a normalidade da distribuição dos dados, para isto foram aplicados os testes *Kolmogorov-Smirnov* e *cochran c*. O desempenho dos camarões nos diferentes tratamentos foi avaliado mediante teste “t” ( $\alpha = 0,05$ ). Para verificar se as diferenças entre as médias dos tratamentos, para parâmetros de qualidade de água, foram significativas estatisticamente ( $\alpha = 0,05$ ), foi aplicado o teste de Tukey HSD (Sokal & Rohlf 1969), com ANOVA duas vias (tempo x tratamento). Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa STATISTICA® versão 6.0.

#### 4. Resultados:

##### 4.1. Concentração de carbono e nitrogênio

As concentrações (%) de carbono e nitrogênio obtidos com equipamento de análise elementar “CHN Analyser” são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Percentual de carbono e nitrogênio mensurados com base em matéria úmida dos fertilizantes (dextrose, melação e farelo-de-trigo) e ração, em cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Fonte C/N	% C	% N
Ração	41	6,9
Farelo de trigo	42	2,83
Dextrose	40	0,18
Melação	31	0,79

##### 4.2. Parâmetros físicos e químicos da água

As médias dos parâmetros físicos e químicos obtidos para os tratamentos Dextrose e Melação ao longo do cultivo são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Média  $\pm$  dp dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água, dos tratamentos Dextrose e Melação, em cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Tratamento	Dextrose	Melação
Temperatura (°C)	26,23 $\pm$ 3,55 <sup>a</sup>	26,52 $\pm$ 3,56 <sup>a</sup>
pH	7,94 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	7,95 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>
O <sub>2</sub> D(mg/l)	7,08 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	7,07 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>
Salinidade	34,28 $\pm$ 0,94 <sup>a</sup>	34,3 $\pm$ 0,93 <sup>a</sup>
Transparência (cm)	16,59 $\pm$ 3,59 <sup>a</sup>	10,56 $\pm$ 3,19 <sup>b</sup>
Alcalinidade (CaCO <sub>3</sub> /mg/l)	126,59 $\pm$ 33,7 <sup>a</sup>	143,86 $\pm$ 34,01 <sup>b</sup>

A temperatura ao longo do cultivo não diferiu estatisticamente (p=1,000) entre os dois tratamentos. Porém, observou-se variações ao longo do tempo para cada tratamento no 5º dia experimental, pois a chegada de uma frente fria causou queda significativa (p=0,020413) das temperaturas do cultivo, mantendo-as em torno de 17°C. No entanto, a instalação de aquecedores elétricos, no dia seguinte, favoreceu um

significativo aumento ( $p=0,000024$ ) mantida constante até o final do período experimental.

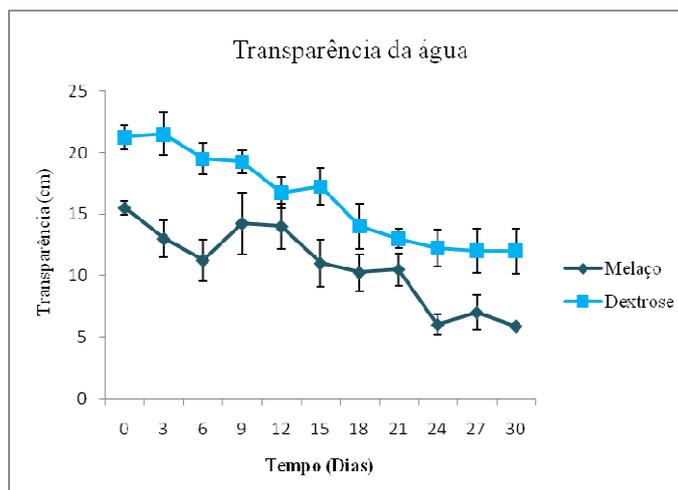
As baixas temperaturas registradas no 5º dia foram responsáveis pela elevação significativa das concentrações de  $O_2$  em ambos os tratamentos, Dextrose ( $p=0,000142$ ) e Melaço ( $p=0,0116445$ ). Contudo, a partir do 6º dia registrou-se queda significativa ( $p=0,000142$ ), porém mantendo níveis médios acima de 6,5 mg/L até o encerramento do estudo. Para as concentrações de oxigênio dissolvido na água não foram detectadas diferenças significativas entre os dois tratamentos ( $p=0,384$ ).

Entre os valores de pH não foram constatadas diferenças significativas para os tratamentos Dextrose e Melaço ( $p=0,497$ ). Estas concentrações variaram significativamente ao longo do tempo em ambos os tratamentos, apresentando queda significativa ( $p=0,000058$ ) a partir do 15º dia até o final do período experimental.

Não foram constatadas diferenças estatísticas para salinidade entre os tratamentos ( $p=0,564$ ) e ao longo do período experimental houve aumento significativo no 13º dia ( $p=0,000025$ ), mantendo-se constante até o encerramento do estudo.

Para alcalinidade foram constatadas diferenças significativas entre os dois tratamentos nos dias 12 ( $p=0,0019195$ ), 18 ( $p=0,004549$ ), 21 ( $p=0,019195$ ) e 30 ( $p=0,000166$ ). Ao longo do tempo, pode-se verificar queda significativa nos dias 15 ( $p=0,000237$ ), 18, 21 e 27 ( $p=0,000166$ ) para o tratamento Dextrose e 18, 21 ( $p=0,000166$ ) e 27 ( $p=0,000237$ ) para o tratamento Melaço. Contudo, as concentrações de alcalinidade (mg/L  $CaCO_3$ ) no tratamento com aplicação de melaço mantiveram-se mais altas do que no tratamento Dextrose ao longo de todo cultivo.

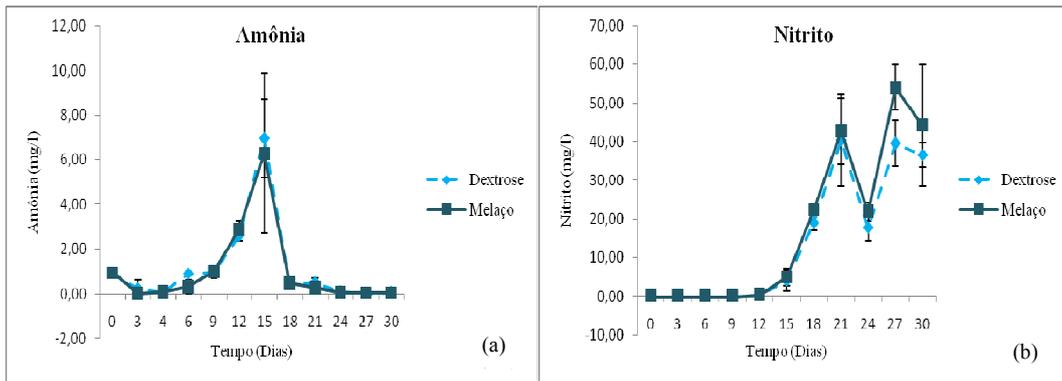
Os valores de transparência da água foram significativamente diferentes entre os tratamentos ao longo de todo período experimental, havendo interação significativa entre tempo e tratamento Melaço. No último dia experimental as médias de transparência do tratamento Melaço foram significativamente menores ( $p=0,000036$ ) do que no tratamento Dextrose, conforme mostra Figura 2. Ao longo do tempo ocorreram quedas significativas nos valores médios de transparência para o tratamento Melaço nos dias 3 ( $p=0,000678$ ) e 24 ( $p=0,018162$ ), e no tratamento Dextrose houveram quedas significantes apenas a partir do 18º dia de estudo ( $p=0,000026$ ).



Figuras 2: Transparência média da água (cm)  $\pm$  dp, ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Para as concentrações de amônia os tratamentos Dextrose e Melaço foram semelhantes estatisticamente durante todo o estudo ( $p=0,443$ ). Havendo um significativo aumento nos níveis de amônia no 15º dia para ambos os tratamentos, Dextrose ( $p=0,000181$ ) e Melaço ( $p=0,000212$ ) e posterior queda no 18º dia ( $p=0,000181$ ), conforme Figura 3 (a).

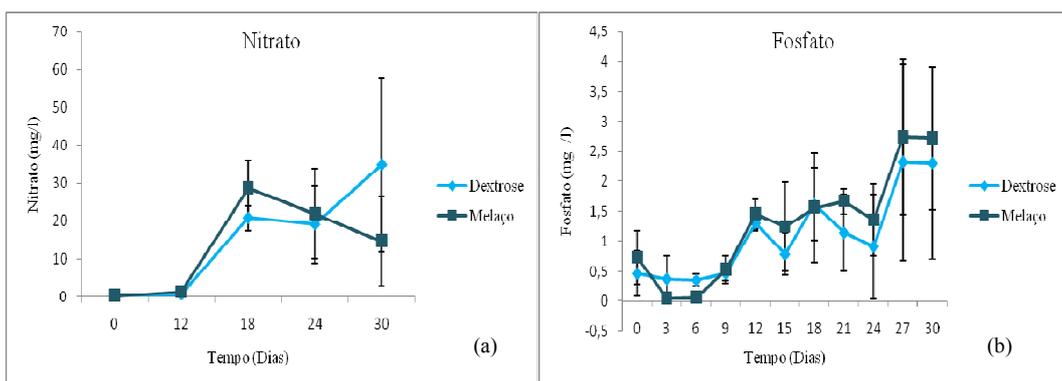
As concentrações de nitrito tiveram aumento significativo a partir do 18º dia de experimento para os tratamentos Dextrose ( $p=0,015261$ ) e Melaço ( $p=0,001806$ ), apresentando variações até o encerramento do estudo, quando demonstraram ser similares estatisticamente ( $p=0,865661$ ). Os tratamentos apresentaram diferenças estatísticas apenas no 27º dia ( $p=0,24040$ ), quando o tratamento Melaço apresentou maiores médias na concentração de N-NO<sub>2</sub>, do que o tratamento com Dextrose, conforme mostra Figura 3 (b).



Figuras 3: Concentrações médias  $\pm$  dp de (a) nitrogênio na forma de amônia total (N-AT) e (b) nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Os valores de nitrato apresentaram aumento significativo ( $p=0,015047$ ) a partir do 18º dia de experimento no tratamento Melaço. Embora não tenham sido constatadas diferenças entre os tratamentos ( $p=0,572$ ), observou-se uma quantidade de nitrato maior no último dia experimental para o tratamento Dextrose, conforme Figura 4 (a).

O fosfato não apresentou diferença estatística ( $p=0,248$ ) entre os tratamentos testados, porém foi constatado um significativo aumento no 27º dia para os tratamentos Dextrose ( $p=0,000347$ ) e Melaço ( $p=0,002902$ ) e apenas para o tratamento Dextrose no último dia experimental ( $p=0,000166$ ). Pode-se verificar interação significativa entre tempo x tratamento. As variações das concentrações de fosfato são apresentadas na Figura 4 (b).



Figuras 4: Concentrações médias  $\pm$  dp de (a) nitrato (N-NO<sub>3</sub>) e (b) fosfato (P-PO<sub>4</sub>), ao longo do tempo, em cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

As concentrações médias de amônia, nitrito, nitrato e fosfato para ambos os tratamentos são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3- Média de nitrogenados e fosfato  $\pm$  dp, dos tratamentos Dextrose e Melaço em sistema super-intensivo de cultivo de juvenis de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos. N-AT= nitrogênio na forma de amônia total,  $\text{NO}_2$ = Nitrito,  $\text{NO}_3$ = Nitrato e  $\text{PO}_4$ = Fosfato.

Tratamento	Dextrose	Melaço
N-AT (mg/L)	1,16 $\pm$ 1,96 <sup>a</sup>	1,03 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>
$\text{NO}_2$ (mg/L)	14,34 $\pm$ 17,02 <sup>a</sup>	17,81 $\pm$ 20,82 <sup>b</sup>
$\text{NO}_3$ (mg/L)	15,8 $\pm$ 16,84 <sup>a</sup>	13,32 $\pm$ 13,58 <sup>a</sup>
$\text{PO}_4$ (mg/L)	1,22 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>	1,48 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>

#### 4.3. Clorofila -a

Não foram constatadas diferenças significativas ( $p=0,525$ ) entre os tratamentos para os valores de clorofila *a*. Ao longo do período experimental foi observada queda significativa no 9º dia para tratamento com dextrose ( $p=0,000163$ ) e melaço ( $p=0,000261$ ), a partir do 15º dia de estudo, embora tenha havido queda para ambos os tratamentos, foi constatada diferença significativa apenas no tratamento Dextrose ( $p=0,000261$ ), conforme é mostrado na Figura 5 (a).

#### 4.4. Adição de Carbono

A fertilização com carbono orgânico foi realizada a cada vez que a concentração de amônia no sistema excedeu valores de 1 mg/L. Desta forma, visando normalizar as concentrações de NAT no cultivo, foi aplicada uma fertilização orgânica nos dias 9, 12 e 15 em ambos tratamentos.

Embora no 21º e 27º dias experimentais as concentrações de amônia apresentassem valores considerados satisfatórios para o cultivo, houve a necessidade de realização da fertilização baseada nas altas concentrações de nitrito encontradas no sistema, tendo-se em vista que estas alcançaram níveis considerados prejudiciais para os camarões.

Os valores de carbono orgânico dissolvido apresentaram-se diferentes estatisticamente entre os tratamentos nos dias 3 ( $p=0,000127$ ) e 15 ( $p=0,000128$ ), apresentando maiores valores no tratamento Melaço. Ao longo do tempo houve

aumento significativo ( $p=0,000227$ ) no teor de carbono orgânico dissolvido para o tratamento com Dextrose no 21º dia e posterior queda ( $p=0,049287$ ) no 30º dia. Para o tratamento fertilizado com Melaço aumento estatístico no dia 3 ( $p=0,000127$ ) e posterior queda no dia 9 ( $p=0,000155$ ), a partir do 21º dia não houveram diferenças entre os tratamentos, embora os valores de carbono dissolvido tenham sido menores no tratamento Dextrose.

Foi determinada interação entre o tempo e os tratamentos testados nos dias 3 e 21 para tratamento com Melaço e no 21º dia para tratamento Dextrose, conforme demonstrado na figura 5(b).

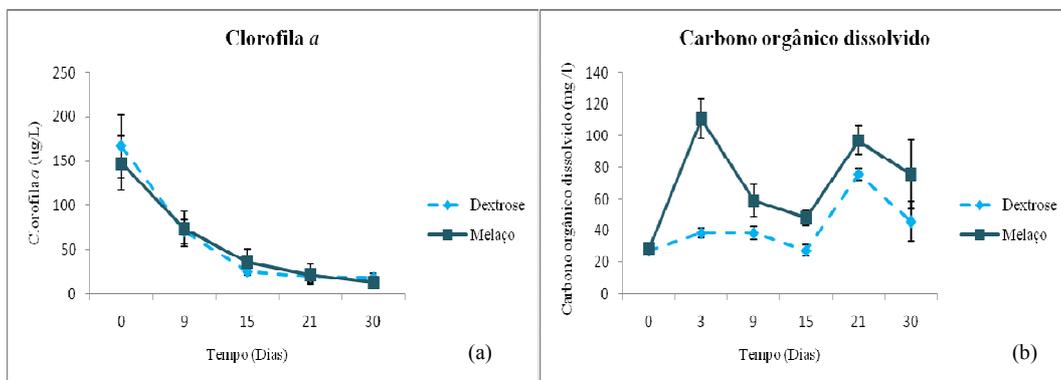


Figura 5: Variação média $\pm$  dp de (a) clorofila a e (b) carbono orgânico dissolvido ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei*, com formação de bio-flocos.

#### 4.5. Volume dos Flocos microbianos

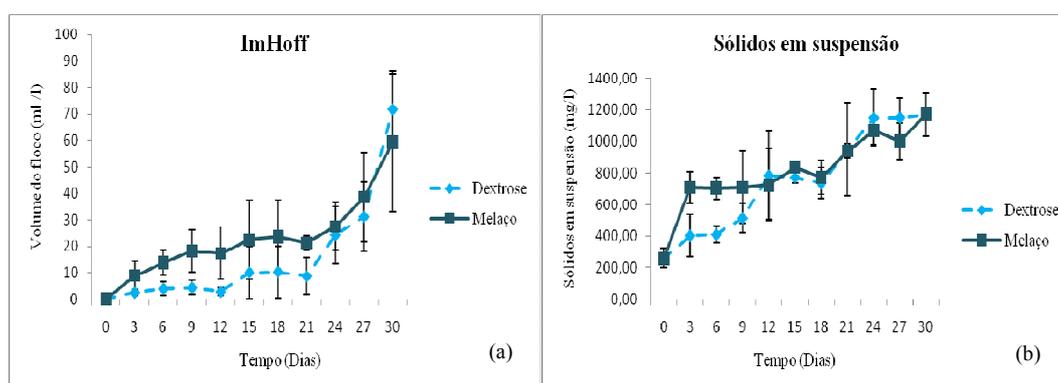
Um maior volume de flocos microbianos foi observado no tratamento fertilizado com Melaço nos dias 3 ( $p=0,038191$ ) e 12 ( $p=0,012688$ ).

Durante o período experimental houve significativo aumento no volume dos flocos para os dois tratamentos no dia 3 para Dextrose ( $p=0,000175$ ) e Melaço ( $p=0,000166$ ) e significativo aumento no ultimo dia experimental, quando comparados com o primeiro dia, tanto para Dextrose, quanto para Melaço ( $p=0,000166$ ).

Os valores médios para os dois tratamentos ao longo do tempo estão apresentados na Figura 6 (a).

#### 4.6. Sólidos em Suspensão totais

Ocorreu um aumento significativo nos sólidos em suspensão no 3º dia para tratamento fertilizado com Melação ( $p=0,004399$ ). Para o mesmo tratamento houve aumento significativo no último dia, quando comparado ao dia inicial ( $p=0,000166$ ), no entanto, para o tratamento fertilizado com Dextrose, pode-se considerar aumento significativo ( $p=0,024014$ ) apenas a partir do 12º dia experimental. Os tratamentos foram distintos entre si nos dias 3 ( $p=0,04645$ ) e 6 ( $p=0,000028$ ). A média de sólidos suspensos ao longo do tempo é apresentada na Figura 6(b).



Figuras 6: Médias  $\pm$  dp de (a) volume dos flocos e (b) sólidos em suspensão ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei*, em sistema de bio-flocos.

#### 4.7. Análise Proximal dos Bio-Flocos

Os resultados obtidos pela análise proximal dos bio-flocos para os tratamentos Dextrose e Melação estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Composição proximal (%) do floco microbiano, onde **PB**= Proteína Bruta, **EE**= Estrato etéreo, **FB**= Fibra bruta, do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-flocos.

Tratamento	PB (%)	Cinzas (%)	EE (%)	FB (%)
Dextrose	31,42	47,61	1,63	11,58
Melaço	31,75	47,98	1,38	9,89

#### 4.8. Desempenho dos camarões

Os índices de desempenho zootécnico dos camarões cultivados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5- Valores médios entre as repetições dos tratamentos Dextrose e Melaço, para ganho de peso (g), biomassa final (g), peso médio (g), sobrevivência (%) e Taxa de conversão alimentar aparente (TCA), do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-flocos sem renovação de água.

Tratamentos	Dextrose	Melaço
<b>Sobrevivência (%)</b>	79,11±11,44 <sup>a</sup>	68,64±7,48 <sup>a</sup>
<b>Peso médio final (g)</b>	3,49±0,78 <sup>a</sup>	3,06±0,81 <sup>b</sup>
<b>Biomassa final (g)</b>	298,63±24,32 <sup>a</sup>	231,58±15,54 <sup>b</sup>
<b>TCA</b>	1,67±0,17 <sup>a</sup>	2,21±0,14 <sup>b</sup>

Embora as taxas de sobrevivência no tratamento Dextrose tenham sido cerca de 10% maiores que no tratamento Melaço, não foram constatadas diferenças significativas ( $p=0,193841$ ) entre os dois tratamentos. As taxas de conversão alimentar aparente foram significativamente menores ( $p=0,003060$ ) no tratamento Dextrose em comparação ao Melaço (Tabela 5).

O peso médio dos camarões foi significativamente distinto no último dia experimental ( $p=0,000021$ ) onde o tratamento Dextrose apresentou melhor desempenho, quando comparada ao tratamento Melaço (Tabela 5).

Foi constatada aumento significativo nas médias de peso no 15° dia ( $p=0,000020$ ) e 30° dia para tratamento Dextrose ( $p=0,000020$ ) e Melaço ( $p=0,000021$ ). As médias de peso dos camarões são apresentadas na figura 7 (a).

Para os valores finais de biomassa foram constatadas diferenças significativas ( $p=0,03514$ ) entre os tratamentos (Tabela 5). No tratamento Dextrose foi obtida uma maior biomassa ao final do cultivo, quando comparada ao tratamento Melaço (Figura 7 (b)).

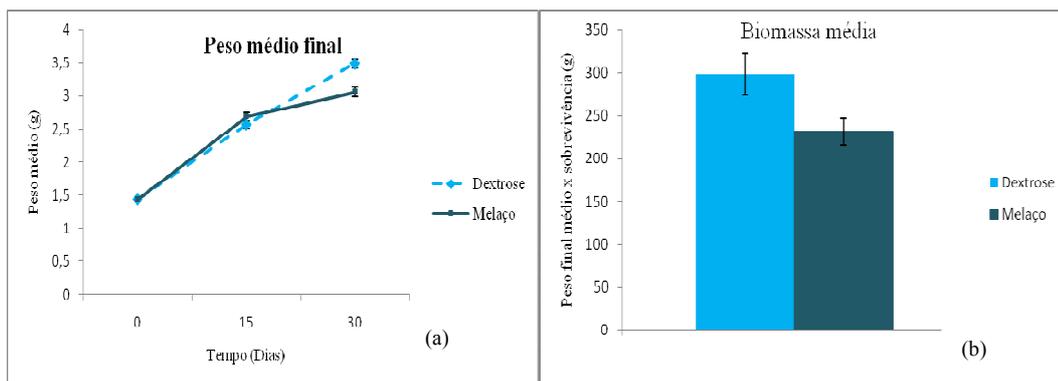


Figura 7: Média de (a) peso  $\pm$ ep e (b) biomassa  $\pm$ dp do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-flocos.

#### 4.8.1. Análise Proximal dos camarões

Não foram constatadas diferenças significativas para o teor de proteína bruta ( $p=0,586865$ ), estrato etéreo ( $p=0,509766$ ), cinzas e fibra bruta ( $p=0,120979$ ) dos camarões nos tratamentos testados, conforme mostra a Tabela 6.

Tabela 6- Composição proximal (%) dos camarões obtida pelas médias das repetições de cada tratamento, do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-flocos, onde **PB**= Proteína Bruta, **EE**= Estrato etéreo, **FB**= Fibra bruta.

Tratamentos	PB (%)	Cinzas (%)	EE (%)	FB (%)
Dextrose	77,19 $\pm$ 2,27	15,53 $\pm$ 0,95	6,7 $\pm$ 1,39	7,73 $\pm$ 1,71
Melaço	78,18 $\pm$ 2,56	16,69 $\pm$ 0,9	5,66 $\pm$ 1,42	5,85 $\pm$ 0,18

#### 4.9. Microrganismos

##### 4.9.1 Protozoários e Microalgas

Para a densidade de ciliados pequenos (0-20  $\mu$ m) foram encontradas diferenças significativas ( $p=0,029757$ ) entre os tratamentos no 21º dia experimental. No tratamento Melaço foi encontrada uma quantidade significativamente maior destes microrganismos. Pode-se notar variação ao longo do tempo, com significativo aumento no 21º dia para ambos os tratamentos, Dextrose ( $p=0,010375$ ) e Melaço ( $p=0,029757$ ), conforme Figura 8(a).

Para as densidades de ciliados grandes (20 e 200  $\mu$ m) foi determinada diferença significativa entre os dois tratamentos em todos os dias analisados, sendo que no

tratamento com Melaço foi encontrada uma maior quantidade de ciliados grandes nos dias 9 ( $p=0,000249$ ), 15 ( $p=0,000325$ ) e 21 ( $p=0,000547$ ), conforme figura 8 (b).

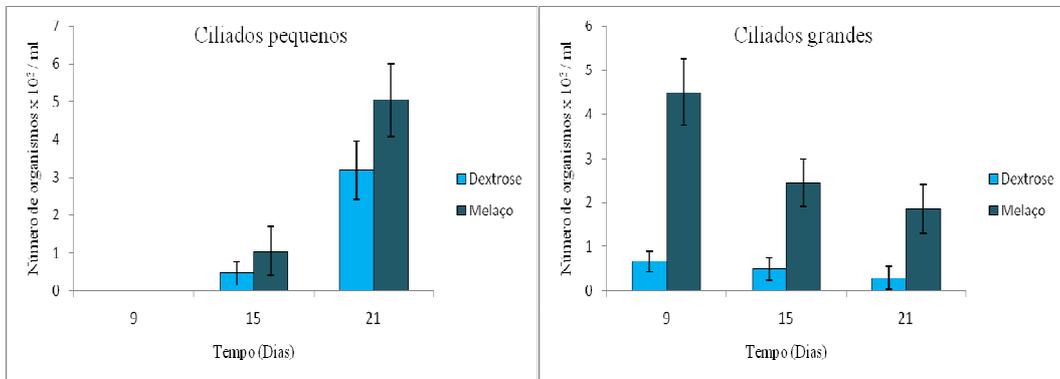


Figura 8: Média da densidade de (a) ciliados pequenos e (b) ciliados grandes  $\pm$ ep ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-flocos.

Para as densidades de flagelados (2-20 $\mu$ m) foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos nos dias 9 ( $p=0,000459$ ) e 15 ( $p=0,037499$ ), sendo semelhantes no ultimo dia analisado ( $p=0,67741$ ). Foi verificada uma queda significativa na densidade de flagelados nos dois tratamentos testados, Dextrose ( $p=0,047164$ ) e Melaço ( $p=0,003953$ ) no 21<sup>o</sup> dia de experimento, conforme figura 9 (a).

As microalgas encontradas foram diatomáceas cêntricas (2-20 $\mu$ m). Pode-se notar diferença estatística entre os tratamentos nos dias 9 ( $p=0,000249$ ) e 15 ( $p=0,000413$ ) e significativa queda ao longo do tempo a partir do dia 15 com para Dextrose ( $p=0,000253$ ) e Melaço ( $p=0,039352$ ) e no dia 21, respectivamente,  $p=0,000254$  e  $p=0,012206$ , conforme a Figura 9 (b).

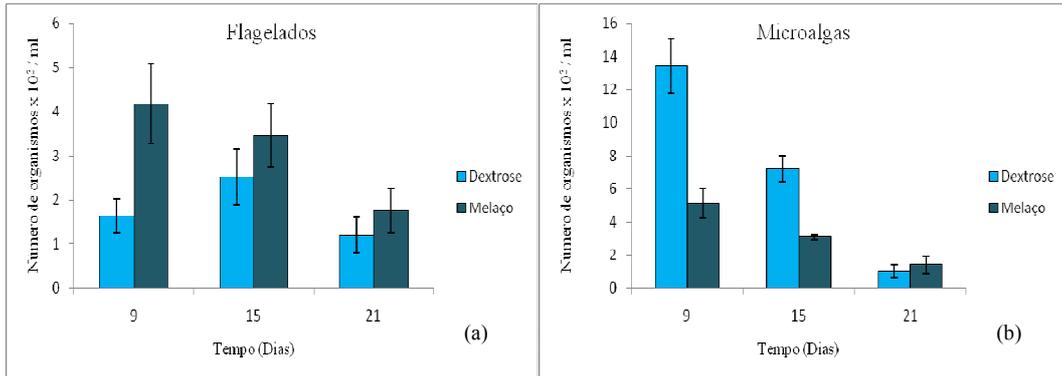


Figura 9: Média da densidade de (a) flagelados e (b) microalgas  $\pm$ ep ao longo do cultivo super-intensivo *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

#### 4.9.2 Bactérias

As bactérias cocóides livres apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos testados e ao longo do tempo ( $p=0,000249$ ), sendo que no tratamento Dextrose houve queda significativa ( $p=0,000249$ ) e no tratamento Melaço, significativo aumento ( $p=0,000249$ ), conforme a Figura 10 (a).

Entre as bactérias cocóides aderidas ao floco microbiano houve diferença significativa entre os tratamentos no dia 9 ( $p=0,000249$ ) e 15 ( $p=0,00046$ ), havendo semelhança no ultimo dia experimental ( $p=0,784224$ ). Para o tratamento fertilizado com dextrose pode-se verificar queda significativa no dia 15 ( $p=0,000249$ ) e posterior aumento no dia 21 ( $p=0,000267$ ), enquanto no tratamento com Melaço os valores permaneceram constantes, conforme a Figura 10 (b).

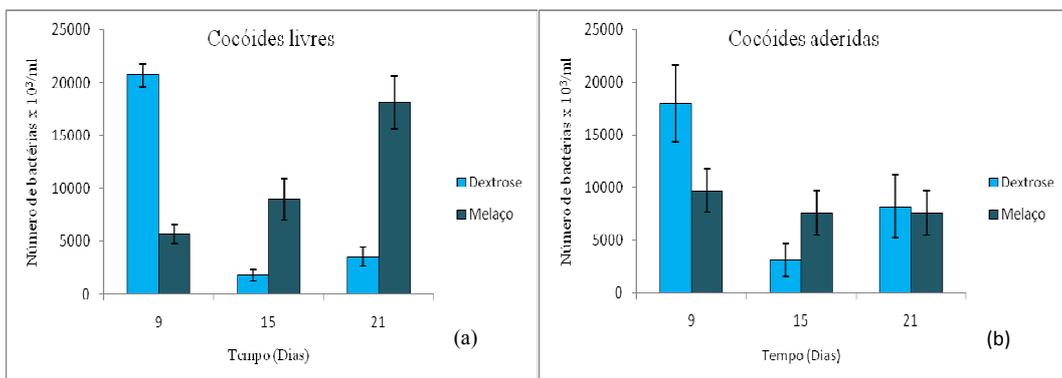


Figura 10: Média  $\pm$ ep da densidade de (a) bactérias cocóides livres e (b) bactérias cocóides aderidas ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Para a densidade de bactérias filamentosas livres pequenas ( $\leq 20 \mu\text{m}$ ), houve diferença estatística entre os tratamentos nos dias 9, 15 e 21 ( $p=0,000249$ ). Nos dias 15 e 21 houve aumento para ambos os tratamentos, com significância, respectivamente, de  $p=0,000264$  e  $p=0,000249$  no tratamento Dextrose e  $p=0,000264$  e  $p=0,000959$ , no tratamento fertilizado Melaço, conforme mostrado na figura 11 (a).

As densidades de bactérias filamentosas livres grandes ( $\geq 20 \mu\text{m}$ ) apresentaram-se diferentes estatisticamente entre os tratamentos nos dias 9 ( $p=0,000277$ ), com menor quantidade no tratamento com melaço, já a partir do 15º dia, não foram constatadas a presença de bactérias filamentosas maiores que  $20 \mu\text{m}$  e livres para o tratamento Melaço. Para o tratamento Dextrose, esses microrganismos foram abundantes, embora com queda significativa no dia 15 ( $p=0,000678$ ), no entanto apresentando-se em maior quantidade ao final do estudo ( $p=0,000249$ ), conforme mostra a Figura 11 (b).

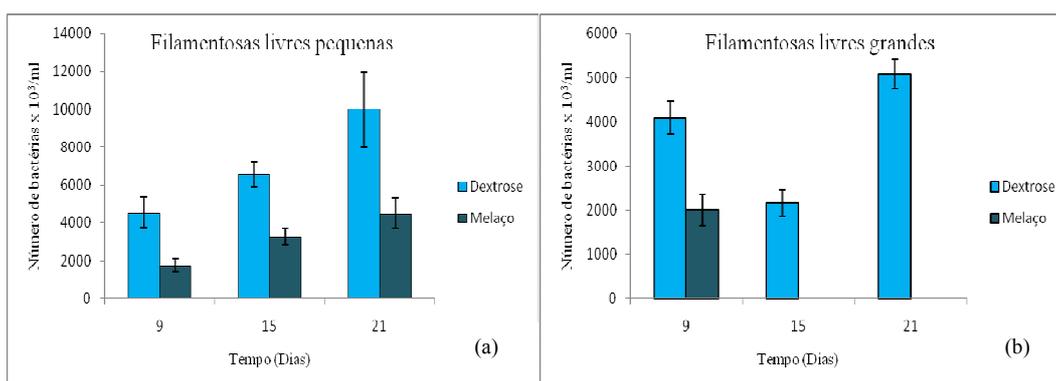


Figura 11: Média  $\pm$  ep da densidade de (a) bactérias filamentosas livres pequenas e (b) bactérias filamentosas livres grandes ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos.

Bactérias filamentosas grandes e aderidas aos flocos ( $\geq 20 \mu\text{m}$ ) foram significativamente diferentes no primeiro dia analisado ( $p=0,000249$ ) após o dia 9 não foram constatadas bactérias filamentosas grandes aderidas ao floco, apenas livres. E no tratamento Dextrose, a quantidade deste tipo de microrganismos apresentou quantidade significativamente maior do que o tratamento Melaço ( $p=0,000249$ ).

Bactérias filamentosas pequenas aderidas aos flocos ( $\leq 20 \mu\text{m}$ ) apresentaram-se estatisticamente diferentes em todos os dias amostrados, sendo que no tratamento com

dextrose começaram a aparecer no 15º dia onde foram estatisticamente em maior quantidade do que o tratamento Melaço ( $p=0,000251$ ) seguindo em maior quantidade até a próxima contagem, mas sem diferir estatisticamente a partir daí.

O tratamento Melaço apresentou um aumento significativo no dia 15 ( $p=0,001853$ ) e manteve-se sem diferença estatística na próxima contagem. As médias entre as repetições dos dois tratamentos para bactérias filamentosas aderidas ao floco estão apresentadas nas figuras 12(a) e (b).

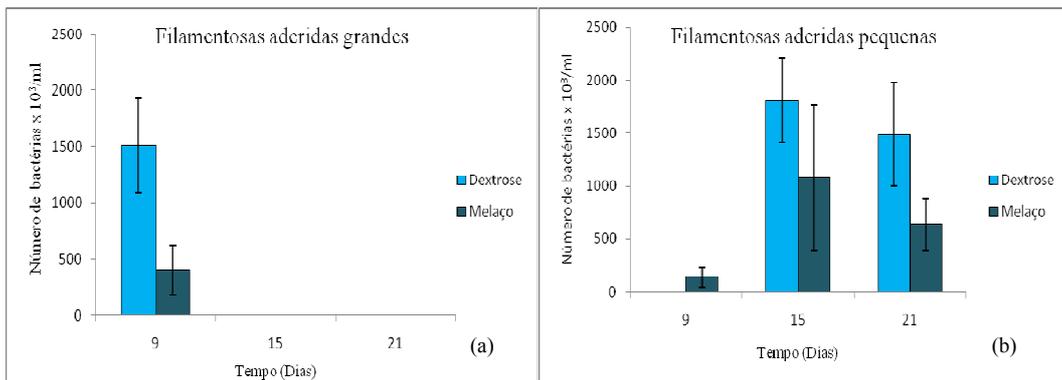


Figura 12: Média da densidade de (a) bactérias filamentosas aderidas grandes e (b) bactérias filamentosas aderidas pequenas  $\pm$ ep ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bio-floco.

Nas figuras 13 e 14 são apresentadas microfotografias contendo características morfológicas e de tamanho dos diferentes tipos de bactérias enumeradas.

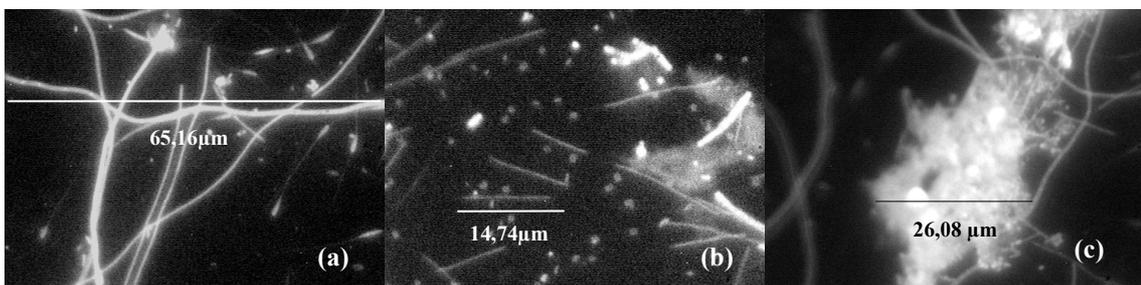


Figura 13: Foto ilustrando (a) bactérias filamentosas livres grandes, (b) bactérias filamentosas livres pequenas e (c) floco microbiano com bactérias cocóides e filamentosas aderidas, no tratamento Dextrose. Aumento 1000x.

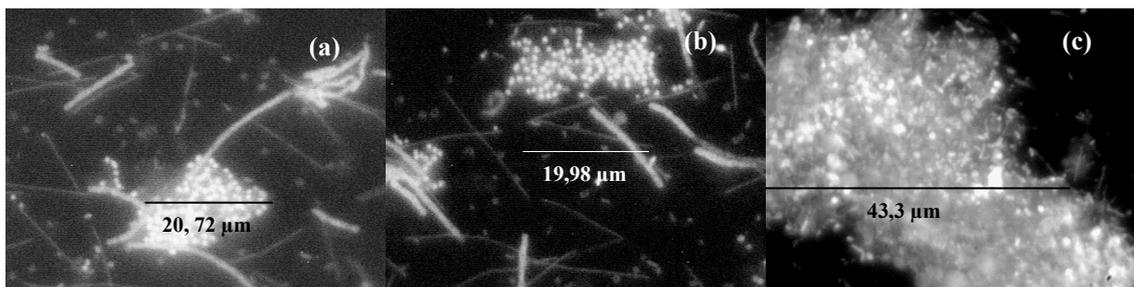


Figura 14: Foto ilustrando (a) e (b) bactérias cocóides livres e aderidas e filamentosas pequenas livres, (c) formação de floco microbiano com bactérias cocóides aderidas, em tratamento Melaço. Aumento de 1000x.

#### 4.10. Dados básicos de custos

De acordo com dados preliminares de pesquisa local de custos financeiros básicos para aplicação da fertilização orgânica no presente estudo, pode-se comparar a quantidade total de cada fertilizante adicionado para imobilização de N-AT, bem como o valor de cada produto. A Tabela 7 mostra a quantidade de fertilizante adicionado e os custos com fertilizantes durante o período experimental.

Tabela 7- Dados básicos de custos dos fertilizantes orgânicos (dextrose e melaço), ao longo do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bio-flocos, onde **N-AT(S)** = Soma das concentrações de N-AT durante a fase 2, **FT**= Soma do total de fertilizantes adicionados durante as fases 1 e 2, para imobilização de N-AT, **C** = Concentração total de carbono contida em FT, **R\$ (kg)**= Preço/Kg (R\$) de cada fertilizante orgânico e **CT**= custos totais (R\$) com a fertilização orgânica durante todo período experimental.

Fertilizante	N-AT(S)	FT (g)	C (g)	R\$ (Kg)	CT (R\$)
Dextrose	39,5	138	55,2	6,00	0,83
Melaço	38	222	70,25	3,00	0,44

## 5- Discussão

Em sistemas intensivos de cultivo de organismos aquáticos o manejo dos parâmetros de qualidade de água, adequados às exigências de cada espécie, devem ser monitorados e controlados com cuidado, a fim de melhorar as taxas de sobrevivência e crescimento dos organismos cultivados. Segundo Avnimelech *et al.* (1995) a comunidade microbiana pode ter efeito benéfico no controle de tais parâmetros, potencializando a produtividade no sistema de cultivo.

Ponce-Palafox *et al.* (1997) mencionam que a tolerância a variações sazonais de temperatura e salinidade são fatores que tornam *Litopenaeus vannamei* uma espécie atrativa para o cultivo. Os mesmos autores também citam que a faixa de temperatura ótima para crescimento e sobrevivência de juvenis desta espécie é de 25 a 30°C, começando a declinar quando as temperaturas são inferiores a 23°C (Wyban *et al.* 1991). No presente estudo, as baixas temperaturas na primeira semana do experimento podem ter influenciado negativamente nas taxas de crescimento dos camarões. Após o 6º dia experimental, a instalação dos aquecedores, permitiu que a temperatura da água do cultivo atingisse valores acima de 28°C, considerados favoráveis para o bom desempenho da espécie (Ponce-Palafox *et al.* 1997). A análise estatística mostrou uma interação entre tempo e tratamentos, a qual foi decorrente da instalação de aquecedores elétricos que permitiram a elevação das temperaturas ao longo do período experimental.

As concentrações de oxigênio dissolvido na água, embora com significativa queda, influenciada pelo aumento da temperatura, mantiveram-se em níveis aceitáveis para o as exigências do cultivo, isto é, acima de 6,5 mg/L, devido ao uso de aeração constante como fonte de oxigênio (Van Wyk & Scarpa 1999).

A faixa de salinidade mantida entre 33 e 35 no presente estudo pode ser considerada adequada para o desempenho de *Litopenaeus vannamei*. Estes resultados corroboram com dados de Ponce-Palafox *et al.* (1997), nos quais foram obtidos melhores resultados de sobrevivência e crescimento em salinidades entre 33-40. Além disso, Decamp *et al.* (2003), obtiveram maior produção de camarões em sistemas de cultivo sem renovação de água em salinidade 36.

Peñaflorida (1999) estimou que 13% do fósforo disponibilizado na forma de alimento é incorporado a biomassa dos camarões peneídeos, sendo que o restante pode contribuir para eutrofização da água do cultivo. Assim, os altos valores de fosfato

encontrados ao final deste trabalho (dias 27 e 30), podem ser devidos à baixa utilização e à excreção da ração fornecida, sabendo-se que esta é principal fonte de entrada de fósforo no sistema (Barak *et al.* 2003). O acúmulo de ração no fundo dos tanques pode ter contribuindo na formação de matéria orgânica, além disto, a ração não consumida pode ter tido efeito direto nas interações detectadas entre tempo x tratamento para este parâmetro.

Conforme Ebeling *et al.* (2006), em sistemas com limitada troca de água, a alcalinidade deve estar entre 100-150 mg/l (como CaCO<sub>3</sub>), caso contrário, pode haver queda de pH e o funcionamento do sistema ser prejudicado. A partir da terceira semana do presente estudo, os valores da alcalinidade estiveram abaixo do ótimo, surtindo efeito nos índices de pH, os quais caíram no mesmo período. Essa queda pode ser decorrente da predominância de organismos heterotróficos no sistema, que, conforme, Arana (2004), agem baixando o pH devido aos processos respiratórios. Tal afirmação corrobora os estudos de Wasielesky *et al.* (2006 a), o qual cita que concentrações baixas de pH, em sistemas com flocos microbianos, podem ser atribuídas as taxas de respiração por organismos heterotróficos.

Embora tenha ocorrido queda de pH, no presente estudo, os níveis mantidos acima de 7,2 não parecem ter sido prejudiciais ao sistema, estando dentro da faixa considerada como ótima para a maioria dos organismos cultivados (Arana 2004). Além disto, o pH mantido entre 7 e 8 favorece bactérias nitrificantes, e também age na diminuição da fração não ionizada de amônia (menor que 5%) (Van-Wyk & Scarpa, 1999).

Altas concentrações de amônia podem causar retardo no crescimento dos camarões e, em casos extremos, mortalidade dos animais cultivados (Ostrensky & Wasielesky 1995, Lin & Chen 2003, Li *et al.* 2007). O nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) é o produto intermediário da nitrificação da amônia (N-AT) e denitrificação do nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e aumenta diretamente com o período de cultivo, podendo ter efeito sinérgico com amônia (Lin & Chen 2003). Igualmente, o acúmulo deste nitrogenado pode causar danos à qualidade da água, diminuição do crescimento dos camarões, aumento do consumo de O<sub>2</sub> e altas taxas de mortalidade (Cheng & Chen 1998, Lin & Chen 2003).

Os valores máximos de N-AT entre 6 e 7 mg/L, para ambos os tratamentos no 15º dia experimental, podem ser considerados prejudiciais aos camarões. Porém, o composto nitrogenado que provavelmente mais afetou as taxas de sobrevivência e

ganho de peso dos organismos do presente experimento foi  $\text{N-NO}_2^-$ , já que as altas concentrações deste composto (acima de 40 mg/L) permaneceram mais tempo no ambiente, havendo exposição dos camarões por um período maior do que à N-AT.

Segundo Van-Wyk & Scarpa (1999), os níveis máximos toleráveis de  $\text{N-NO}_2^-$  para o cultivo de *L. vannamei* é de 1mg/L, no entanto, sabe-se que em sistemas de recirculação é comum que os níveis deste componente alcancem valores mais altos. Além disto, altas taxas de nitrificação podem causar problemas no sistema de cultivo, já que a razão de oxidação de N-AT pode exceder a razão de oxidação de  $\text{N-NO}_2^-$ , causando acúmulo deste produto no ambiente. Este fato pode ser percebido no presente estudo, já que houve acúmulo de nitrito e nitrato ao longo do tempo, sugerindo uma ineficiência na oxidação de nitrito para nitrato. Para minimizar este problema alguns estudos sugerem o uso de substratos artificiais como forma de melhorar a capacidade de nitrificação do sistema. (Bratvold & Browdy 2001, Ballester *et al.* 2007).

Dentre as formas de produtos nitrogenados o nitrato é o menos preocupante, conforme Van-Wyk & Scarpa (1999) o desempenho dos camarões começa a ser afetado apenas em concentrações acima 60 mg/l. Desta maneira, os níveis máximos encontrados neste estudo, próximos a 40 mg/l, embora altos, provavelmente, não influenciaram negativamente nos parâmetros zootécnicos do cultivo.

Conforme Avnimelech (1999) a imobilização de nitrogenados tóxicos pode ser controlada pela adição de carboidratos. Estudos com esta metodologia já mostraram, que estes podem ser eficazes no controle de N-AT e nitrito (Avnimelech *et al.* 1999, Hari *et al.* 2004, Samocha *et al.* 2004, Ling & Chen 2005, Schneider *et al.* 2006). Um protocolo de adição de carbono em razão (C:N) de aproximadamente 20:1 (Avnimelech 1999) tem sido empregada com sucesso para o cultivo de camarões marinhos (Samocha *et al.* 2007) e estudos desenvolvidos por Crab *et al.* (2007) demonstram que com esta razão N-AT pode desaparecer do sistema em um tempo de 2 horas.

A adição de carboidratos (dextrose e melão) nos dias 9, 12 e 15, mantendo relação 6:1 (C: N-AT) pode ter influenciado na formação da biomassa bacteriana pela retirada deste composto do sistema. Este fato pode ser evidenciado pelo aumento dos sólidos em suspensão e volume de flocos a partir da segunda semana experimental, principalmente no tratamento Dextrose. Além disto, a queda nos níveis de N-AT no 18º dia pode

comprovar a hipótese de que a formação de flocos microbianos deriva, em parte, da imobilização de compostos nitrogenados.

O declínio nas concentrações de carbono orgânico dissolvido na água, nos dias 9 e 15, embora com adição de fertilizante orgânico, antecederam a imobilização de N-AT e podem estar relacionadas com a ação de organismos heterotróficos. Estas relações sugerem que, neste estudo, a imobilização do nitrogênio tenha seguido duas vias, a heterotrófica, pela formação de biomassa bacteriana e a quimio-autotrófica, pelo desenvolvimento de bactérias nitrificantes.

Schneider *et al.* (2006), verificaram que a adição de melão, como fonte de carbono, em sistemas de recirculação com bio-filtros, converteu eficientemente o nitrogênio inorgânico, além disto, aumentou os sólidos em suspensão e a concentração de carbono orgânico dissolvido na água. Igualmente, Samocha *et al.* (2007), testando adição de melão para imobilização de N-AT, comprovam a eficiência de melão para reduzir nitrogenados.

Hari *et al.* (2004) em estudo com adição de carboidratos no cultivo de *Penaeus monodon* obtiveram melhores taxas de conversão alimentar com adição de farinha de tapioca como fonte de carbono orgânico, com razão C:N de 20:1. Esta razão parece estar bem estabelecida para cultivo de *L. vannamei* cultivado em meio á flocos microbianos, sendo aplicada em diversos estudos com a mesma finalidade (Avnmelech 1999, Hari *et al.* 2004, Samocha *et al.* 2007). Neste estudo, com a adição de melão, pode-se notar que a fertilização empregada na fase 1, foi suficiente para incentivar a formação de sólidos em suspensão e volume dos flocos, notando-se um aumento de cerca de 250 mg/L para 700 mg/L e 0,2 para 8,88 ml/L, respectivamente, já no terceiro dia experimental. Contrariamente, a adição de dextrose foi eficiente para aumento dos sólidos em suspensão apenas na fase 2, onde houve acréscimo significativo de cerca de 250 mg/L (fase 1) para 785 mg/L, a partir do 12º dia experimental (fase 2), e aumento do volume de floco a partir do 15º dia (de 2,93 para 10,13 ml/L), contudo, a eficiência de conversão de N-AT não diferiu estatisticamente entre os tratamentos.

As oscilações nas concentrações de clorofila-*a* de 167,03 para 18,2µg/l no tratamento Dextrose e 147,79 para 13,08 µg/l no tratamento Melão podem ter ocorrido, principalmente, pela predação dos camarões sobre a comunidade de microalgas (diatomáceas), ou colapso das microalgas pela falta de luz, especialmente no tratamento

com melão. Embora bactérias filamentosas contribuam para elevar as concentrações de clorofila-*a*, sabe-se que a acetona utilizada para extração deste pigmento não é eficiente, em se tratando destes microrganismos, desta forma, mesmo com o aumento de bactérias filamentosas não se verificou um aumento nas concentrações de clorofila-*a* (apud de Godoy *et al.* 2008).

A maior transparência da água no tratamento com uso de dextrose se dá pelas características químicas do produto, a dextrose é um açúcar simples, refinado a partir do amido (Lehninger 1995), de rápida dissolução o que favorece maior penetração de luz na coluna d'água do que com o uso de melão. Isto provavelmente contribuiu para a maior disponibilidade de microalgas no sistema de cultivo, contrariamente ao tratamento Melão. O melão (líquido), por ser um açúcar composto (Lehninger 1995), obtido do resíduo da glucose, é menos lábil que a dextrose, dissolvendo-se lentamente na água, aumentando a turbidez e diminuindo a penetração de luz, o que pode prejudicar a proliferação das microalgas. O fato da dextrose uma fonte lábil de carbono, também, beneficia o desenvolvimento de bactérias heterotróficas, pois este tipo de carboidrato favorece que estas bactérias sejam as primeiras a utilizar o nitrogênio inorgânico (Ebeling *et al.* 2006).

Desta forma, no tratamento Dextrose ocorreu maior proliferação de microalgas, porém, a queda dos valores de clorofila-*a* indicam a morte do fitoplâncton, provavelmente influenciada pela predação dos organismos heterotróficos e camarões sobre os autotróficos, disponibilidade de nutrientes e diminuição da penetração de luz após a segunda semana experimental.

Os níveis de carbono orgânico dissolvido na água também contribuem para o desenvolvimento de bactérias e cianofíceas (Esteves 1998). As bactérias são responsáveis pela maior parte da incorporação de N e P e levam vantagem sobre o fitoplâncton, pois assimilam mais nutrientes devido sua maior razão superfície x volume (Kirchman 2000).

De acordo com Tacon *et al.* (2002), é evidente que as bactérias metabolizam o carboidrato, retirando o N inorgânico e produzindo proteína, a partir daí, acontece a formação de flocos de diferentes tamanhos que podem servir como fonte de alimento para peixes e camarões, já que a comunidade microbiana que compõe os bio-flocos contém bactérias, protozoários e outros microrganismos que podem servir como

potenciais presas (Samocha *et al.* 2007). Wasielesky *et al.* (2006 b), avaliando o efeito da produtividade natural em sistemas de produção de *Litopenaeus vannamei*, comprovaram tal fato, obtendo melhores taxas de conversão alimentar em sistemas sem renovação de água e com formação de bio-flocos.

No presente estudo, a melhor conversão alimentar no tratamento Dextrose indica que provavelmente ocorreu maior predação dos camarões deste tratamento sobre a comunidade microbiana do floco. Além disso, a maior quantidade de diatomáceas, que são fontes de nutrientes para animais aquáticos (Burford 1997; Silva 2008, Ferreira 2008), pode fundamentar as melhores taxas de conversão alimentar para o tratamento Dextrose. Conforme Peterson & Curiel (2002), diatomáceas são fontes de ácidos graxos poliinsaturados que beneficiam a alimentação de pós- larvas de camarões.

Ballester *et al.* (2007), verificando a comunidade de microalgas com uso de substratos artificiais em cultivo de *Farfantepenaeus paulensis*, comprova a preferência alimentar destes camarões sobre a comunidade de diatomáceas cêntricas. O peso final médio dos camarões no tratamento Dextrose pode ser considerado melhor do que o tratamento Melaço e, embora, dados de sobrevivência não tenham apresentado diferença estatística, este parâmetro foi mais satisfatório para o tratamento Dextrose. De acordo com Godoy *et al.* (2008, submetido) o alimento natural tem grande importância no desempenho dos camarões, pois diatomáceas servem como fonte de nutrientes para aumentar peso e melhorar taxas de conversão alimentar.

O aumento na densidade de ciliados pequenos em ambos os tratamentos ao fim do experimento aconteceu, provavelmente, devido a menor pressão de predação dos camarões sobre estes microorganismos provavelmente devido ao fato de que os camarões estavam concentrados no consumo de ciliados maiores. Houve um decréscimo na abundância de ciliados grandes nos dois tratamentos. No entanto, as diferenças significativas no número de ciliados grandes entre os dois tratamentos provavelmente resultou do maior consumo destes pelos camarões, indicando um processo de seletividade.

O floco microbiano contém altos níveis de proteína, ácidos graxos, aminoácidos e minerais que podem suplementar a nutrição do camarão, além disto, microorganismos de diferentes tamanhos podem ser predados por peixes ou camarões (Burford *et al.* 2004, Tacon *et al.* 2002). Desta maneira os bio-flocos possuem dupla função, absorvem

nutrientes inorgânicos dissolvidos acumulados, contribuindo para a manutenção da qualidade da água, e, também, servem como fonte de alimento para os organismos cultivados (Avnimelech *et al.* 1999, Decamp *et al.* 2002, Burford *et al.* 2003, Hari *et al.* 2004, Avnimelech 2007).

Sistemas de cultivo “ZEAH” são eficientes para fixação das comunidades microbianas, pois, em sistemas convencionais de cultivo, as renovações realizadas para manter a qualidade da água e diminuir a ocorrência de organismos patogênicos podem contribuir na diminuição da responsabilidade dos microorganismos na ciclagem de nutrientes, direcionando para o uso intensivo de água (Maeda 2002). Além disto, conforme Thompson *et al.* (1999) observaram que protozoários podem controlar a ocorrência de organismos patogênicos através do pastio e servir como fonte de alimento para os animais cultivados.

Em relação à composição proximal dos flocos microbianos, Wasielesky *et al.* (2006 b) obteve valores semelhantes de proteína bruta e cinzas, no entanto, no presente estudo a constituição lipídica do floco apresentou valores consideravelmente maiores para Dextrose (1,63%) e Melaço (1,38%), quando comparados ao trabalho citado anteriormente (0,49%). Esta alta concentração de lipídeos pode ter sido influenciada pelas concentrações de microalgas e ciliados. Microorganismos, especialmente diatomáceas são importantes fontes de lipídios e ácidos graxos essenciais, o qual pode ter contribuído para a concentração de lipídeos encontrada no presente estudo (Silva *et al.* 2008).

Hari *et al.* (2004) citam que adição de glucose como fonte de carbono, aumenta o número de bactérias heterotróficas em cultivo de *Litopenaeus vannamei*. A adição de melaço aumenta sólidos em suspensão, teor de carbono orgânico dissolvido e diminui a concentração de nitrogenados no cultivo (Schneider *et al.* 2006). Os mesmo autores citam que a conversão para biomassa bacteriana depende da razão C:N, sendo a fonte de carbono de menor importância do que relação empregada.

Bactérias podem servir como fonte de alimento para larvas, por consumo direto ou por fornecer combustível e alimentos para os organismos bentônicos em aquicultura, também, representam uma importante fonte de alimento devido ao alto conteúdo de N e P, porém seu pequeno tamanho (0,5-1,5  $\mu\text{m}$ ) pode ser um problema para captura pelos camarões (Thompson *et al.* 1999). Estes mesmos autores relatam que adição de

fertilizantes orgânicos no sistema (glucose, amônia e fosfato) pode induzir um aumento de bactérias pequenas, ciliados, flagelados e filamentosas.

O uso de fontes diferentes de açúcar levaram a valores distintos de abundância bacteriana nos dois tratamentos. No dia 9 a quantidade de bactérias cocóides no tratamento Dextrose era muito maior do que no tratamento Melaço, havendo uma inversão na evolução dos valores de abundância ao longo do experimento. A queda no número de bactérias no tratamento Dextrose pode estar representando um consumo destes microorganismos pelos flagelados que, por sua vez são consumidos por ciliados, numa clara interação trófica típica do conceito de “Microbial Loop” (Azam *et al.*, 1982). Os processos envolvidos no desempenho da comunidade microbiana no presente estudo parecem corroborar as afirmações de Zhukova & Kharlamenko (1999), que dizem que ácidos graxos polinsaturados sintetizados por ciliados e flagelados podem ser processados a partir da ingestão de bactérias evidenciando a ocorrência da alça microbiana.

As bactérias filamentosas grandes aderidas aos flocos começaram a aparecer no 15º dia no tratamento com Dextrose. Isto pode ter acontecido devido a maior disponibilidade de fósforo neste tratamento, pois o aumento nos níveis de fósforo a partir do dia 9 pode agir como fonte de nutrientes para desenvolvimento de cianobactérias (Burford *et al.* 2003). Além disto, as cianobactérias (bactérias filamentosas) podem estar relacionadas com a adição de carbono orgânico dissolvido no sistema (Esteves 1998), pois a abundancia destes microorganismos no ultimo dia analisado, é precedido por quedas nos níveis de carbono orgânico, sugerindo captação para desenvolvimento destes organismos.

Contudo, a pouca quantidade de filamentosas grandes aderidas aos flocos, encontradas no tratamento Melaço pode ter ocorrido pela relação N:P desfavorável para as cianobacterias, favorecendo a dominância das bactérias cocóides, que apresentam vantagens importantes na assimilação de nutrientes, por ter maior relação superfície x volume.

Apesar de estudos de Schneider *et al.* (2006) demonstrarem que a fonte de carbono pode ter menor influência no sistema do que a relação C:N empregada, no presente estudo, através do desempenho da comunidade microbiana, verificou-se que a através da fonte de carbono utilizada pode-se de manipular o desenvolvimento da

microbiota. Desta maneira a dextrose, proporcionou melhores índices zootécnicos para o camarão cultivado e embora não tenham sido encontradas diferenças estatísticas para a sobrevivência entre os dois tratamentos, essa melhor taxa na dextrose refletiu em um aumento significativo na biomassa ao final do cultivo. Isto indica que fontes lábeis de carbono possam proporcionar benefícios sobre a produtividade natural beneficiando os índices zootécnicos do cultivo.

## **6. Conclusões e considerações finais:**

Embora o uso de melaço em sistemas de cultivo do tipo “*ZEAH*” esteja bem estabelecido, ao observar o desempenho da dextrose como fonte de carbono, obtido no presente trabalho, nota-se a facilidade de manejo que o produto oferece. Aliado a isto, os efeitos benéficos gerados pela maior transparência da água, os quais contribuíram para um possível melhor aproveitamento dos camarões sobre a comunidade microbiana, aumentando significativamente o peso médio final e diminuindo significativamente as taxas de conversão alimentar, indicam que este produto possa oferecer uma melhor relação custo/benefício que o melaço.

A partir dos dados obtidos neste estudo, e dos bons resultados do emprego da dextrose, acredita-se ser necessária realização de experimentos com maior duração, para que haja estabilização do floco microbiano, tendo-se em vista que este necessita de um tempo maior para iniciar formação dos flocos e estabilização da comunidade microbiana. Além disto, a aplicação de técnicas para caracterização de grupos de bactérias pode ser uma importante ferramenta para melhor esclarecimento sobre a dinâmica microbiana no ambiente de cultivo.

## 7. Referências Bibliográficas

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16ed. Patricia Cunniff (editora), Washington, DC.
- AVNIMELECH, Y, N MOZES, S DIAB, & M, KOCHBA. 1995. Rates of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. *Aquaculture*, 134:211-216.
- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227-235.
- AVNIMELECH, Y, 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264: 140-147.
- AZAM, F. 1982. Measurement of growth of bacteria in the sea and the regulation of growth by environmental conditions. In: Hobbie, J., Williams, P. J., Le B. (eds.) Heterotrophic activity in the sea. Plenum Press, in press.
- AZIM, ME, DC LITTLE. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283:29-35.
- BALLESTER, ELC, W WASIELESKY, RO CAVALLI & PC ABREU. 2007. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. *Aquaculture*, 269: 355-362.
- BARAK, Y, E CYTRYN, I GELFAND, M KROM & J VAN RIJN. 2003. Phosphorus removal in a prototype, recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 220: 313–326.
- BRATVOLD & BROWDY. 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats™) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195: 81-94.
- BOYD, CE. 2003 Guidelines for aquaculture effluent management at the farm- level. *Aquaculture*, 226: 101-112.

- BURFORD, MA, PJ THOMPSON, RH BAUMAN & DC PEARSON. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219: 393-411.
- BURFORD, M.A., PJ THOMPSON, RP MCINTOSH, RH BAUMAN & DC PEARSON, 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture*, 232: 525-537.
- CHENG, SY, CHEN JC (1998) Effects of nitrite exposure on the hemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and watercontent of *Penaeus japonicus*. *Aquat Toxicol.*, 44:129–139.
- CRAB, R, Y AVNIMELECH, T DEFOIRDT, P BOSSIER & W VERSTRAETE. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270: 1-14.
- DECAMP, O, L CONQUEST, I FORSTER & AGJ TACON 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp zero-water exchange aquaculture production systems: role of eukaryotic microorganisms. *In*: Lee C.S. and P. O'Bryen Eds. Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems, *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, USA, 79-86.
- DECAMP, OE, J CODY, L CONQUEST, G DELANOY & AGJ TACON. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water Exchange culture systems. *Aquaculture Res.*, 34: 345-355.
- EBELING, JM, MB TIMMONS, & JJ BISOGNI, 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.
- EMERENCIANO, MC. 2007. Flocos microbianos: Aspectos zootécnicos do cultivo do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* e *Farfantepenaeus brasiliensis*.

- Dissertação de mestrado (Programa de Pós- Graduação em Aqüicultura).  
Universidade Federal do Rio Grande. 42 p.
- ESTEVES, FA. 1998. Fundamentos de limnologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Interciência. 602 p.
- FAO. 2009. The state of World Fisheries and Aquaculture. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em 20/02/2009.
- FERREIRA, LM. 2008. Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do camarão-branco *Litopenaeus vannamei*. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura). Universidade Federal do Rio Grande. 44p.
- GODOY, LC, C ODEBRECHT, TG MARTINS, EL BALLESTER & W WASIELESKY. 2009. The importance of diatoms and microbial flocs for white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the super-intensive culture. *Aquaculture*, 1-28. Submetido.
- GOLDBURG, R & R NAYLOR. 2005. Future seascapes, fishing and fish farming. *The Ecolol. Society of America*. 3(1): 21-28.
- HARI, B, K MADHUSOODANA, JT VARGHESE, JW SCHAMA & MCJ VERDEGEM. 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture*, 241: 179-194.
- HARGREAVES, JA, 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquac. Eng.* 34:344–363.
- HOBBIE, JE, RJ DALEY & S JASPER. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 33: 1225-1228.
- JU, ZY, I FORSTER, L CONQUEST, W DOMINY, WC KUO & FD HORGAN. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research.*, 39: 118-133.

- JORY, DE. 2001. Feed management practices for a healthy pond environment. In: BROWDY CL, JORY DE (Eds.). The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. Baton Rouge, USA, 118-143.
- WILLIAMS, PJ. 2000. Heterotrophic bacteria and the dynamics of dissolved organic material. In: KIRCHMAN, DL. Microbial ecology of the oceans. New York: Wiley-Liss. Chap.6: 153-161.
- LEHNINGER, A. 1995. In: Princípios de Bioquímica. Traduzido por W.R. Lodi e A.A. Simões. Sarvier (Ed.). São Paulo. 725 p.
- LI, E, L CHEN, Z ZENG, X CHEN, N YU, Q LAI & JG QIN. 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile White shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*. 265: 385-390.
- LIN, Y & J CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 109-119.
- LIN, Y & J CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201.
- LING, J, CHEN, S. 2005. Impact of organic carbon on nitrification performance of different types of biofilters. *Aquacultural Engineering*. 33: 150-162.
- MAEDA, M. 2002. Microbial communities and their use in aquaculture. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.). Microbial Approaches to Aquatic Production Systems. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society. P.61-78.
- MAICÁ, P F. 2009. Influência da salinidade na composição de microrganismos e no desempenho de juvenis de camarão-branco *Litopenaeus vannamei* cultivados em sistemas sem renovação de água. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Aquicultura). Universidade Federal do Rio Grande. 58p.
- MCINTOSH, BJ, TM SAMOCHA, ER JONES, AL LAWRENCE, DA MCKEE & S HOROWITZ & A HOROWITZ. 2000. The effect of a bacterial supplement on the

- high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 21: 215-227.
- MOSS. M.S. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: LEE,C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) Microbial Approaches to Aquatic Production Systems. Baton Rouge, Louisiana: *World Aquaculture Society*, 2002. p. 01-18
- OSTRENSKY, A, WASIELESKY, W. 1995. Acute Toxicity of Ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture*, 132: 339-347.
- PEÑAFLORES, VD. 1999. Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 172: 281–289.
- PETERSON, JJ & CURIEL, JI. 2002. Improved shrimp larviculture using diatoms. *Global Aquaculture Alliance*. 72-73.
- PONCE-PALAFIX, J, CA MARTINEZ-PALACIOS, LG ROSS. 1997. The effect of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture* 157:107-115.
- SAMOCHA, TM, S PATNAIK, M SPEED, AM ALI, JM BURGER, RV ALMEIDA, Z AYUB, M HARISANTO, A HOROWITZ & DL BROOK .2007 Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 36:184-191.
- SILVA CF, E. BALLESTER, J MONSERRAT, L GERACITANO, W. WASIELESKY & PC ABREU. 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutrition quality: protein and lipid contents. *Aquaculture Nutrition*. 14: 507-514.
- SCHNEIDER, O, V SERETI, EH EDING, AJ VERRETH. 2006. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. *Aquaculture*. 261: 1239-1248.

- STRICKLAND, J D H & TR PARSONS. 1972. .A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. 2. ed. Ottawa: Bulletin 167. 311p.
- SOKAL, RR & FJ ROHLF. 1969. Biometry. Principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman & Co, 776p.
- TACON, AGJ, JJ CODY, LD CONQUEST, S DIVAKARAN, IP FORSTER & OE DECAMP. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutrition.*, 8: 121-137.
- THOMPSON, FL, PC ABREU & RO CAVALLI. 1999. The use of microorganisms for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203: 263-278.
- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commissiony. Paris, France.
- UTERMÖHL, H., 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton metthodik. *Int. Ver. Theor. Angew. Limnol* 9:1-38.
- VANWYK, P & J SCARPA. 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., *et al.* (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p. 128–138.
- VINATEA-ARANA, LUIS. 1997. Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. 1ª ed., Florianópolis: EDUSSC, 1-165p.
- WASIELESKY, W, M EMERENCIANO, E BALLESTER, R SOARES, R CAVALLI, PC ABREU. 2006a. Cultivos em meios com flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. *Panorama da AQUICULTURA*. 14-23 P.
- WASIELESKY, W, H ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006b. Effect natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 258: 396-403.

- WELSCHMEYER, N.A. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.* 39: 1985-1992.
- WYBAN, J, WA WALSH & DM GODIM 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138: 267-2.
- ZHUKOVA, NV & VI KHARLAMENKO. 1999. Source of essential fatty acids in the marine microbial loop. *Aquat. Microb. Ecol.* 17: 153-157.