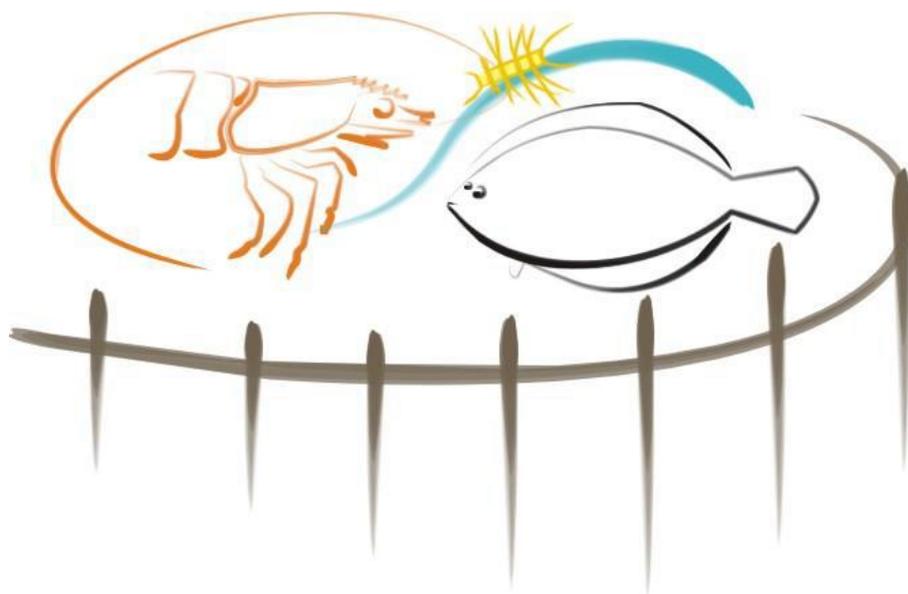




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFEITO DA FREQUÊNCIA ALIMENTAR NA FASE DE BERÇÁRIO DO  
CULTIVO SUPERINTENSIVO DO CAMARÃO BRANCO *Litopenaeus vannamei*  
EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Aline da Costa Bezerra

Rio Grande/RS  
2014

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

**EFEITO DA FREQUÊNCIA ALIMENTAR NA FASE DE BERÇÁRIO DO  
CULTIVO SUPERINTENSIVO DO CAMARÃO BRANCO *Litopenaeus vannamei*  
EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Aline da Costa Bezerra

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

Orientador: Dr. Dariano Krummenauer  
Co-Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr

Rio Grande/RS – Brasil  
Agosto/2014

## ÍNDICE:

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	iv
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	v
<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVO GERAL</b> .....	4
2.1. Objetivos específicos.....	4
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	5
3.1. Local.....	5
3.2. Origem dos animais.....	5
3.3. Delineamento experimental.....	5
3.4. Variáveis físicas e químicas da água.....	6
3.5. Análise da comunidade microbiana.....	6
3.6. Teste de lixiviação da ração, perfil de aminoácidos e proteína bruta dos bioflocos.....	7
3.7. Desempenho zootécnico.....	7
3.8. Análise histopatológica.....	8
3.9. Análise estatística.....	8
<b>4. RESULTADOS</b> .....	9
4.1. Variáveis físicas e químicas da água.....	9
4.2. Microorganismos.....	16
4.3. Teste de lixiviação da ração, perfil de aminoácidos e proteína bruta dos bioflocos.....	17
4.4. Desempenho zootécnico.....	19
4.5. Análise histopatológica.....	19
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	28
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	29

## DEDICATÓRIA

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31

*A Deus.*

*Aos meus pais, Lucas e Rosângela.*

*Aos meus avôs, Lucas e Elpídio “In memoriam”.*

*As minhas avós, Eni e Helena.*

*A minha família e amigos.*

## AGRADECIMENTOS

32

33

34 *Agradeço ao meu orientador Dr. Dariano Krummenauer,*  
35 *pelas inúmeras orientações, ajudas, apoio, incentivo e toda*  
36 *experiência que obtive ao longo do mestrado. Não há palavras para*  
37 *expressar minha gratidão.*

38 *Ao meu co-orientador Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr, pela*  
39 *oportunidade de trabalhar na equipe e por participar do Projeto*  
40 *Camarão. Sempre esteve disposto a ajudar e orientar.*

41 *Aos professores do Programa de Pós-Graduação em*  
42 *Aquicultura que contribuíram para minha formação.*

43 *Ao Prof. Dr. Paulo Abreu e equipe do laboratório de*  
44 *microalgas, pela ajuda nas análises do experimento.*

45 *Ao Prof. Dr. Luiz Romano e equipe do laboratório de patologia*  
46 *pelo processamento de amostras e análises do experimento.*

47 *Agradeço a presença da banca examinadora.*

48 *Ao André Freitas pela constante ajuda no experimento e nas*  
49 *rotinas da estufa.*

50 *Ao Julio Zemor pelas conversas e discussões ao longo da nossa*  
51 *aprendizagem.*

52 *As colegas do Projeto Camarão, Gabriele, Bárbara, Nicole,*  
53 *Tatiana, Sabrina, Vita.*

54 *Aos colegas do Projeto Camarão, Geraldo, Gabriel, Plínio, João,*  
55 *Carlos, Alessandro, Bruno, Luciano, Joaquim, André Braga.*

56 *Aos técnicos e funcionários da Estação Marinha de*  
57 *Aquacultura.*

58 *Enfim, a toda minha família e amigos por todo apoio e*  
59 *compreensão ao longo do mestrado.*

60

61 **RESUMO**

62

63 Atualmente com a intensificação dos sistemas aquícolas, o sistema de bioflocos  
64 surge como uma alternativa sustentável para suprir a demanda de camarão no mercado.  
65 Sistema este que é baseado em cultivos com altas densidades de estocagem e menores  
66 áreas para o cultivo. Dentro desse contexto, a frequência alimentar é uma ferramenta de  
67 manejo de extrema importância, pois os maiores gastos na produção de camarões são  
68 provenientes do arraçoamento. O presente estudo foi realizado na Estação Marinha de  
69 Aquacultura, IO-FURG e avaliou diferentes frequências de alimentação na fase de  
70 berçário no sistema de bioflocos: T1 (1 alimentação/dia); T3 (3 alimentações/dia) e T6  
71 (6 alimentações/dia), ambos com três repetições. Em uma estufa com nove tanques de  
72 35 m<sup>2</sup> foram estocadas pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* com peso médio de 0,033g,  
73 na densidade de estocagem de 2000 camarões m<sup>-2</sup>. Foram monitorados parâmetros de  
74 qualidade de água, desempenho zootécnico, microorganismos e análises histológicas  
75 dos camarões. O experimento teve duração de 40 dias. Os dados de qualidade da água,  
76 peso final (0,90; 1,03; 1,04g), sobrevivência (91; 80; 78%) e CAA (1,46; 1,23; 1,43)  
77 não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (p>0,05). Os resultados  
78 obtidos mostram que é possível reduzir a frequência alimentar na fase de berçário, pois  
79 o seu aumento não altera a qualidade da água e não afeta o desempenho zootécnico dos  
80 camarões cultivados.

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93 **ABSTRACT**

94

95           Currently by the intensification of aquaculture systems, the Biofloc Technologic  
96 System (BFT system) emerges as a sustainable alternative to supply the shrimp market  
97 demand. BFT system is based on high stocking densities performed in small areas. In  
98 this context, the control of feeding management is an important tool, mainly because the  
99 biggest expenses in shrimp production come from the feeding. The present study was  
100 performed in the Marine Aquaculture Station, IO-FURG and it evaluated different  
101 feeding frequencies in the nursery phase in BFT system: T1 (one feed/day); T3 (three  
102 feed/day) and T6 (six feed/day), with three replications. In a greenhouse with nine tanks  
103 of 35 m<sup>2</sup> post-larvae of *Litopenaeus vannamei* with an average weight of 0,033g were  
104 stocked at a stocking density of 2000 shrimp m<sup>-2</sup>. The water quality parameters were  
105 measured daily, the growth performances weekly, samples of water were collected for  
106 microorganisms analyzes and shrimps were collected for histological analyzes. The  
107 experiment lasted 40 days. The final weight (0.90, 1.03, 1,04g), survival (91, 80, 78%)  
108 and FCR (1.46, 1.23, 1.43) did not differ significantly between treatments (p> 0.05).  
109 The results show the possibility to reduce feeding frequency in the nursery phase,  
110 because its increase does not alter the quality of water and does not affect the growth  
111 performance of shrimp culture.

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

## 125 1. INTRODUÇÃO

126

127 A partir dos anos 80 até meados de 2012, a produção aquícola mundial  
128 aumentou a uma taxa média de 8,6% ao ano, passando de 32,4 milhões de toneladas em  
129 2000 para 66,6 milhões de toneladas em 2012 (FAO 2014). Diante desta demanda atual  
130 da aquicultura mundial, novas tecnologias foram desenvolvidas visando uma produção  
131 sustentável de organismos aquáticos, dentre elas, surge o Sistema de Bioflocos (Biofloc  
132 Technology System), baseado em mínimas renovações de água, altas densidades de  
133 estocagem, maior biossegurança e uso de pequenas áreas que resultam em altas  
134 produtividades (Avnimelech et al. 2007; Krummenauer et al. 2011).

135 O sistema de bioflocos é um sistema de cultivo que visa ao aumento da  
136 produção, com mínima renovação de água e conseqüentemente, diminuição da liberação  
137 de efluentes ricos em nutrientes aos recursos hídricos adjacentes (De Schryver &  
138 Verstraete 2009). Através da manipulação das relações Carbono / Nitrogênio da água  
139 uma série de microorganismos como bactérias, protozoários, rotíferos, microalgas e  
140 também fezes e resto de organismos mortos dão origem a agregados microbianos os  
141 quais são chamados de bioflocos (Wasielesky et al. 2006; Crab et al. 2010). É  
142 fundamental a aplicação de fontes de carbono orgânico, como o melaço de cana-de-  
143 açúcar para conversão dos compostos nitrogenados em proteína microbiana e é  
144 necessária aeração intensa e constante, mantendo os bioflocos em suspensão e evitando  
145 áreas anaeróbicas nas unidades de cultivo (Avnimelech 2009; Azim 2008). Através  
146 dessa manipulação C:N, a biomassa microbiana é formada a partir da remoção dos  
147 nutrientes presentes na coluna d'água, surgindo principalmente bactérias heterotróficas  
148 e nitrificantes (De Schryver et al. 2008).

149 Com o aumento das densidades de estocagem é necessário o controle dos  
150 compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato), que são elementos de extrema  
151 importância para a manutenção da qualidade da água no sistema de cultivo (Kuhn et al.,  
152 2010). Depois de formados, os bioflocos são consumidos pelos camarões e também  
153 auxiliam no controle de qualidade da água, possibilitando o incremento da densidade de  
154 estocagem (Browdy et al., 2001). Os sistemas superintensivos exigem um maior aporte  
155 de oxigênio devido à respiração da biomassa microbiana, que atua diretamente na  
156 qualidade da água e dos camarões cultivados. Esse aumento no suprimento de oxigênio

157 é necessário para que haja a conversão dos compostos nitrogenados tóxicos através da  
158 oxidação da matéria orgânica (Moss et al., 2001).

159 Uma das principais fontes de entrada de nitrogênio e fósforo no sistema é o  
160 suprimento de ração que sofre lixiviação dos seus nutrientes e a excreção dos  
161 organismos cultivados (Thakur & Lin 2003; Cohen et al., 2005). O crescimento das  
162 bactérias heterotróficas é responsável pelo processo de reciclagem de resíduos,  
163 proporcionando a manutenção da qualidade da água. Tal fenômeno ocorre devido à  
164 assimilação do nitrogênio amoniacal, que provem da excreta dos animais, e forma os  
165 bioflocos, posteriormente consumidos pelos camarões, atuando como suplemento  
166 alimentar (McIntosh et al. 2000; Moss et al. 2001; Samocha et al. 2001; Burford et al.  
167 2003). A suplementação alimentar dos bioflocos torna-se uma importante fonte de  
168 proteína para os camarões e permite a ciclagem dos nutrientes lixiviados da ração não  
169 consumida pelos camarões (Burford et al. 2003; Ebeling et al. 2006; Wasielesky et al.  
170 2006; Avnimelech, 2007; Ballester et al. 2010).

171 Uma ferramenta importante neste sistema é utilização de berçários, que é  
172 definido como uma fase intermediária entre o período inicial do estágio de pós-larva e a  
173 fase de engorda (Mishra et al. 2008; Correia et al 2014). Nesta fase são utilizadas  
174 elevadas densidades de estocagem (acima de 1000 camarões m<sup>-2</sup>), possibilitando maior  
175 controle de doenças e maior crescimento e sobrevivência no ciclo final de produção,  
176 além disso, os custos de produção podem diminuir e também aumentar do número de  
177 safras nos cultivos (Kumlu et al, 2001; Krummenauer et al. 2010). Alguns autores citam  
178 as vantagens de se utilizar a fase de berçário como estratégia para obter camarões com  
179 melhor uniformidade de tamanho, maiores sobrevivências, tolerância às variações  
180 ambientais e maior biossegurança nos sistemas de cultivo, pois o berçário atua como  
181 uma quarentena para o monitoramento de potenciais doenças, somado a isso, no sistema  
182 BFT, a comunidade microbiana formada durante a fase de berçário é aproveitada como  
183 inoculo na fase de engorda (Samocha et al. 2000; Moss & Moss 2004; Cohen et al.  
184 2005).

185 O manejo alimentar é fundamental para a manutenção da qualidade da água,  
186 desempenho zootécnico dos camarões e imprescindível para o sucesso econômico e  
187 sustentável das fazendas de camarão, pois os gastos com alimentação em sistemas  
188 convencionais correspondem a 50% dos gastos de uma produção intensiva, necessitando

189 assim, de um manejo eficiente para o sucesso do cultivo comercial de camarões  
190 (Quintero & Roy, 2010). Segundo Robertson et al. (1993) comparando diferentes  
191 frequências alimentares em sistema convencional em viveiros, o camarão *L. vannamei*  
192 apresentou melhor crescimento quando as alimentações eram fornecidas quatro vezes ao  
193 dia comparadas a uma frequência alimentar reduzida. Por outro lado, Velasco et al.,  
194 (1999) utilizando sistema fechado de cultivo observaram que o aumento da frequência  
195 alimentar para *L. vannamei* não apresentou diferenças significativas nas taxas de  
196 crescimento e parâmetros de qualidade da água. Autores que avaliaram o desempenho  
197 zootécnico dos camarões e a qualidade da água em sistemas tradicionais de cultivo  
198 relacionados com o aumento da frequência alimentar, sugerem que o aumento da  
199 frequência não beneficia a produção e a manutenção da qualidade de água, pois os  
200 animais apresentaram mesmo peso final, conversão alimentar e sobrevivência (Carvalho  
201 & Nunes, 2006). No entanto, Lima et al. (2009) observaram uma maior atividade dos  
202 camarões quando expostos a uma baixa frequência alimentar (3 a 4 alimentações/dia),  
203 quando comparado aos animais alimentados 7 vezes ao dia. Os autores observaram que  
204 a exploração da área de cultivo pelos camarões era menor e os animais eram mais  
205 inativos em alta frequência alimentar. Estes autores também sugerem que 3  
206 alimentações por dia são benéficas ao animal e também ao produtor, pois gera menores  
207 gastos na produção. Sendo assim, o conhecimento do melhor manejo alimentar referente  
208 à frequência alimentar é de extrema importância para o sucesso da produção e  
209 aperfeiçoamento das técnicas utilizadas em sistema de bioflocos na fase de berçário.

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221 **2. OBJETIVO GERAL:**

222

223 Avaliar o efeito de diferentes frequências alimentares na fase de berçário sobre o  
224 cultivo superintensivo do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em sistema de  
225 bioflocos.

226

227 **2.1. Objetivos específicos**

228

229 • Avaliar o efeito de diferentes frequências alimentares na fase de berçário sobre a  
230 qualidade da água no cultivo do camarão-branco *L. vannamei* em sistema de  
231 bioflocos.

232 • Avaliar o efeito de diferentes frequências alimentares na fase de berçário sobre o  
233 desempenho zootécnico do camarão-branco *L. vannamei* em sistema de  
234 bioflocos.

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

### 253 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 254 3.1. Local

255 O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA), pertencente  
256 ao Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (IO-FURG), Rio  
257 Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

#### 258 3.2. Origem animais

259 Foram utilizadas pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* (Aquatec<sup>®</sup>, Rio Grande do  
260 Norte, Brasil) com peso médio inicial de 0,037g±0,003g.

#### 261 3.3. Delineamento experimental

262 O estudo foi realizado em uma estufa equipada com nove tanques de 35 m<sup>2</sup>,  
263 revestidos com geomembrana (Nortene<sup>®</sup> 1,5 mm), equipados com o sistema de aeração  
264 por ar difuso, injetando ar no sistema através de um soprador tipo “blower” (7hp), e  
265 distribuído pelos tanques por mangueiras microperfuradas (Aerotubes<sup>®</sup>). As pós-larvas  
266 foram estocadas a uma densidade de estocagem de 2000 camarões m<sup>-2</sup> e cultivados por  
267 40 dias, de setembro a outubro de 2012.

268 Para o desenvolvimento deste estudo foram testados três diferentes frequências  
269 alimentares com três repetições cada, sendo, uma alimentação diária (T1), 3  
270 alimentações diárias (T3) e 6 alimentações diárias (T6). As diferentes frequências  
271 foram distribuídas nos seguintes horários: T1 (15:00), T3 (07:00, 15:00 e 23:00) e T6  
272 (07:00, 11:00, 15:00, 19:00, 23:00 e 03:00). Os camarões foram alimentados com ração  
273 comercial com 40% de proteína bruta (Guabi<sup>®</sup> Potimar 0,8-1,2 mm) e a taxa de  
274 arraçoamento diário seguiu metodologia proposta por Jory et al. (2001). Foram  
275 utilizadas bandejas de alimentação para controle das sobras e visualização dos  
276 camarões.

277 A formação dos bioflocos seguiu as metodologias propostas por Avnimelech (1999)  
278 e Ebeling et al. (2006) a fim de manter uma relação C:N de aproximadamente entre 15 e  
279 20:1 utilizando como fonte orgânica de carbono melaço de cana líquido (37,46% de  
280 carbono). Com a finalidade de acelerar a formação da comunidade microbiana foi  
281 utilizado um inoculo de bioflocos correspondente a 5% do volume total da unidade  
282 experimental (aproximadamente 1750 L) proveniente de uma produção de camarão em  
283 andamento, como sugerido por Krummenauer et al. (2014a). O inoculo utilizado

284 possuía concentrações de amônia e nitrito não detectadas, 63 mg L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e 250 mg  
285 L<sup>-1</sup> de sólidos suspensos totais. Foram realizadas aplicações do probiótico comercial  
286 (INVE<sup>®</sup>) através de duas vias de aplicação, aplicado diretamente na água (0,5 ppm) e  
287 misturada na ração (3 g/kg ração).

288

### 289 **3.4. Variáveis físicas e químicas da água**

290 As determinações de temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade e pH foram  
291 realizadas duas vezes ao dia com auxílio de um multiparâmetro YSI 556 MPS (YSI<sup>®</sup>  
292 Inc., Yellow Springs, Ohio, Estado Unidos). As concentrações de nitrogênio amoniacal  
293 total e nitrito foram mensurados três vezes por semana e concentrações de nitrato e  
294 fosfato mensuradas semanalmente conforme metodologias propostas pela UNESCO  
295 (1983) e Strickland & Parsons (1972), respectivamente. A alcalinidade foi analisada três  
296 vezes por semana conforme metodologia proposta por APHA (1998) e quando a  
297 alcalinidade alcançava valores abaixo de 160 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> e o pH atingiu valores  
298 abaixo de 7,3 (níveis recomendados por Ebeling et al. 2006) foram feitos ajustes com  
299 hidróxido de cálcio, seguindo a metodologia descrita por Furtado et al. (2011). A  
300 turbidez da água foi determinada com um turbidímetro (Hach<sup>®</sup> 2100P, Hack Company,  
301 Loveland, Colorado, United States) e a transparência da água mensurada semanalmente  
302 com o Disco de Secchi. A metodologia de análise dos sólidos suspensos totais (SST)  
303 utilizada foi adaptada de Strickland & Parsons (1972). Os níveis dos SST foram  
304 mantidos abaixo de 500mg L<sup>-1</sup> seguindo o recomendado por Samocha et al (2007) e  
305 Gaona et al (2011). Foram utilizados decantadores para o processo de clarificação  
306 quando os níveis alcançaram valores próximos a 500 mg L<sup>-1</sup>.

307

### 308 **3.5. Análise da comunidade microbiana**

309 Para caracterização e quantificação da comunidade microbiana presente nos  
310 bioflocos e na água do cultivo, foram coletadas amostras iniciais, intermediárias e finais  
311 da água de cada unidade experimental. As amostras foram fixadas em formalina 4% e  
312 lugol, mantidas em frascos âmbar para posterior contagem e identificação de grupos de  
313 microorganismos presentes.

314 Para contagem de ciliados (20-200µm), flagelados (2-20µm) e microalgas foi  
315 utilizado microscópio invertido Zeiss Axiovert<sup>®</sup> com magnificação final de 400 x.

316 Alíquotas de 0,5 ml de amostra foram contadas em câmara de sedimentação por 30  
317 campos aleatórios (Utermöhl, 1958). Os microorganismos foram enquadrados em  
318 diferentes grupos. Todas as contagens foram realizadas no Laboratório de Ecologia do  
319 Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos, IO/ FURG.

320

### 321 **3.6. Teste de lixiviação da ração e perfil de aminoácidos e proteína bruta dos** 322 **bioflocos**

323 O teste de lixiviação da ração foi realizado seguindo a metodologia descrita a seguir:  
324 150 g de ração foram expostos a diferentes tempos, 01 até 24h com intervalo de 4h, em  
325 caixas com volume de 800 litros, sem camarões, com os mesmos parâmetros das  
326 unidades experimentais. As amostras foram secas a 60°C até obterem peso constante e  
327 pesado posteriormente. O cálculo para avaliar a perda da estabilidade da ração baseia-se  
328 na seguinte fórmula  $(P_f/P_i)*100$ , onde  $P_f$ =peso final,  $P_i$ =peso inicial, sem considerar a  
329 umidade da ração (AOAC, 1990). Ao final do experimento foi coletada amostra de  
330 bioflocos utilizando uma bomba submersa, com vazão de 4000 L/h e uma malha com  
331 tamanho de 50  $\mu$ m para a análise do perfil de aminoácidos e proteína bruta (Gehrke,  
332 1987).

333

### 334 **3.7. Desempenho zootécnico**

335 O crescimento dos camarões foi acompanhado por meio de biometrias a cada sete  
336 dias, com 100 indivíduos por tratamento, utilizando balança digital com precisão de  
337 0,01 g (Marte® científica AS2000, Santa Rita do Sapucaí, MG, Brasil). Para avaliar o  
338 desempenho zootécnico dos camarões foram determinados: ganho de peso semanal  
339 (GPS) pelo seguinte cálculo:  $GP/ n^\circ$  semanas de cultivo. A conversão alimentar aparente  
340 (CAA) foi obtida pela seguinte fórmula: alimento oferecido / incremento de biomassa.  
341 A sobrevivência foi calculada através de:  $(\text{biomassa final} / \text{peso médio individual})/n^\circ$   
342  $\text{indivíduos estocados} \times 100$ . A produtividade foi obtida pelo seguinte cálculo:  $\text{biomassa}$   
343  $\text{final} / \text{volume do tanque}$ . Taxa de Crescimento Específico (%), sendo este último  
344 calculado por  $(\text{Ln}P_f - \text{Ln}P_i) \times 100 / \text{ND}$ , na qual  $P_f$  representa o peso final,  $P_i$  o peso  
345 inicial e ND o número de dias de cultivo.

346

347

348 **3.8. Análise histopatológica**

349 Foram coletadas amostras iniciais, intermediárias e finais com 30 camarões de cada  
350 tratamento (dez camarões de cada réplica), posteriormente anestesiados com gelo e  
351 fixados com solução Davidson por 24 horas, sendo posteriormente colocados no álcool  
352 70%. As amostras foram processadas no processador automático de tecidos LUPE PT  
353 05 com inclusão em Paraplast<sup>®</sup>Plus (Paraplast<sup>®</sup> Tissue Embedding Media,  
354 Microsystems Inc., Bannockburn, IL, USA). Após o emblocamento, os blocos foram  
355 cortados a 4µm no micrótomo LUPETEC MRPO3 e corados com hematoxilina-eosina.  
356 As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio (Zeizz Primo Star) com  
357 máquina fotográfica digital acoplada (Zeizz AxioCam ERc5s), em busca de possíveis  
358 lesões ocasionadas por patologias bacterianas. As amostras foram processadas e  
359 analisadas no Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos da  
360 Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande/RS.

361

362 **3.9. Análise estatística**

363 Foram realizados testes estatísticos a fim de comparar os resultados para a  
364 qualidade da água e desempenho zootécnico dos camarões nos diferentes tratamentos.  
365 Foram verificadas a homocedasticidade e a normalidade dos dados, através dos testes de  
366 Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Posteriormente foi aplicada ANOVA  
367 de uma via ( $\alpha = 0,05$ ). Para sobrevivência os valores percentuais foram transformados  
368 para arco-seno da raiz quadrada antes de analisados (Zar, 1996).

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380 **4. RESULTADOS**

381 **4.1. Variáveis físicas e químicas da água**

382 Os resultados obtidos para os parâmetros de temperatura, oxigênio dissolvido, pH,  
383 alcalinidade, salinidade e fosfato não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ )  
384 entre os diferentes tratamentos durante os 40 dias de experimento. Valores médios e  
385 desvio padrão dos resultados obtidos para estes parâmetros como estão representados na  
386 Tabela 1.

387

388 **Tabela 1** – Parâmetros físicos e químicos da água (média  $\pm$  desvio padrão) como  
389 temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ ), pH, alcalinidade ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ),  
390 salinidade e fosfato ( $\text{mg PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ ) nos tratamentos T1 (1 alimentação/dia), T3 (3  
391 alimentações/dia), T6 (6 alimentações/dia). Durante 40 dias de cultivo do *Litopenaeus*  
392 *vannamei* na fase de berçário em sistema BFT.

Parâmetros	Tratamentos		
	T1	T3	T6
Temperatura	26,4 $\pm$ 2,3	26,9 $\pm$ 2,4	26,3 $\pm$ 2,2
OD	5,9 $\pm$ 0,8	6,1 $\pm$ 0,6	6,1 $\pm$ 0,8
pH	7,6 $\pm$ 0,2	7,7 $\pm$ 0,2	7,7 $\pm$ 0,2
Alcalinidade	165,3 $\pm$ 26,1	161,6 $\pm$ 24,2	165,2 $\pm$ 23,5
Salinidade	31,1 $\pm$ 1,3	31,4 $\pm$ 1,9	31,0 $\pm$ 1,6
Fosfato	2,2 $\pm$ 2,1	2,3 $\pm$ 1,9	1,4 $\pm$ 1,5

393

394 Os dados de temperatura, oxigênio dissolvido e pH não apresentaram diferença  
395 significativa entre os tratamentos ( $p>0,05$ ). As variações de temperatura, oxigênio  
396 dissolvido e pH ao longo do tempo entre os três tratamentos estão expressados nas  
397 Figuras 1, 2 e 3.

398

399

400

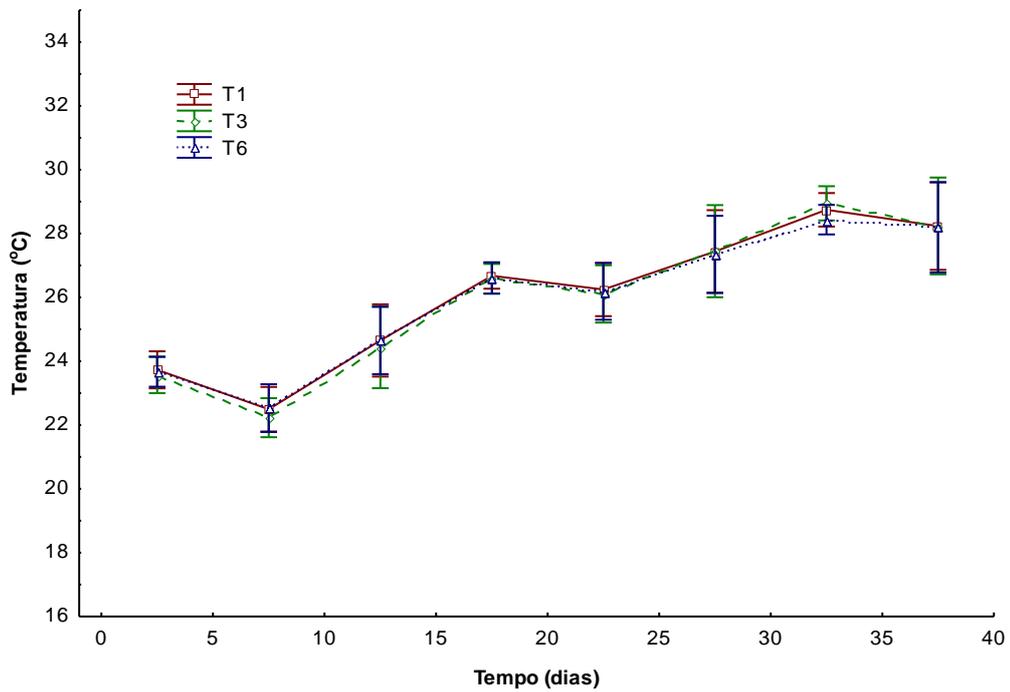
401

402

403

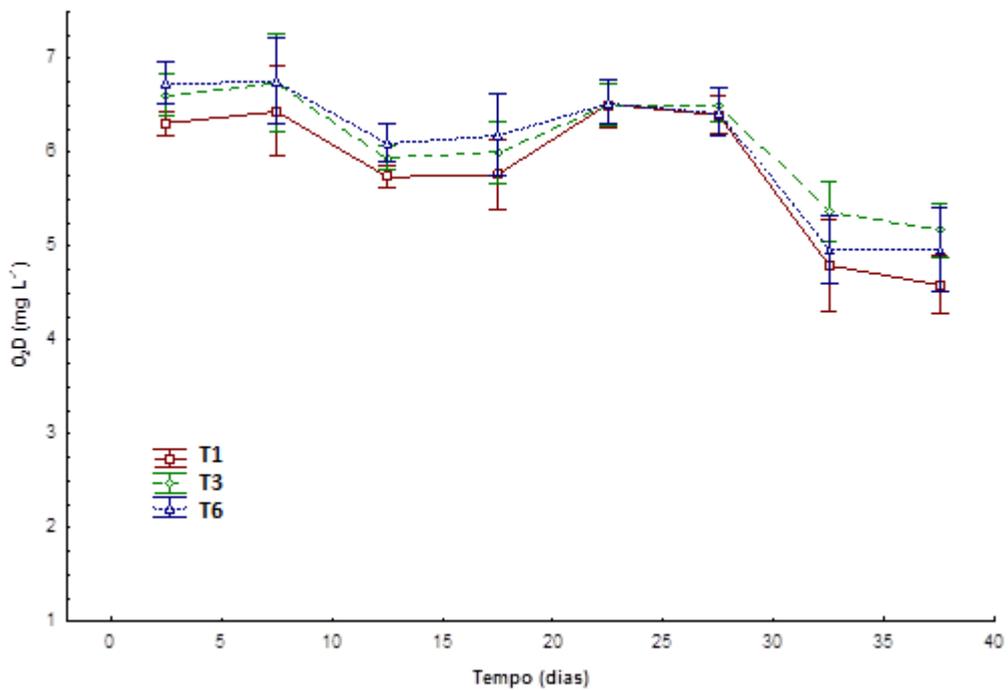
404

405



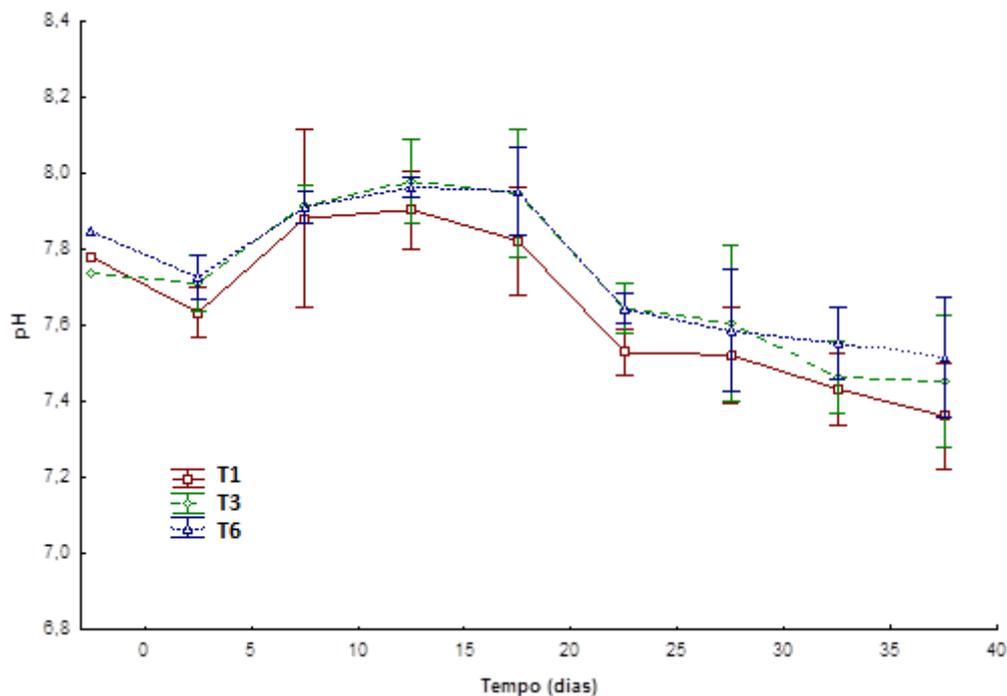
406  
407  
408  
409

**Figura 1** – Variações de temperatura ao longo do cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.



410  
411  
412

**Figura 2** - Variações de oxigênio dissolvido ao longo do cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.



413

**Figura 3** - Variações de pH ao longo do cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.

414

415 As concentrações de amônia, nitrito, nitrato, sólidos suspensos totais, turbidez e  
 416 transparência, nos diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas  
 417 entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) e estão sumarizados na Tabela 2.

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427 **Tabela 2** - Valores médios, desvio padrão, mínimos e máximos das concentrações de  
 428 amônia (mg N-AT L<sup>-1</sup>), nitrito (mg N-NO<sub>2</sub>- L<sup>-1</sup>), nitrato (mg N-NO<sub>3</sub>- L<sup>-1</sup>), sólidos  
 429 suspensos totais (mg L<sup>-1</sup>), valores de turbidez (NTU) e transparência (cm). Durante 40  
 430 dias de cultivo do *L. vannamei* na fase de berçário em sistema BFT, expostos as  
 431 diferentes frequências alimentares.

Tratamentos

Parâmetros	T1		T3		T6	
	Média±DP	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx
Amônia	0,3±0,5	0,0-3,2	0,2±0,3	0,0-1,4	0,2±0,4	0,0±2,4
Nitrito	1,6±1,2	0,0-5,0	1,2±0,8	0,0-3,5	1,9±1,7	0,0-7,0
Nitrato	20,4±12,7	2,5-46,0	19,6±12,7	3,3-45,0	14,9±9,9	0,5-33,0
SST	463,3±118,0	236-699	482,3±132,1	185-757	342,9±171,3	143-691
Turbidez	193,2±126,2	23-426	198,6±98,0	65-379	182,4±124,2	44-477
Transparência	13,7±5,6	8-28	13,1±5,4	7-25	14,9±5,7	8-27

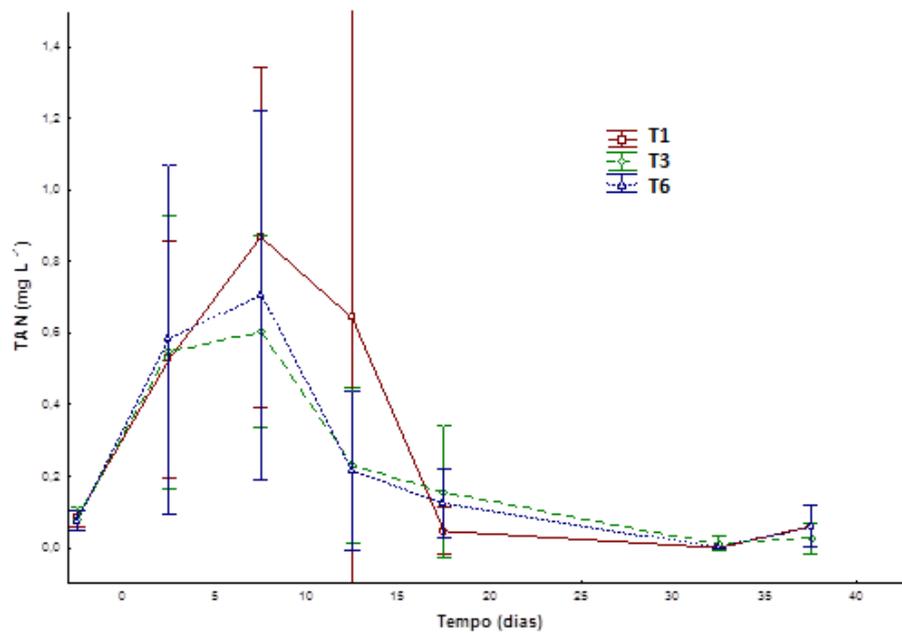
432

433 As variações das concentrações de amônia, nitrito e nitrato ao longo dos 40 dias  
 434 de experimento nos diferentes tratamentos não apresentaram diferença significativa  
 435 entre si ( $p>0,05$ ) e estão apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6.

436 No tratamento com 1 alimentação/dia (T1), próximo ao 13° dia de experimento a  
 437 amônia total atingiu sua maior concentração, seguido de uma queda a partir do 15° dia  
 438 até o fim do estudo, representada na Figura 4. Com a estabilização da amônia, logo em  
 439 seguida houve o surgimento do nitrito a partir do 17° dia, onde o pico de nitrito ocorreu  
 440 no tratamento com 6 alimentações/dia (T6) e alcançou o valor máximo de 7,0 mg L<sup>-1</sup>,  
 441 como mostra a Figura 5. No tratamento (T1) foram observados as maiores  
 442 concentrações de nitrato, alcançando um valor máximo de 46 mg L<sup>-1</sup>, representados na  
 443 Figura 6. Ambos os parâmetros não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ).

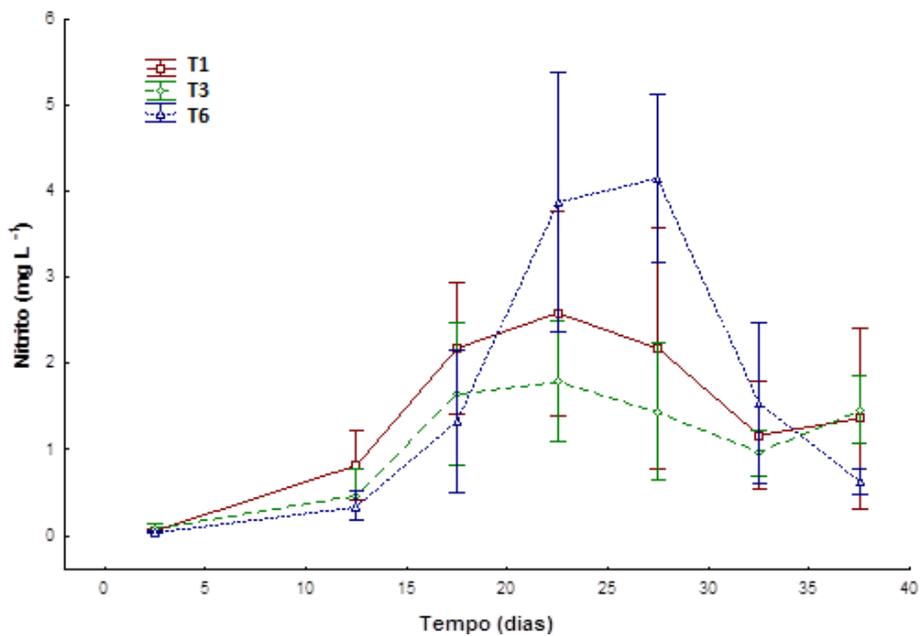
444

445



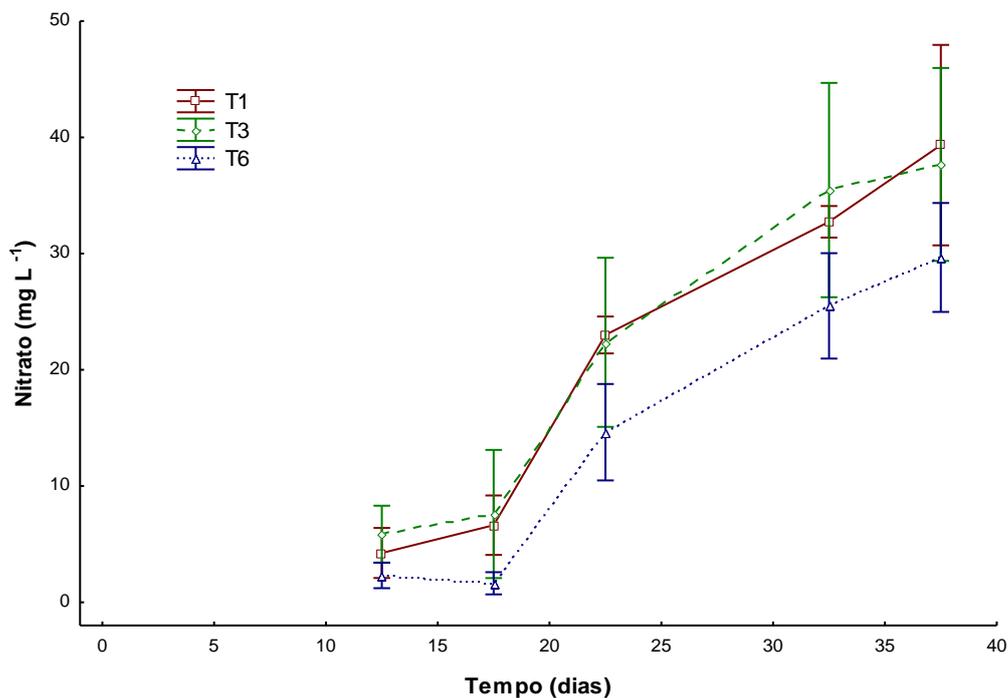
**Figura 4** - Variações médias das concentrações de amônia ( $\text{mg N-AT L}^{-1}$ ) nos três tratamentos durante o cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.

446



447

**Figura 5** - Variações médias das concentrações de nitrito ( $\text{mg N-NO}_2^- \text{L}^{-1}$ ) nos três tratamentos durante o cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.



448

**Figura 6** - Variações médias das concentrações de nitrato ( $\text{mg N-NO}_3^- \text{L}^{-1}$ ) nos três tratamentos durante o cultivo de *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.

452

453

454 Os valores médios das concentrações de sólidos suspensos totais não  
 455 apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Porém no tratamento  
 456 com 3 alimentações/dia (T3), próximo ao 20º dia as concentrações de sólidos suspensos  
 457 totais atingiram concentrações acima do recomendado para a espécie, mas não  
 458 apresentou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) e não afetou a qualidade de água e o  
 459 desempenho zootécnico dos camarões (Figura 7).

460

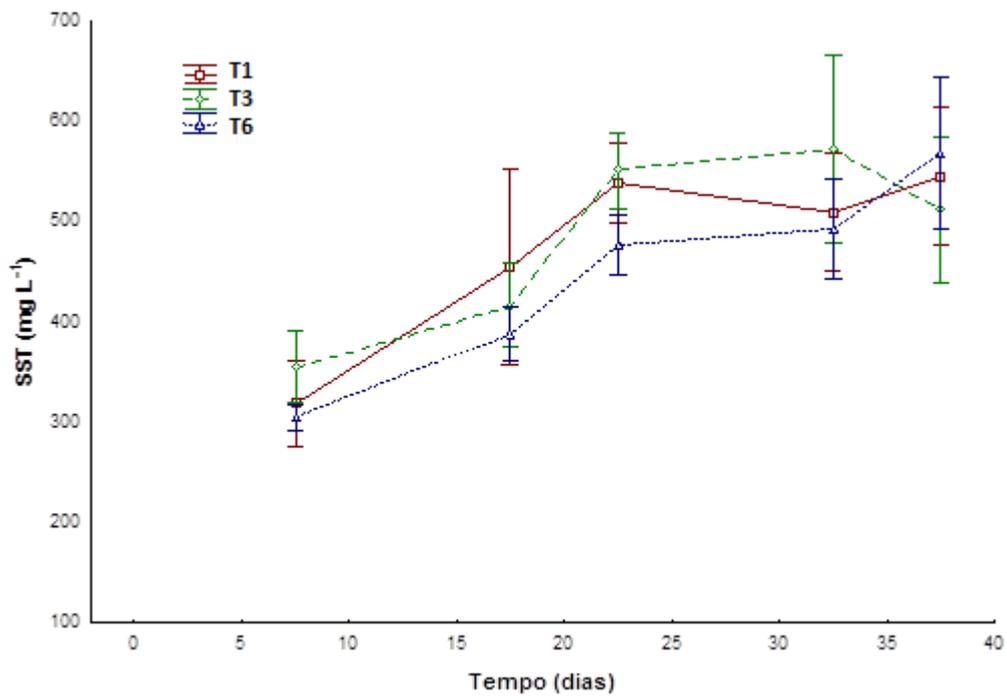
461

462

463

464

465



466  
 467  
 468  
 469  
 470  
 471

**Figura 7** - Variações médias das concentrações de Sólidos Suspensos Totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) durante os 40 dias de cultivo do *L. vannamei* expostos a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em sistema BFT. As barras verticais indicam o desvio padrão.

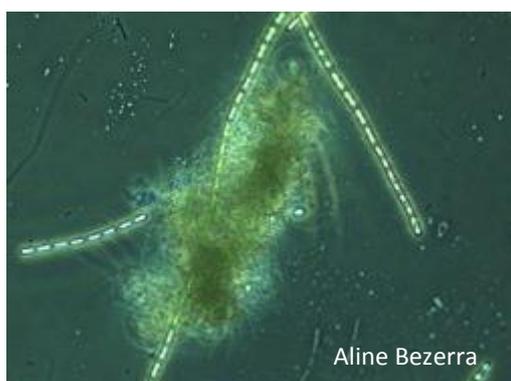
### 4.1.1. Microorganismos

Os principais grupos de microorganismos observados nas amostras dos bioflocos são apresentados na Tabela 3. Observou-se a dominância das microalgas autotróficas, as clorofíceas *Oocysts* sp e *Planctonema* sp sobre os demais microorganismos heterotróficos, como ciliados, flagelados e rotíferos (Figuras 8 e 9).

**Tabela 3** – Densidades de microorganismos (valores médios) encontrados nos bioflocos dos diferentes tratamentos, dados encontrados nas amostras iniciais, intermediárias e finais.

Microorganismos (Org L <sup>-1</sup> )	T1	T3	T6
	Inicial		
<i>Planctonema</i> sp	6,4 10 <sup>4</sup>	6,2 10 <sup>4</sup>	5,7 10 <sup>4</sup>
<i>Oocysts</i> sp	3,4 10 <sup>5</sup>	4,0 10 <sup>5</sup>	3,1 10 <sup>5</sup>
Flagelados	8,1 10 <sup>5</sup>	7,0 10 <sup>4</sup>	8,2 10 <sup>4</sup>
Ciliados	5,1 10 <sup>4</sup>	5,5 10 <sup>4</sup>	5,2 10 <sup>4</sup>
Nematóides	5,6 10 <sup>4</sup>	5,8 10 <sup>4</sup>	3,8 10 <sup>4</sup>
	Intermediária		
<i>Planctonema</i> sp	5,4 10 <sup>4</sup>	5,5 10 <sup>4</sup>	8,5 10 <sup>4</sup>
<i>Oocysts</i> sp	3,9 10 <sup>5</sup>	3,5 10 <sup>5</sup>	3,3 10 <sup>5</sup>
Flagelados	5,1 10 <sup>4</sup>	5,0 10 <sup>4</sup>	3,9 10 <sup>4</sup>
Ciliados	2,7 10 <sup>4</sup>	2,4 10 <sup>4</sup>	2,6 10 <sup>4</sup>
Nematóides	NE*	NE*	NE*
	Final		
<i>Planctonema</i> sp	1,1 10 <sup>5</sup>	1,4 10 <sup>5</sup>	1,1 10 <sup>5</sup>
<i>Oocysts</i> sp	8,1 10 <sup>4</sup>	1,2 10 <sup>5</sup>	9,4 10 <sup>4</sup>
Flagelados	1,1 10 <sup>5</sup>	6,9 10 <sup>4</sup>	6,7 10 <sup>4</sup>
Ciliados	2,5 10 <sup>4</sup>	4,6 10 <sup>4</sup>	3,4 10 <sup>4</sup>
Nematóides	NE*	NE*	NE*

\*NE= microorganismos não encontrados.



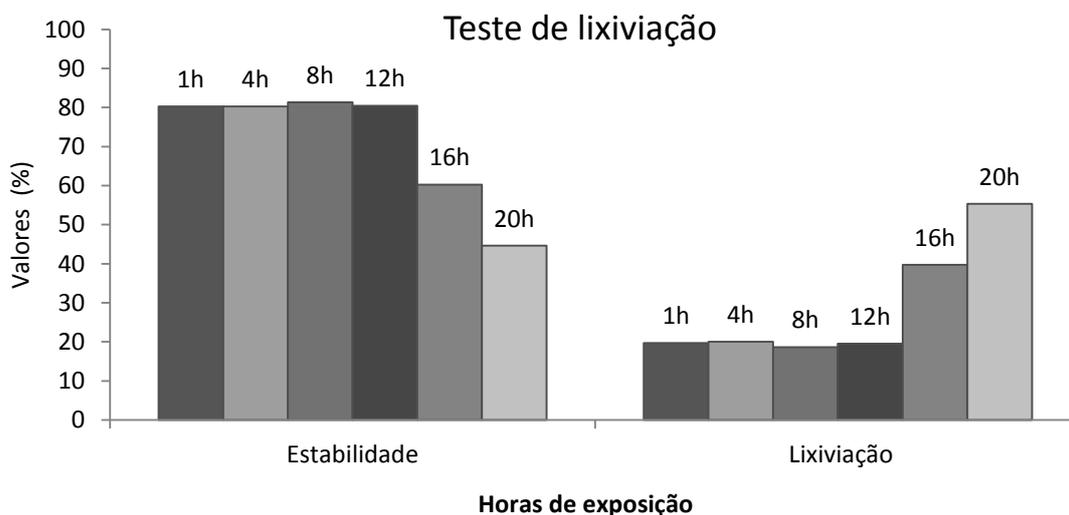
**Figura 8** - Bioflocos e a clorofíceia *Planctonema* sp. Lente 40x.



**Figura 9** – Clorofíceia *Oocysts* sp e ciliados. Lente 40x.

#### 4.2. Teste de lixiviação da ração e Proteína bruta dos bioflocos

Os dados obtidos no teste de lixiviação da ração exposta em diferentes tempos, 1 à 24h, com intervalo de 4h, foram encontrados valores em porcentagem para estabilidade e lixiviação da ração com 40% de proteína bruta de acordo com o tempo de exposição, como demonstrado na Figura 10.



**Figura 10** - Valores em (%) para estabilidade e lixiviação da ração com 40% PB usada na fase de berçário em sistema BFT.

Foram realizadas análises do perfil de aminoácidos nos bioflocos e da quantidade de proteína bruta em cada unidade experimental. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

514 **Tabela 4** - Valores médios e desvio padrão para o perfil de aminoácidos e  
 515 quantidade de proteína bruta encontrados nos bioflocos dos diferentes  
 516 tratamentos do cultivo de *L. vannamei* na fase de berçário em sistema  
 517 BFT, durante 40 dias de cultivo e valores % recomendados para camarões  
 518 na dieta.

Perfil aminoácidos dos Bioflocos				Valores recomendados
	T1	T3	T6	(% da dieta)
Proteína bruta (%)	18,90±1,3	19,71±3,5	18,22±3,2	30-45 <sup>a</sup>
Soma AA	14,19±0,6	14,77±2,3	13,99±3,2	
<i>Aminoácidos não essenciais</i>				
Ác Aspártico	0,54±0,1	0,61±0,2	0,62±0,3	
Ác Glutâmico	1,56±0,2	1,64±0,3	1,65±0,6	
Alanina	1,28±0,0	1,38±0,3	1,25±0,2	
Cistina	0,28±0,0	0,27±0,0	0,30±0,0	
Glicina	1,41±0,1	1,46±0,3	1,35±0,3	
Prolina	1,07±0,2	1,11±0,1	1,05±0,2	
Serina	0,97±0,0	1,00±0,2	0,96±0,2	
Taurina	0,03±0,0	0,04±0,0	0,04±0,0	
Tirosina	0,55±0,0	0,55±0,1	0,54±0,1	
<i>Aminoácidos essenciais</i>				
Arginina	1,03±0,0	1,04±0,1	0,96±0,2	2,32 <sup>b</sup>
Fenilalanina	0,74±0,0	0,78±0,1	0,70±0,1	1,40 <sup>c</sup>
Histidina	0,21±0,0	0,19±0,1	0,24±0,0	0,80 <sup>c</sup>
Isoleucina	0,57±0,1	0,62±0,1	0,56±0,1	1,01 <sup>c</sup>
Leucina	1,26±0,0	1,32±0,2	1,19±0,2	1,70 <sup>c</sup>
Lisina	0,63±0,0	0,66±0,1	0,60±0,1	1,64 <sup>d</sup>
Metionina	0,27±0,0	0,25±0,0	0,25±0,1	0,90 <sup>e</sup>
Treonina	0,86±0,1	0,91±0,1	0,85±0,2	1,51 <sup>f</sup>
Valina	0,91±0,1	0,95±0,2	0,88±0,2	1,40 <sup>j</sup>

519 Triptófano não foi determinado.

520 a Decamp et al (2002).

521 b Zhou et al. (2012).

522 c Millamena et al. (1999).

523 d Xie et al. (2012).

524 e Richard et al. (2010).

525 f Zhou et al. (2013).

526 j Teshima et al. (2010).

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

### 537 4.3. Desempenho zootécnico

538 Os índices de desempenho zootécnico dos camarões cultivados não demonstraram  
539 diferenças significativas ( $p>0,05$ ) em todos os índices entre os diferentes tratamentos,  
540 apresentados os com valores médios e desvio padrão na Tabela 5.

541

542 **Tabela 5** - Desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei* (média e desvio padrão)  
543 para peso inicial (g) e final (g), sobrevivência (%), conversão alimentar aparente  
544 (CAA), taxa de crescimento específico (TCE%), biomassa final (kg tanque<sup>-1</sup>) e  
545 produtividade exposto a diferentes frequências alimentares na fase de berçário em  
546 sistema BFT, durante cultivo de 40 dias.

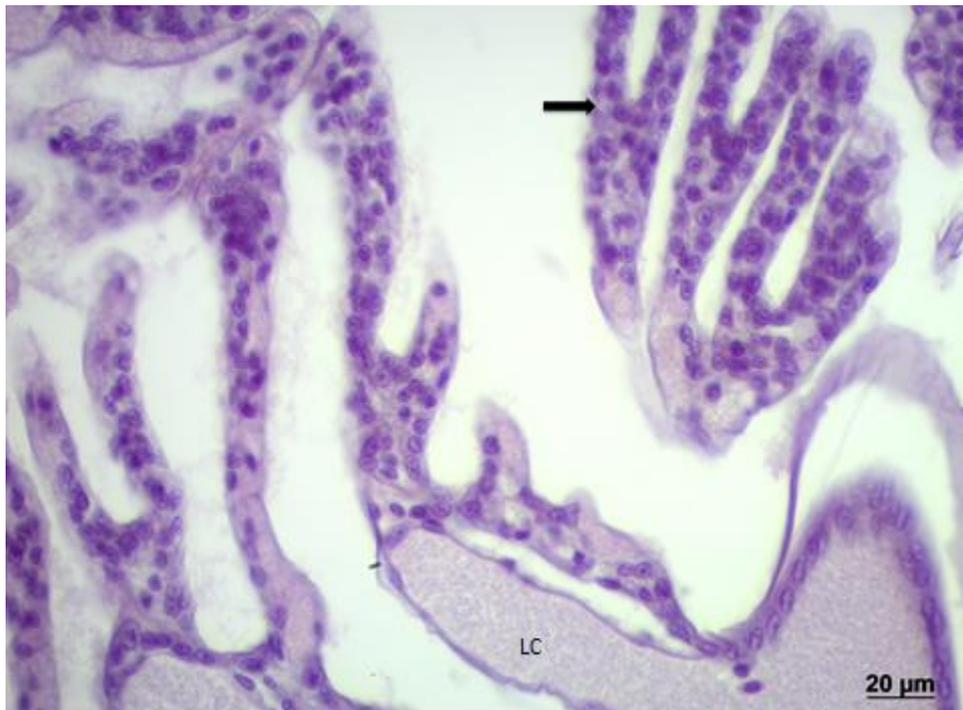
Desempenho	Tratamentos			
	Zootécnico	T1	T3	T6
Peso inicial		0,03±0,003	0,03±0,003	0,03±0,003
Peso final		0,9±0,3	1,0±0,4	1,0±0,4
Sobrevivência		91,0±11,4	80,0±6,4	77,8±2,5
CAA		1,5±0,3	1,2±0,3	1,4±0,2
TCE		8,0±0,08	8,3±0,05	8,4±0,09
Biomassa final		63,7±8,0	55,9±4,5	54,5±1,8
Produtividade		1,8±0,2	1,6±0,1	1,6±0,1

547

### 548 4.4. Histopatologia

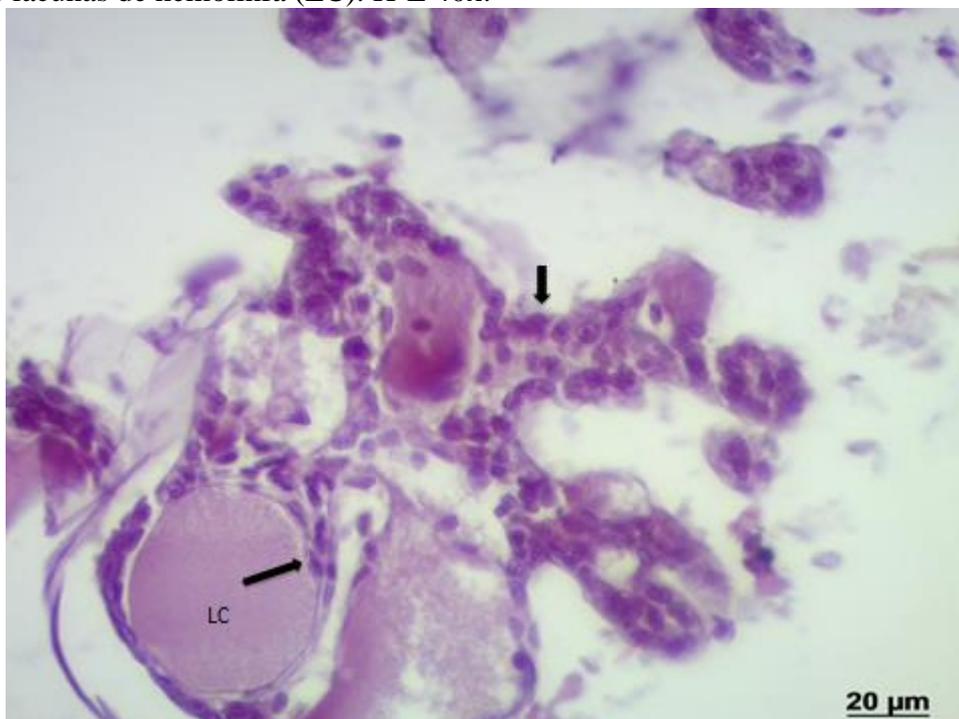
549 Inicialmente foi verificada a presença de vibriose pela visualização de características  
550 comuns, tais como vermelhidão nos apêndices, opacidade do musculo abdominal,  
551 presença de luminescência do telson, natação errática e letargia. Posteriormente a  
552 confirmação foi feita através da análise microscópica do hepatopâncreas dos camarões  
553 de todas as réplicas, onde a presença de necrose e de colônias bacterianas no interior do  
554 órgão foi indicativa de infecção bacteriana por *Vibrio spp.* De acordo com as secções  
555 histológicas no T1, os cortes histológicos das brânquias e hepatopâncreas não  
556 apresentaram alterações significativas, apresentando arquitetura das estruturas  
557 conservadas (Figuras 11 e 12). No entanto, no T6 onde foram obtidas sobrevivências  
558 inferiores aos demais tratamentos, foram encontrados anomalias estruturais nas  
559 brânquias e hepatopâncreas. Nas figuras 13 e 14 observam-se hiperplasia do epitélio de  
560 revestimento e acúmulo de hemolinfa nas brânquias. No hepatopâncreas foram

561 observadas atrofia dos túbulos, desorganização das células basais nucleadas, colônias  
562 bacterianas, entre outras anomalias, indicando a presença de *Vibrio* sp.



563

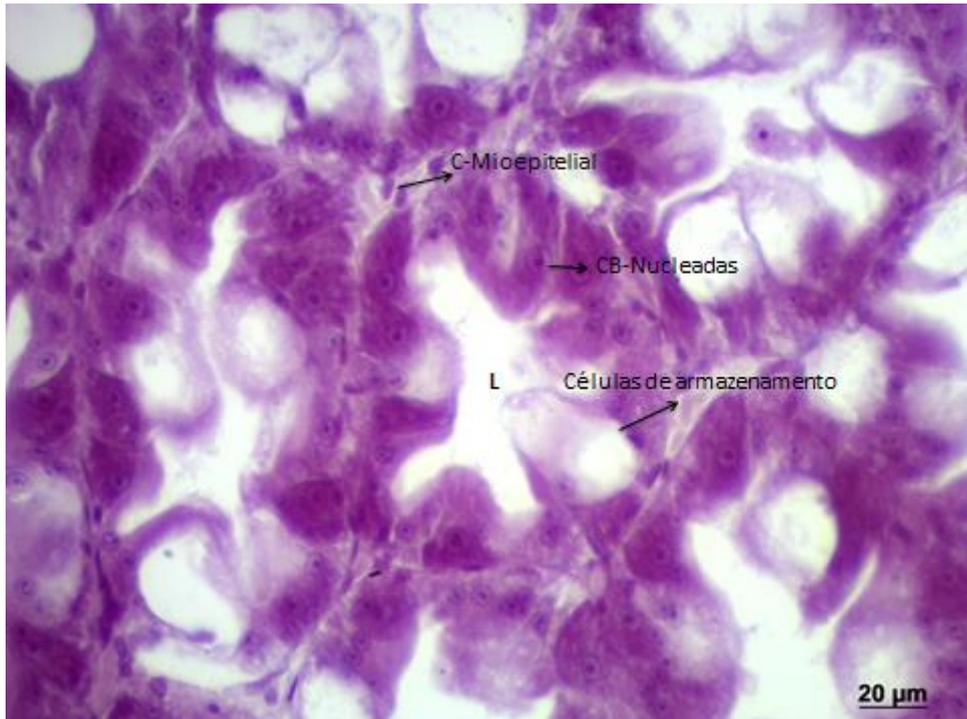
564 **Figura 11** Brânquias de *L. vannamei* correspondente ao T1 apresentando estruturas  
565 conservadas, sem alterações significativas. Lamínulas com epitélio respiratório normal  
566 (seta) e lacunas de hemolinfa (LC). H-E 40x.



567

568 **Figura 12** Brânquias de *L. vannamei* correspondente ao T6 apresentando hiperplasia do  
569 epitélio de revestimento e distorção da lamínula branquial (seta menor), lacuna de  
570 hemolinfa (LC) e endotélio lacunar (seta maior). H-E 40x.

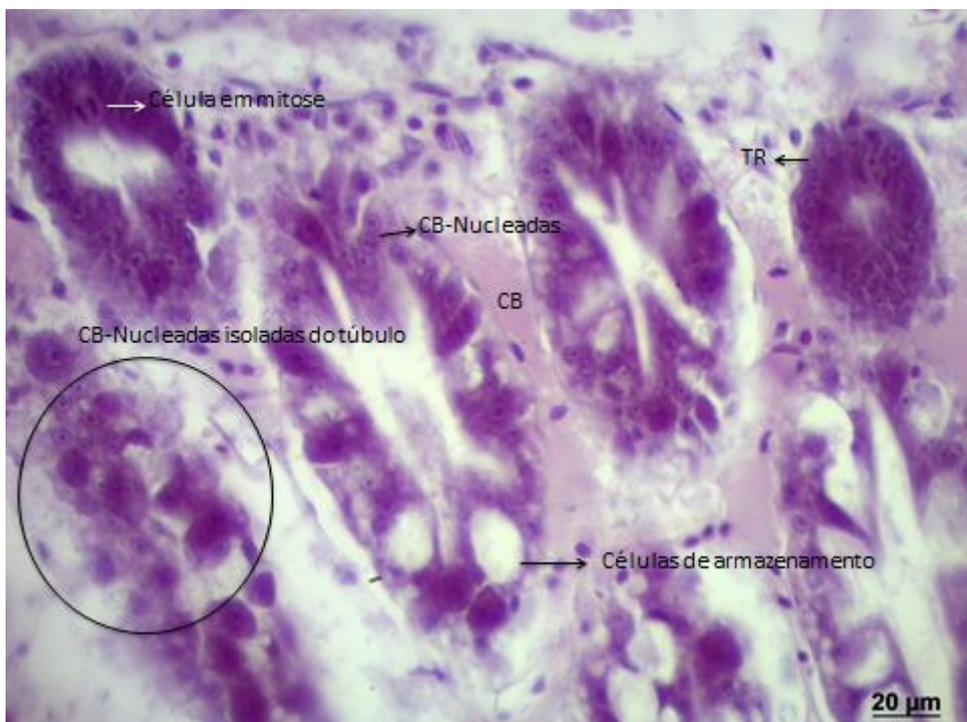
571



572

573 **Figura 13** Hepatopâncreas de *L. vannamei* correspondente ao T1 com a arquitetura das  
 574 estruturas conservadas, células basais nucleadas (CB-Nucleadas), lúmen (L), células de  
 575 armazenamento e túbulo rodeado por célula mioepitelia. H-E 40x.

576



577

578 **Figura 14** Hepatopâncreas de *L. vannamei* correspondente ao T6 com atrofia na  
 579 estrutura tubular, túbulo regenerativo (TR), célula em processo de mitose (seta branca),  
 580 colônias bacterianas (CB), desorganização do túbulo do hepatopâncreas (círculo),  
 581 células de armazenamento (seta maior), células basais nucleadas (seta menor). H-E 40x.

582

## 583 5. DISCUSSÃO

584

585 A temperatura é um dos fatores de maior importância para o crescimento,  
586 sobrevivência e metabolismo dos camarões. A espécie *L. vannamei* tolera uma ampla  
587 faixa de temperatura, e segundo Ponce-Palafox et al. (1997) para um melhor  
588 crescimento dos camarões a faixa ideal fica entre 25 e 35°C. No presente estudo a média  
589 de temperatura manteve-se aproximadamente em 26°C. Considerando alguns valores  
590 abaixo do recomendado, principalmente na fase inicial do cultivo, devido a fatores  
591 climáticos, provavelmente neste período, os valores de crescimento foram  
592 comprometidos, de acordo com Peixoto et al. (2003) trabalhando com *L. vanammei* na  
593 mesma região do presente estudo, em temperaturas abaixo de 27°C a espécie diminui  
594 sua taxa de crescimento. Entretanto, após este período inicial com baixas temperaturas,  
595 as mesmas permaneceram na faixa ideal para o melhor crescimento e sobrevivência dos  
596 camarões.

597 De acordo com Van Wyk & Scarpa (1999) as concentrações ideais de oxigênio  
598 dissolvido para o melhor crescimento e sobrevivência do *L. vannamei* devem ser  
599 superiores a 5 mg L<sup>-1</sup>. As concentrações médias de oxigênio dissolvido ao decorrer do  
600 presente estudo mantiveram-se acima de 5 mg L<sup>-1</sup>. No entanto ao fim do ciclo, devido  
601 ao aumento da biomassa dos camarões e também dos bioflocos as concentrações de  
602 oxigênio dissolvido alcançaram concentrações inferiores a faixa ideal, mas sem  
603 comprometer o desempenho zootécnico dos camarões.

604 Segundo Furtado et al. (2011), trabalhando em sistema de bioflocos ,  
605 observaram que o pH tende a diminuir e quando atinge valores inferiores a 7 afetam  
606 negativamente a qualidade da água e o desempenho zootécnico dos camarões, sendo  
607 necessária a aplicação de compostos alcalinizantes no sistema para a manutenção dos  
608 valores de pH e alcalinidade. Segundo Ebeling et al (2006), em sistemas com mínima  
609 troca de água, as concentrações de alcalinidade devem manter-se entre 100-150 mg  
610 CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, sendo as bactérias nitrificantes, presentes nos bioflocos, as principais  
611 redutoras dos níveis de alcalinidade. No presente estudo, as concentrações foram  
612 mantidas na faixa ideal para a espécie.

613 De acordo com Jiang et al. (2000), o camarão *L. vannamei* é uma espécie  
614 amoniotélica, como maioria dos crustáceos marinhos e sua principal forma nitrogenada  
615 resultante da excreção é a amônia. A amônia é um composto que tende a acumular em  
616 sistemas aquícolas devido à mineralização da matéria orgânica proveniente de fezes e

617 ração não consumida pelos organismos cultivados (Lin & Chen, 2001). Estes mesmos  
618 autores observaram que expondo juvenis de *L. vannamei* à toxicidade da amônia em  
619 diferentes salinidades, a toxicidade deste composto nitrogenado aumenta ao longo do  
620 tempo de exposição, onde após 96 horas de exposição à amônia a tolerância diminui até  
621 64,7%. No presente estudo as concentrações de amônia na forma de nitrogênio  
622 amoniacal total mantiveram-se abaixo dos níveis de segurança recomendados para  
623 salinidade 25 - 35, que são 3,55 - 3,95 mg N-AT L<sup>-1</sup> e não afetaram a qualidade da água  
624 e desempenho zootécnico dos camarões (Lin & Chen, 2001).

625 Segundo Lin & Chen (2003), o nível de segurança para o nitrito em salinidades  
626 que variam de 25 a 35 estão entre 15,2 - 25,7 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>. No presente estudo as  
627 concentrações de nitrito não ultrapassaram 6 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> e foram observadas no  
628 tratamento com 6 alimentações/dia.

629 O produto final da oxidação da amônia é o nitrato, este composto nitrogenado é  
630 menos nocivo aos camarões marinhos, pois para causar efeitos negativos no crescimento  
631 ou sobrevivência os valores precisam estar acima de 60 mg L<sup>-1</sup> (Van Wyk & Scarpa,  
632 1999). No sistema de bioflocos o nitrato tende a acumular, devido ao processo de  
633 nitrificação, principalmente quando existe a reutilização de água durante vários ciclos  
634 de cultivo (Kuhn, 2010). Nas condições experimentais do presente estudo as  
635 concentrações de nitrato não ultrapassaram 46 mg L<sup>-1</sup>, não afetando o desempenho dos  
636 camarões e a qualidade da água. Furtado et al (2014) testando a toxicidade aguda do  
637 nitrato em sistema de bioflocos, concentrações acima de 300mg L<sup>-1</sup> causaram redução  
638 no crescimento e mortalidade, afetando as brânquias e hepatopâncreas. No sistema de  
639 bioflocos uma ferramenta utilizada para otimização do cultivo superintensivo é a  
640 utilização de inoculo de uma água rica em bioflocos, onde a partir de 5% da unidade  
641 experimental é suficiente para proporcionar melhorias nas condições nutricionais dos  
642 camarões cultivados e qualidade da água, proporcionando também maior biossegurança  
643 e minimiza a utilização de água (Krummenauer et al. 2014a). Outro fator observado em  
644 relação às concentrações dos compostos nitrogenados que foram relativamente baixas  
645 neste estudo, provavelmente pela caracterização fotoautotrófica inicial do sistema de  
646 cultivo. Fato que é descrito por Ebeling (2006), onde são encontradas três vias para  
647 retirada de nitrogênio do sistema aquícola (foto-autotrófica, autotrófica e heterotrófica)  
648 que são dependentes de diferentes fatores como utilização de substrato, biomassa  
649 bacteriana gerada e subprodutos.

650 Em sistema de bioflocos assim como as concentrações de nitrato as  
651 concentrações de fosfato tendem a acumular no sistema e aumentaram suas  
652 concentrações ao decorrer do experimento em todos os tratamentos, porém não  
653 diferiram significativamente e foram inferiores aos valores de 40 mg L<sup>-1</sup> encontrados  
654 por Ray et al. (2010) e 50 mg L<sup>-1</sup> descritos por Barboza et al. (2013), sendo assim, não  
655 afetaram a qualidade da água e o desempenho zootécnico dos camarões.

656 Os valores médios das concentrações de sólidos suspensos totais (SST) não  
657 apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) e foram mantidos o mais próximo  
658 possível das concentrações recomendadas por Samocha et al. (2007) e Gaona et al.  
659 (2011), que são 500 mg L<sup>-1</sup>. Quando as concentrações alcançavam valores superiores, o  
660 sistema de clarificação era acionado. Segundo Schweitzer et al. (2013), as concentrações  
661 de sólidos suspensos totais inferiores a 200 mg L<sup>-1</sup> afetam o processo de nitrificação e  
662 concentrações acima de 800 mg L<sup>-1</sup> causam entupimento das brânquias e causam  
663 aumento na mortalidade, fato este que não foi observado no presente estudo.

664 Carvalho & Nunes (2006) testando diferentes frequências alimentares e a perda  
665 de nutrientes da ração por lixiviação constatou que em 1 hora de imersão da ração em  
666 água marinha cerca de 60,8% do peso inicial foi lixiviado, disponibilizando um  
667 aumento de matéria orgânica, afetando a qualidade da água e também diminuindo a  
668 estabilidade da ração. Observa-se que o aumento do tempo de exposição na água  
669 aumenta o percentual de lixiviação e diminui o percentual de estabilidade, ou seja,  
670 maior o tempo de contato com a água, maior será a quantidade de nutrientes perdidos e  
671 propriedades da ração lixiviados para o sistema de cultivo, afetando a qualidade da  
672 água, relacionando a alta qualidade do alimento fornecido aos camarões com seu poder  
673 de estabilização. Recomendações para que o alimento fique disponível na água é de dez  
674 minutos (Cantelmo, 2002), pois ocorre perda de nutrientes com o aumento do tempo de  
675 exposição na água, prejudicando a estabilidade dos peletes, interferindo na atratividade  
676 e no consumo da ração pelos camarões. Embora o teste de lixiviação tenha demonstrado  
677 que ao longo do tempo a ração tende a diminuir sua estabilidade, os resultados  
678 demonstram que esta diminuição não afetou o desempenho dos camarões,  
679 provavelmente devido aos microorganismos presentes nos bioflocos. Esta comunidade  
680 de bactérias possui a capacidade de reciclagem de matéria orgânica, pela absorção dos  
681 compostos nitrogenados, disponibilizando aos animais cultivados uma fonte proteica  
682 microbiana, atuando como fonte suplementar de alimento com alto valor nutricional  
683 (Decamp et al. 2002; Wasielesky et al. 2006).

684 Em estudo com sistema de troca de água reduzida Burford et al. (2004) sugerem  
685 que o alimento natural oriundo do material floculado presente no sistema fornece uma  
686 suplementação proteica entre 18 a 29% da retenção de nitrogênio, ou seja, até 29% do  
687 alimento consumido pelos camarões é proveniente dos bioflocos. Silva et al. (2013) ao  
688 realizar um balanço de massa do nitrogênio disponível em um sistema de bioflocos  
689 observou que neste tipo de cultivo os camarões absorvem acima de 40% do nitrogênio  
690 proteico disponibilizado, enquanto que no sistema convencional os camarões absorvem  
691 de 12 a 15% deste composto. Também em sistema de bioflocos, de acordo com  
692 Hargreaves (2013), aproximadamente 20 a 30 % do crescimento do camarão é derivado  
693 do consumo e digestão de proteína microbiana, proveniente dos bioflocos.

694 Através da análise da comunidade microbiana foi detectada a dominância das  
695 clorofíceas do gênero *Oocysts sp* e *Planctonema sp*. As clorofíceas são deficientes em  
696 nutrientes importantes para a nutrição animal, tais como os ácidos graxos poli-  
697 insaturados essenciais, como (EPA) Ácido Eicosapentaenóico 20:5 (n-3) e (DHA)  
698 Ácido Docosahexaenóico 22:6 (n-3), porém elas apresentam concentrações  
699 consideradamente elevadas de vitaminas, como riboflavina e ácido ascórbico (Brown et  
700 al. 1997).

701 Elevados níveis de proteína são encontrados nos bioflocos, tornando-os fonte  
702 suplementar de alimento aos camarões, ou seja, existe a disponibilidade de alimento  
703 natural ao longo do cultivo, devido a presença dos microorganismos. Os bioflocos  
704 também possuem níveis satisfatórios de ácidos graxos, aminoácidos essenciais, e  
705 minerais (Burford et al. 2004). Alguns autores encontraram níveis de proteína bruta  
706 presente nos flocos microbianos em torno de 30% ou superiores (Ballester et al. 2007;  
707 Wasielesky et al. 2006; Ju et al. 2008). O presente estudo obteve níveis de proteína  
708 bruta nos bioflocos em torno de 19%, valores mais próximos aos encontrados por Bauer  
709 et al. (2012), em torno de 23% de proteína bruta, na produção de farinha de bioflocos  
710 para substituição da farinha de peixe na formulação de rações e entre 18 a 28%  
711 encontrados por Emerenciano et al (2013) e Maicá et al (2012), respectivamente. Os  
712 dados obtidos no teste do perfil de aminoácidos presente nos bioflocos evidenciam a  
713 presença de todos os aminoácidos essenciais aos camarões, porém em níveis inferiores  
714 aos recomendados para a espécie segundo alguns autores (Zhou et al. 2012; Millamena  
715 et al. 1999; Xie et al. 2012; Richard et al. 2010; Zhou et al. 2013; Teshima et al. 2002).  
716 Estes valores inferiores para o perfil de aminoácidos dos bioflocos podem ser  
717 justificados pela deficiência nutricional das clorofíceas (Brown et al. 1997). No entanto

718 a presença destes aminoácidos encontrados nos bioflocos, principalmente lisina,  
719 arginina e treonina, são de extrema importância para o melhor crescimento e  
720 desenvolvimento dos camarões, muitos estudos sobre a exigência de aminoácidos em  
721 rações são realizados para assegurar os níveis para o melhor desempenho zootécnico  
722 dos camarões e asseguram o suplemento alimentar fornecido pelos bioflocos (Xie et al.  
723 2012; Zhou et al. 2012; Zhou et al. 2013; Wasielesky et al. 2006).

724 Em estudos na fase de berçário, que são realizados em altas densidades de  
725 estocagem, os parâmetros de sobrevivência e conversão alimentar tendem a variar, por  
726 exemplo, Samocha et al. (2007) obtiveram sobrevivências variando entre 68,9% e  
727 96,2% e CAA variando entre 1,7 e 2,1, por outro lado, Mishra et al (2008) observaram  
728 valores superiores, que variaram entre 78,2% e 96,2% para sobrevivência e valores de  
729 CAA foram observados entre 1,0 e 1,5 ambos os experimentos realizados em sistema de  
730 bioflocos, na fase de berçário. O presente estudo apresentou valores para sobrevivência  
731 variando de 78% e 91% sem diferença significativa entre os tratamentos. Para CAA  
732 foram obtidos dados entre 1,23 e 1,46, sem diferença significativa. As taxas de  
733 conversão alimentar do presente estudo são consideradas baixas e estão de acordo com  
734 outros trabalhos realizados no sistema de bioflocos, onde a produtividade microbiana  
735 natural presente nos bioflocos fornece suplementação alimentar aos camarões, (Ballester  
736 et al. 2007, Wasielesky et al. 2006, Cohen et al. 2005).

737 Com relação à sobrevivência, os valores podem ser explicados devido a uma  
738 infestação bacteriana observada ao longo do estudo, foram detectados indicativos da  
739 presença de *Vibrio* sp. Recentemente o surgimento de nova doença em cultivos  
740 convencionais de camarões foi atribuído à bactéria oriunda de uma cepa de *Vibrio*  
741 *parahaemolyticus*, chamada EMS (Early Mortality Syndrome), que causa lesões no  
742 hepatopâncreas dos camarões como atrofia e degradação dos túbulos, pode ocasionar  
743 100% de mortalidade em 20-30 dias após a estocagem. A tecnologia de bioflocos pode  
744 ser uma alternativa para o controle desta doença e outras causadas por vibrios, porém  
745 cautelas precisam ser tomadas para evitar perdas massivas na produção, como controle  
746 da comunidade fitoplanctônica e microbiana (Lightner et al. 2012, De Schryver et al.  
747 2014). O surgimento de enfermidades causadas por bactérias do gênero *Vibrio* afetam o  
748 crescimento e causam mortalidade, resultando em uma queda significativa na  
749 produtividade (Jayasree et al. 2006). Fato semelhante foi observado por Krummenauer  
750 et al. (2014b) que testou o uso de probióticos no controle de *V. parahaemolyticus*, os

751 autores observaram mortalidade acima de 50% nos tratamentos infectados com o  
752 *Vibrio*.

753 Diversos estudos em sistema de bioflocos são conduzidos com diferentes  
754 espécies de camarões peneídeos e confirmam a viabilidade da fase de berçário em  
755 sistema de bioflocos, que contribui para o rápido crescimento dos camarões (Arnold et  
756 al. 2009; Fóes et al. 2011). O peso final (g) dos camarões nas diferentes frequências  
757 alimentares não apresentou diferença significativa, variando entre 0,90 e 1,04 gramas.  
758 Provavelmente este fato ocorreu devido ao complemento alimentar fornecido pelos  
759 bioflocos. Este complemento nutricional também foi observado em outros estudos com  
760 sistema de bioflocos. Por exemplo, Wasielesky et al. (2006) comprovaram o efeito da  
761 produção natural através dos flocos microbianos em sistemas com zero troca de água. O  
762 mesmo autor, trabalhando na fase de berçário em sistema de bioflocos, avaliou o efeito  
763 de diferentes densidades de estocagem com *L. vannamei*, encontrando melhor  
764 crescimento e sobrevivência em densidade similar ao presente estudo após 30 dias de  
765 experimento (Wasielesky et al. 2013). De acordo com Velasco et al (1999) trabalhando  
766 com engorda de camarões afirmam que múltiplas alimentações ao dia não são  
767 necessárias quando possuímos sistema com zero troca de água, e no estudo foram  
768 utilizadas rações com menor teor de proteína bruta (19%), estocados em diferentes  
769 densidades 150 e 15 camarões m<sup>-2</sup>. Ambos os autores demonstram a importância da  
770 suplementação alimentar presente nos bioflocos. Os resultados do presente estudo  
771 contrariam os resultados obtidos por estudos em sistemas convencionais em viveiros de  
772 terra. Por exemplo, Robertson et al. (1993) e Nunes et al. (2006) observaram que, neste  
773 sistema são necessárias múltiplas frequências diárias de alimento, além disso, foi  
774 observado perdas dos nutrientes da ração por lixiviação em curtos períodos de tempo.

775 Os resultados do presente estudo contribuem para melhorar o manejo alimentar  
776 em cultivos com bioflocos, principalmente em relação ao suplemento alimentar  
777 fornecimento pelos bioflocos e sua contribuição no desempenho zootécnico dos  
778 camarões.

779

780

781

782

783

784

## 785 6. CONCLUSÃO

786

787 Os resultados apresentados evidenciam a possibilidade de diminuição na  
788 frequência alimentar na fase de berçário, sem que isto prejudique o crescimento e a  
789 sobrevivência dos camarões cultivados. Em sistema de bioflocos, o aumento do número  
790 de alimentações por dia não apresentou diferenças significativas no desempenho  
791 zootécnico e na qualidade da água. Desta forma, a utilização da menor frequência  
792 alimentar pode gerar menores gastos na produção e ao mesmo tempo aproveitar o  
793 suporte nutricional ofertado pelos bioflocos.

794

795

796

797

798

799

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

815

816

817

818

819 **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

820

821 AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 12th edn. Association of Official  
822 Analytical Chemists, Arlington, VA. 1298 pp.

823 APHA (American Public Health Association). 1998. Standard methods for the  
824 examination of water and wastewater. 20st edition. Washington, DC. 1193p.

825 ARNOLD, SJ, COMAN, FE, JACKSON, CJ, GROVES, SA. 2009. High-intensity,  
826 zero-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: An  
827 evaluation of artificial substrates and stocking density. Aquaculture, 293:42-48.

828 AVNIMELECH, Y. 1999. C/N ratio as a control element in aquaculture systems.  
829 Aquaculture, 176:227-235.

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

832 AVNIMELECH, Y. 2009. Biofloc technology - A practical guide book, first ed. The  
833 World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.

834 AZIM, ME, LITTLE, DC. 2008. Microbial protein production in activated suspension  
835 tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture.  
836 Bioresource Technology, 99(9):3590-3599.

837 BALLESTER, E, ABREU, P, CAVALLI, R, EMERENCIANO, M, DE ABREU, L,  
838 WASIELESKY JR, W. 2010. Effect of practical diets with different protein  
839 levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a  
840 zero exchange suspended microbial flocs intensive system. Aquacult. Nutr.  
841 16:163–172.

842 BALLESTER, ELC, WASIELESKY, W, CAVALLI, RO, ABREU, PC. 2007. Nursery  
843 of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial  
844 substrates: Biofilm composition and shrimp performance. Aquaculture,  
845 269:355-362.

846 BARBOZA, G, LARA, G, WASIELESKY JR, W. 2013. Efeito crônico do fósforo  
847 sobre o desempenho zootécnico de juvenis de *Litopenaeus vannamei*. Trabalho  
848 de conclusão de curso. Curso de Oceanologia. Universidade Federal do Rio  
849 Grande.

850 BAUER, W, PRENTICE-HERNANDEZ, C, TESSER, M, WASIELESKY, W,  
851 POERSCH, L. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy

852 protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*.  
853 Aquaculture, 342-343:112-116.

854 BROWDY, CL, BRATVOLD, D, STOKES, AD, MCINTOSH, RP, 2001.  
855 Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy,  
856 C.L., Jory, D.E. (Eds.). The New Wave, Proceedings of the Special Session on  
857 Sustainable Shrimp Culture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge,  
858 USA, pp 20-34.

859 BROWN, MR, SW JEFFREY, JK VOLKMAN & GA DUNSTAN. 1997. Nutritional  
860 properties of microalgae for mariculture. Aquaculture, 151:315-331.

861 BURFORD, MA, PJ, THOMPSON, RP, MCINTOSH, RH, BAUMAN, PEARSON,  
862 D.C. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange  
863 shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219:393–411.

864 BURFORD, MA, THOMPSON, RP, MCINTOSH, RP, BAUMAN, RH, PEARSON,  
865 DC. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus*  
866 *vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture,  
867 232:525–537.

868 CANTELMO, OA; PEZZATO, LE, BARROS, MM, PEZZATO, AC. 2002.  
869 Características físicas de dietas para peixes confeccionadas com diferentes  
870 aglutinantes. Acta Scientiarum Maringá, v.24, n.4, p.949-955.

871 CARVALHO, EA, NUNES, AJP. 2006. Effects of feeding frequency on feed leaching  
872 loss and grow-out patterns of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed  
873 under a diurnal feeding regime in pond enclosures. Aquaculture, 252:494–502.

874 COHEN, JM, TM SAMOCHA, JM FOX, RL GANDY, AL LAWRENCE. 2005.  
875 Characterization of water quality factors during intensive raceway production  
876 of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure  
877 management tools. Aquacultural Engineering, 32:425-442.

878 CORREIA, ES, WILKENFELD, JS, MORRIS, TC, WEI, L, PRANGNELL, DI,  
879 SAMOCHA, TM. 2014. Intensive nursery production of the Pacific white  
880 shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low  
881 protein content in a biofloc-dominated system. Aquacultural Engineering, 59:  
882 48-54.

883 CRAB, R, CHIELENS, B, WILLE, M, BOSSIER, P, VERSTRAETE, W. 2010. The  
884 effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for  
885 *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquac. Res. 41:559-567.

886 DE SCHRYVER, P, R CRAB, T DEFOIRDT, N BOON, AND W VERSTRAETE.  
887 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture.  
888 *Aquaculture*, 277:125–137.

889 DE SCHRYVER, P. & VERSTRAETE, W. 2009. Nitrogen removal from aquaculture  
890 pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing  
891 batch reactors. *Bioresource Technol.* 100:1162–1167.

892 DE SCHRYVER, P, DEFOIRDT, T, SORGELOOS, P. 2014. Early mortality syndrome  
893 outbreaks: a microbial management issue in shrimp farming? *PLOS*  
894 *Pathogens*. Vol 10-4.

895 DECAMP, O, L CONQUEST, I FORSTER & AGJ TACON. 2002. The nutrition and  
896 feeding of marine shrimp zero-water exchange aquaculture production systems:  
897 role of eukaryotic microorganisms. In: Lee C.S. and P. O’Byrne Eds. *Microbial*  
898 *approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture*  
899 *production systems*, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 79-  
900 86.

901 EBELING, JM, TIMMONS, MB, BISOGNI, JJ. 2006. Engineering analysis of the  
902 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of  
903 ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257:346-  
904 358.

905 EMERECIANO, M, CUZON, G, PAREDES, A, GAXIOLA, G. 2013. Evaluation of  
906 biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth  
907 performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of  
908 biofloc. *Aquacult Int*, 21:1381-1394.

909 FAO, 2014. The state of World Fisheries and Aquaculture. Disponível em:  
910 <http://www.fao.org>. Acesso em 23/05/2014.

911 FÓES, GK, FRÓES, C, KRUMMENAUER, D, POERSCH, L, WASIELESKY, W.  
912 2011. Nursery of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in biofloc technology  
913 culture system: survival and growth at different stocking densities. *J. Shellfish*  
914 *Res.* 30:1–7.

915 FURTADO, PS, POERSCH, LH, WASIELESKY, W. 2011. Effect of Calcium  
916 Hydroxide, Carbonate and Sodium Bicarbonate on Water Quality and  
917 Zootechnical Performance of Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared in Bio-  
918 Flocs Technology (BFT) Systems. *Aquaculture*, 321:130-135.

919 FURTADO, PS, CAMPOS, BR, SERRA, FP, KLOSTERHOFF, M, ROMANO, LA,  
920 WASIELESKY JR, W. 2014. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white  
921 shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT).  
922 Aquacult Int. DOI 10.1007/s10499-014-9817-z

923 GAONA, CAP, POERSCH, LH, KRUMMENAUER, D, FOES, GK, WASIELESKY,  
924 W. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of  
925 *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. International  
926 Journal of Recirculating Aquaculture, Volume 12, June 2011.

927 GEHRKE, CW, KUO, KC, KAISER, FE, ZUMWALT, RW. 1987. Analysis of  
928 aminoacids by gas chromatography as the n-trifluoroacetyl normal-butyl esters.  
929 Journal of the Association of Official Analytical Chemists 70, 160–170.

930 HARGREAVES, JA. 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. Southern  
931 Regional Aquaculture Center, 4503, 1–12.

932 JAYASREE, L, JANAKIRAM, P, MADHAVI, R. 2006. Characterization of *Vibrio*  
933 spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh  
934 (India). J. World. Aquacult. Soc. 37:523–532.

935 JIANG, D, LAWRENCE, AL, NEILL, WH, GONG, H. 2000. Effects of temperature  
936 and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. J.  
937 Exp. Mar. Biol. Ecol. 253(2):193-209.

938 JORY, DE, CABRERA, TR, DUGGER, DM, FEGAN, D, LEE, PG, LAWRENCE, AL,  
939 JACKSON, CJ, MCINTOSH, RP, CASTAÑEDA, J. 2001. A global review of  
940 shrimp feed management: status and perspectives. Pages 104–152 in CL  
941 Browdy and DE Jory, editors. The new wave: proceedings of the special  
942 session on sustainable shrimp culture, aquaculture. The World Aquaculture  
943 Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

944 JU ZHY, FORSTER I, CONQUEST L, DOMINYW, KUOW C, HORGAN, FD. 2008.  
945 Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by  
946 biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. Aquaculture Research  
947 39:118-133.

948 KRUMMENAUER, D.; CAVALLI, R.O.; BALLESTER, E.L.C., WASIELESKY, W.J.  
949 2010. Feasibility of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture in  
950 southern Brazil: effects of stocking density and a single or a double crop  
951 management strategy in earthen ponds. Aquaculture Research 41:240–248.

952 KRUMMENAUER, D, RO CAVALLI, LH POERSCH & W WASIELESKY. 2011.  
953 Superintensive Culture of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a Biofloc  
954 Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities. J.  
955 World Aquacult. Soc., 42:726-733.

956 KRUMMENAUER, D, SAMOCHA T, LH POERSCH, LARA G, WASIELESKY JR.  
957 2014a. The reuse of water on the culture of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus*  
958 *vannamei*, in BFT system. J. World Aquacul. Soc., 45 (1):3-14.

959 KRUMMENAUER, D, POERSH, L, ROMANO, L, LARA, G, ENCARNAÇÃO, P,  
960 WASIELESKY, W. 2014b. Journal of Applied Aquaculture (aceito para  
961 publicação).

962 KUHN, DD, SMITH, SA., BOARDMAN, GD, ANGIER, MW, MARSH, L, FLICK  
963 JR, GJ. 2010. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus*  
964 *vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology.  
965 Aquaculture 306,329-333.

966 KUMLU, M, OT EROLDOGAN, & B SAGLAMTIMUR, 2001. The effects of salinity  
967 and added substrates on growth and survival of *Metapenaeus monoceros*  
968 (Decapoda: Penaeidae) post-larvae. Aquaculture, 196:177-188.

969 LIGHTNER, DV, REDMAN, RM, PANTOJA, CR, NOBLE, BL, TRAN, L. 2012.  
970 Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. Global Aquaculture  
971 Advocate. Pg 40.

972 LIMA, PP; PONTES, CS; ARRUDA, MF. 2009. Activity pattern of the marine shrimp  
973 *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in laboratory as a function of different  
974 feeding frequencies. Aquaculture Research 41:53-60.

975 LIN, Y-C, CHEN, J-C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei*  
976 (Boone) juveniles at different salinity levels. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 259:109-  
977 119.

978 LIN, Y-C, CHEN, J-C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei*  
979 (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture 224:193-201.

980 MAICÁ, PF, BORBA, MR, WASIELESKY, W. 2012. Effect of low salinity on  
981 microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone)  
982 juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. Aquacult.  
983 Res.43:361-370.

984 MCINTOSH, BJ, SAMOCHA, TM, JONES, ER, LAWRENCE, AL, MCKEE, DA,  
985 HOROWITZ, S, HOROWITZ, A. 2000. The effect of a bacterial supplement

986 on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on  
987 outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering* 21:215–  
988 227.

989 MILLAMENA, OM, BAUTISTA-TEREUL, MN, REYES, OS, KANAZAWA, A.  
990 1999. Quantitative dietary requirement of postlarval tiger shrimp, *Penaeus*  
991 *monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan.  
992 *Aquaculture* 179:169–179.

993 MISHRA, JK, SAMOCHA, TM, PATNAIK, S, SPEED, M, GANDY, RL, ALI, AM.  
994 2008. Performance of an intensive nursery system for the Pacific White  
995 shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition.  
996 *Aquacultural Engineering*, 38:2-15.

997 MOSS, KRK, SM MOSS. 2004. Effects of Artificial Substrate and Stocking Density on  
998 the Nursery Production of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*.  
999 *Journal of the Aquaculture Society*, 35:536-542.

1000 MOSS, SM, ARCE, SM, ARGUE, BJ, OTOSHI, CA, CALDERON, FRO, TACON,  
1001 AGJ. 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally  
1002 responsible shrimp culture. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New*  
1003 *Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture,*  
1004 *Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, pp. 1–*  
1005 *19.*

1006 NUNES, AJP, SÁ, MVC, CARVALHO, EA, NETO, AS. 2006. Growth performance of  
1007 the white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared under time- and rate-restriction  
1008 feeding regimes in a controlled culture system. *Aquaculture*, 253:646-652

1009 PEIXOTO, S, WASIELESKY JR, W, LOUZADA JR, L. 2003. Comparative Analysis  
1010 of Pink Shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific White Shrimp,  
1011 *Litopenaeus vannamei*, Culture in Extreme Southern Brazil. *Journal of Applied*  
1012 *Aquaculture*, 14(1/2).

1013 PONCE-PALAFOX, J, MARTINEZ-PALACIOS, CA, ROSS, LG. 1997. The effect of  
1014 salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white  
1015 shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157:107-115.

1016 QUINTERO, HE, LA, ROY. 2010. Practical feed management in semi-intensive  
1017 systems for shrimp culture. Pages 443–454 in V. Alday-Sanz. *The shrimp*  
1018 *book. Nottingham University Press, Nottingham, UK.*

- 1019 RAY, JA, LEWIS, B.L, BROWDY, CL, LEFFLER, JW. 2010. Suspended solids  
1020 removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an  
1021 evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture  
1022 systems. *Aquaculture*, 299:89-98.
- 1023 RICHARD, L, BLANC, PP, RIGOLET, V, KAUSHIK, SJ, GEURDEN, I. 2010.  
1024 Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and  
1025 their utilization efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*,  
1026 using a factorial approach. *Br. J. Nutr.* 103:984–995.
- 1027 ROBERTSON, L, LAWENCE, A, CASTILLE, F. 1993. The effect of feeding  
1028 frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone).  
1029 *Aquacult. Fish. Manage.* 24:1–6.
- 1030 SAMOCHA, T, J CORDOVA, T BLANCHER, A WIND. 2000. Raceway nursery  
1031 production increases shrimp survival and yields in Ecuador. *Glob. Aquac.*  
1032 *Advocate*, 3:66–68.
- 1033 SAMOCHA, TM, LAWRENCE, A, COLLINS, CR, EMBERSON, CR, HARVIN, JL,  
1034 VAN WYK, PM. 2001. Development of integrated, environmentally sound,  
1035 inland shrimp production technologies for *Litopenaeus vannamei*. In: Browdy,  
1036 C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on*  
1037 *Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture*  
1038 *Society, Baton Rouge, USA, pp. 64–75.*
- 1039 SAMOCHA, TM, PATNAIK, S, SPEED, M, ALI, AM, BURGER, JM, ALMEIDA,  
1040 RV, AYUB, Z. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge  
1041 nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural*  
1042 *Engineering*, 36:184–191.
- 1043 SCHVEITZER, R, ARANTES, R, FÓES, P, DO ESPÍRITO SANTO, C, VINATEA, L,  
1044 SEIFFERT, W, ANDREATTA, E. 2013. Effect of different biofloc levels on  
1045 microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in  
1046 a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*,  
1047 56:59–70.
- 1048 SILVA, KR, WASIELESKY, WJ, ABREU, PC, 2013. Nitrogen and phosphorus  
1049 dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus*  
1050 *vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44:30-41.
- 1051 STRICKLAND, JDH; & PARSONS, TR. 1972. *A practical handbook of seawater*  
1052 *analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p.*

- 1053 TESHIMA, S, ALAM, MS, KOSHIO, S, ISHIKAWA, M, KANAZAWA, A. 2002.  
1054 Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn,  
1055 *Marsupenaeus japonicas* (Bate). Aquac. Res. 33:297–304.
- 1056 THAKUR, DP, LIN, CK. 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp  
1057 (*Penaeus monodon*) culture systems. Aquacult. Eng. 27:159–176.
- 1058 UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring.  
1059 Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission.  
1060 Paris, France.
- 1061 UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton  
1062 methodik. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol., 9:1–38.
- 1063 VAN WYK, P & J SCARPA. 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P.  
1064 (Eds.), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Florida  
1065 Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p. 128–138.
- 1066 VELASCO, M, LAWRENCE, AL, CASTILLE, FL. 1999. Effect of variations in daily  
1067 feeding frequency and ration size on growth of shrimp, *Litopenaeus vannamei*  
1068 (Boone), in zero-water exchange culture tanks. Aquaculture, 179:141– 148.
- 1069 WASIELESKY, WJ, ATWOOD, HI, STOKES, A, BROWDY, CL. 2006. Effect of  
1070 natural production in brown water super-intensive culture system for white  
1071 shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 258:396–403.
- 1072 WASIELESKY, WJ, FROES, C, FÓES, G, KRUMMENAUER, D, LARA, G,  
1073 POERSCH, L. 2013. Nursery of *Litopenaeus vannamei* Reared in a Biofloc  
1074 System: The Effect of Stocking Densities and Compensatory Growth. Journal  
1075 of Shellfish Research, 32(3):799-806
- 1076 XIE, F, ZENG, W, ZHOU, Q, WANG, H, WANG, T, ZHENG, C, WANG, Y, 2012.  
1077 Dietary lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus*  
1078 *vannamei*. Aquaculture, 358–359:116–121.
- 1079 ZAR, JH., 1996. Biostatistical Analysis. Third Edition New Jersey: Prentice Hall, 662p.
- 1080 ZHOU, QC, ZENG, WP, WANG, HL, WANG, T, WANG, YL, XIE, FJ. 2012. Dietary  
1081 arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.  
1082 Aquaculture, 364–365:252–258.
- 1083 ZHOU, QC, WANG, YL, WANG, HL, TAN, BP. 2013. Dietary threonine requirements  
1084 of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 392–  
1085 395, 142–147.