



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



**CULTIVO DO CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO *Litopenaeus
vannamei* (BOONE, 1931) EM SISTEMA BFT COM DIFERENTES
FOTOPERÍODOS: EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA,
QUALIDADE DA ÁGUA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO**

WELLICA GOMES DOS REIS

RIO GRANDE/RS

2019

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

**CULTIVO DO CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO *Litopenaeus
vannamei* (BOONE, 1931) EM SISTEMA BFT COM DIFERENTES
FOTOPERÍODOS: EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA,
QUALIDADE DA ÁGUA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO**

WELLICA GOMES DOS REIS

Orientador: Prof. Dr. Dariano Krummenauer

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura no Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Rio Grande.

RIO GRANDE/RS

FEVEREIRO/2019

INDICE

DEDICATÓRIA	IV
AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VI
GENERAL ABSTRACT	VII
INTRODUÇÃO	8
OBJETIVO GERAL	10
Objetivos Específicos	11
MATERIAL E MÉTODOS	11
Local do experimento	11
Origem dos camarões.....	11
Delineamento experimental	11
Formação dos Bioflocos	12
Manejo alimentar	13
Desempenho zootécnico dos camarões.....	13
Monitoramento dos parâmetros de qualidade de água.....	13
Dióxido de carbono.....	14
Análise proximal.....	14
Coleta e contagem de microrganismos	15
Análise de clorofila <i>a</i>	16
Análise Estatística.....	16
RESULTADOS	16
DISCUSSÃO	35
Influência da luz na qualidade de água.....	37
Influência da luz na comunidade de microorganismos.....	38
A influência da luz na composição proximal.....	42
Influência da luz no desempenho zootécnico	45
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à minha família que amo tanto, ao meu esposo lindo que tanto me apoia e não mediu esforços para estar ao meu lado em mais uma etapa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu esposo e minha família, pelo apoio incondicional, paciência e perseverança nesse projeto.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq, FAPERGS e FINEP pela concessão das bolsas e pelos recursos concedidos que possibilitam a execução da ciência no Brasil.

Um especial agradecimento aos nossos apoiadores Guabi, Trevisan, AllAqua, Inve e Aquatec pelo suporte e apoio irrestrito em todas as etapas deste trabalho, que são indispensáveis para realização das nossas pesquisas.

Ao programa de Pós-graduação em Aquicultura, em nome de todos os professores e pesquisadores da Estação Marinha de Aquicultura, e principalmente ao Projeto Camarão pela oportunidade dada e enorme aprendizagem adquirida nesse tempo de trabalho.

A meu orientador Dariano Krummenauer, pelo ensinamento, dedicação e profissionalismo em todas as etapas desse estudo. Ao professor Wilson Wasielesky, Paulo Cesar Abreu e Marcelo Tesser pelo auxílio a minha pesquisa e ensinamento.

Aos colegas e amigos da EMA, que em tantos momentos estiveram comigo, me ajudando em tudo que foi preciso.

RESUMO

Em um sistema de bioflocos, existe mudanças nas comunidades microbianas durante um ciclo de criação de camarão. Geralmente, as bactérias heterotróficas são substituídas por uma comunidade fotoautotrófica ou quimioautotrófica. Quando a água é exposta a luz solar, pode mudar abruptamente de um sistema heterotrófico, para um sistema predominantemente fotoautotróficos. O objetivo deste estudo foi avaliar a comunidade microbiana na criação do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* com restrição luz. O estudo foi realizado em uma estufa retangular com 12 tanques (800 L) com densidade de estocagem de 500 camarões/m³e peso inicial de 0,053g. O experimento foi delineado com três tratamentos e quatro repetições distribuídos em: fotoperíodo natural 12horas claro/12 horas escuro (FPN); claro total, sendo 24 horas claro (24hCL) e escuro total com 24 horas escuro (24hES). Os camarões foram alimentados com ração comercial duas vezes ao dia na fase de berçário (40% PB) e engorda (38% PB). Foram encontradas diferenças significativas entre os parâmetros de qualidade da água em amônia, nitrito, CO₂, luz (Ix) e clorofila (p<0,05). Também foram encontradas diferenças no desempenho zootécnico como: peso final, biomassa final, crescimento semanal, crescimento após uma grama e sobrevivência (p<0,05). Na Análise proximal do biofoco foi encontrada diferença significativa em proteína e lipídeos com melhores resultados nos tratamentos FPN e 24hCL (p<0,05). Na abundância de bactérias como cocoides aderidas, filamentosas livre, filamentososa aderida, vibrio e bacilo houve diferença significativa com maior abundância nos tratamentos FPN e 24hCL (p<0,05). Em protozoários na abundância de flagelados fotoautotróficos, flagelados heterotróficos, ciliados, também houve diferença significativa com maior concentração nos tratamentos FPN e 24hCL (p<0,05). Os grupos de rotíferos, dinoflagelados e nematoides também houve diferença significativa (p<0,05). A restrição de luz proporcionou uma melhor nitrificação evitando uma fotoinibição das bactérias nitrificantes. Por outro lado, a presença de luz no sistema de cultivo influenciou positivamente na abundância de microrganismos, refletindo em um melhor desempenho zootécnico de *L. vannamei*.

Palavras-chave: Heterotrófico, Quimioautotróficas, Luminosidade, Nitrificação, Fotoautotrófico.

ABSTRACT

In Biofloc Technology (BFT) Systems, there are changes in microbial communities during a shrimp culture cycle; usually, heterotrophic bacteria are replaced by a photoautotrophic or chemoautotrophic community. When the water is exposed to sunlight, it can abruptly change from a heterotrophic system to a predominantly photoautotrophic system. The aim of this study was to evaluate the microbial community in a rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* with light restriction. The study was conducted in 12 tanks (800 L) with a storage density of 500 shrimp/m³ and an initial shrimp weight of 0.053 g. The experiment was designed with three treatments and four replicates distributed into the following groups: i) natural photoperiod - 12 h light/12 h dark (NP); ii) 24 h light (24hLI); and iii) 24 h dark (24hDA). Significant differences were found in water quality parameters (lower values of ammonia and nitrite in the 24hDA treatment), and higher values of CO₂, light (Ix) and chlorophyll were observed for the NP and 24hLI treatments than for the 24hDA treatment (p<0.05). Zootechnical performance registered higher values in final weight, final biomass, weekly growth rate and survival in the NP and 24hLI treatments than in the 24hDA treatment (p<0.05). Proximal analysis of the biofloc showed higher concentrations of proteins and lipids in the NP and 24hLI treatments than in the 24hDA treatment (p<0.05), and there was a greater abundance of bacteria (attached coccoid, free filamentous, and attached filamentous bacteria, *Vibrio* and *Bacillus*) in NP and 24hLI than in 24hDA (p<0.05). There was a greater abundance of photoautotrophic flagellates, heterotrophic flagellates, ciliates. The groups dinoflagellates, rotifers and nematodes in NP and 24hLI than in 24hDA (p<0.05). The results show that light restriction favoured nitrification. However, light promoted an increased abundance of microorganisms, providing an additional food source and reflecting a lower rate of feed conversion, higher survival and better growth performance for *L. vannamei*.

Key words: Heterotrophic, Chemoautotrophic, Luminosity, Nitrification, Photoautotrophic.

INTRODUÇÃO

O sistema BFT (Biofloc Technology System) é uma tecnologia projetada para aumentar a produtividade, enquanto melhora o controle ambiental sobre a produção, reduz ou elimina a troca de água, diminui os efluentes, minimiza as áreas de cultivo, restringe a disseminação de doenças e, desta forma, aumenta a biossegurança (Krummenauer et al., 2014; Avnimelech., 2015; Samocha et al., 2017). Os bioflocos, que compõem este sistema, consistem em agregados colonizados por uma comunidade bacteriana, microalgas, protozoários, zooplâncton, nematoides, rotíferos bem como fezes e restos de comida (Hargreaves, 2013; Lara et al., 2017). Quando formados, podem servir como fonte complementar de alimento para organismos cultivados, refletindo em maior crescimento, ganho de peso, menor conversão alimentar e maior sobrevivência (Wasiolesky et al., 2006; Ballester et al., 2010). Segundo Cardona et al. (2015), os bioflocos podem contribuir com cerca de 37 a 40% da produtividade natural, o que por sua vez estimula as atividades das enzimas digestivas; este aumento de atividade pode contribuir para promover o crescimento de camarões criados em bioflocos.

No cultivo BFT, ocorrem mudanças de comunidades microbianas durante um ciclo. Normalmente, ocorre uma substituição de uma comunidade fotoautotrófica ou quimioautotrófica dependendo do manejo empregado. Muitas vezes especialmente quando exposto à luz solar pode mudar abruptamente de um sistema heterotrófico (dominado por bactérias e protozoários principalmente) (Kirk, 2010; Hargreaves, 2013), para um sistema predominantemente fotoautotrófico (dominado por microalgas). A importância relativa de cada processo fotoautotrófico e heterotrófico depende de muitos fatores, tais como: taxa de alimentação diária, concentração de sólidos em suspensão, concentração de amônia, intensidade de luz e a relação carbono-nitrogênio (C/N) (Avnimelech, 1999; 2015). No bioflocos existem organismos que podem controlar os compostos nitrogenados, como bactérias fotoautotróficas, autotróficas nitrificantes e heterotróficas (Ebeling et al., 2006; Crab et al., 2012).

O processo heterotrófico baseia-se na remoção do nitrogênio amoniacal pela incorporação deste elemento na biomassa bacteriana na forma de proteína. Esta incorporação se dá através da manipulação das relações de C/N no sistema, isto é, através da adição de uma fonte de carbono na forma de carboidrato (Avnimelech e Kochba, 2009). A utilização dessa estratégia permite acelerar os processos de retirada

do nitrogênio inorgânico de uma forma rápida e eficiente, diminuindo as concentrações de amônia total dissolvida na água (Ebeling et al., 2006). Entretanto, logo após a incorporação pode ocorrer um novo aumento nos níveis de amônia devido a predação das bactérias produzidas por protozoários que as digerem e excretam amônia para o meio (Silva et al., 2013). No processo quimioautotrófico, devido à lenta taxa de crescimento das bactérias nitrificantes, pequenas quantidades de biomassa bacteriana são produzidas, essas bactérias realizam a oxidação da amônia a nitrito (Bactérias amônio-oxidantes - AOB), e posteriormente a nitrato (Bactérias nitrito-oxidantes - NOB) (Ebeling et al., 2006; Crab et al., 2007). Mesmo assim, é difícil ter um total controle sobre as comunidades bacterianas que irão se formar ao longo do cultivo, devido à complexidade das interações que ocorrem dentro dos sistemas de cultivo (Hargreaves, 2013).

O sistema BFT quando exposto predominantemente a luz solar ocorre uma floração densa de organismos fotoautotróficos (microalgas) que se desenvolvem em resposta à luz e também à carga de nutrientes que advém da alimentação e matéria orgânica em decomposição, como por exemplo, algas mortas, fezes e ração não consumida (Hargreaves, 2013; Samocha et al., 2017). A taxa de absorção desse organismo fotoautotróficos no sistema BFT é principalmente influenciada pela intensidade de luz subaquática. Sendo que, quando temos uma dependência primária por organismos fotoautotróficos nesse sistema pode ocorrer picos na concentração de amônia em condições de tempo nublado e também uma flutuação na concentração de oxigênio dissolvido e no pH, apesar do aporte extra de aeração (Avnimelech, 2015).

A luz é um dos fatores que podem alterar a abundância de microalgas dos grupos cianobactérias, diatomáceas, clorofíceas, dinoflagelados, entre outros, ocasionando no cultivo florações de espécies muitas vezes tóxicas, prejudicando a qualidade da água, comprometendo o desenvolvimento do animal além de produzir toxinas que podem causar estresse fisiológico e até mesmo mortalidade dos camarões (Alonso-Rodriguez et al., 2003; Samocha et al., 2017).

Uma mistura complexa de processos entre algas e bactérias controla a qualidade da água no bioflocos. Basicamente, existem dois tipos de produção com bioflocos: aqueles que estão expostos à luz natural como viveiros e tanques ao ar livre (cultivos intensivos), localizados normalmente em regiões tropicais ou subtropicais, onde há

abundância de luz natural e onde ocorre predominância de organismos fotoautotróficos ocasionando conseqüentemente uma água de cor esverdeada (Ebeling et al., 2006; Prangnell et al., 2016). Cultivos realizados em estufas (cultivos superintensivos), ou dentro de edifícios fechados, com pouca ou sem exposição à luz natural geralmente em ambientes nas regiões temperadas, a cor da água tende a adquirir uma coloração marrom, onde predominam os processos bacterianos que controlam a qualidade da água (Hargreaves, 2013; Samocha et al., 2017). Entretanto, essa variação na cor da água irá depender exclusivamente da composição microbiana de cada cultivo, não sendo a cor da água um indicativo preciso de maturidade do sistema (Hargreaves, 2013).

A luz é considerada um fator abiótico de suma importância para organismos que vivem no meio aquático. Estudos mostram diferenças significativas no comportamento, crescimento, ingestão de alimento, maturação, reprodução e possivelmente mudanças na atividade natatória dos camarões peneídeos quando expostos a diferentes condições de luminosidade (Gardner et al., 1998; Guerra-Santos et al., 2017). Ou seja, a intensidade luminosa pode afetar diretamente os animais que estão sendo cultivados.

A intensidade luminosa quando adequada para os cultivos de camarões fornecem vantagens como a redução de custos de produção, alimentação, eletricidade e aumento da produtividade (Correia et al., 2007; Coyle et al., 2011). Entretanto, há pouca informação sobre a caracterização e quantificação da comunidade microbiana na criação do camarão branco do Pacífico *L. vannamei* no sistema de bioflocos com restrição de luz e, principalmente, a contribuição desses microrganismos no desempenho zootécnico do camarão, tornando-se de suma importância, estudos para elucidar essa lacuna.

OBJETIVO GERAL

Estudar a comunidade microbiana da criação do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), com e sem restrição luz, empregando o sistema de bioflocos.

Objetivos Específicos

Quantificar e qualificar comunidade microbiana em sistema de bioflocos com e sem restrição de luz;

Monitorar os parâmetros de qualidade de água com e sem restrição de luz;

Analisar a composição proximal do floco com e sem restrição de luz;

Avaliar o desempenho zootécnico dos camarões com e sem restrição de luz.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido no período de 16 de outubro e 25 de dezembro de 2017, nas dependências da Estação Marinha de Aquicultura (EMA) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, localizado na cidade do Rio Grande, Cassino - RS, Brasil (32° 12' 14" S, 52° 10' 40" W).

Origem dos camarões

A espécie utilizada no estudo foi o camarão-branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* em estágio de náuplio adquirido na empresa Aquatec[®] LTDA (Rio Grande do Norte). Os camarões foram primeiramente mantidos na larvicultura no laboratório de Carcinicultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA), por um período aproximado de 25 dias até atingirem um peso médio de 0,053 gramas, para o início do experimento.

Delineamento experimental

A água empregada em cada unidade experimental foi proveniente de um reservatório, previamente bombeada da Praia do Cassino. A água para o experimento foi clorada utilizando 10 ppm de hipoclorito de sódio. Após agir por quatro horas, a mesma foi declorada utilizando ácido ascórbico (vitamina C) na proporção de um grama para cada mil litros de água. Foram utilizados 12 tanques retangulares de cimento com capacidade de 1000 litros e com volume útil de 800 litros com área de fundo de 1,4 m². Em cada unidade experimental foi instalado um sistema de aeração com mangueiras microperfuradas (Aerotube[®]) e abastecido por um soprador de ar (Ibram[®] LTDA) de 2 CV. A densidade de estocagem utilizada foi de 500 camarões/m³.

Para o desenvolvimento do experimento foram realizados três tratamentos com quatro repetições cada conforme a figura 1, como segue: 1) FPN- fotoperíodo, 12 horas claro e 12 horas escuro, no período de 12 horas escuro os tanques foram cobertos com lona preta em toda extensão do tanque; 2) 24h CL (24 horas claro) com luz natural durante o dia e a noite com iluminação artificial, sendo utilizado uma lâmpada fluorescente de 80 Watts distribuídas na estufa; e 3) 24h ES (24 horas escuro) cobertos com lona preta em toda extensão do tanque durante 24 horas. A quantidade de luz que chegava até a superfície da lâmina de água (luz natural do ambiente) era aferida em dois pontos distintos no tanque diariamente às 12:00 h com auxílio do aparelho chauvin arnoux[®] - modelo luxmeter C.A 810.

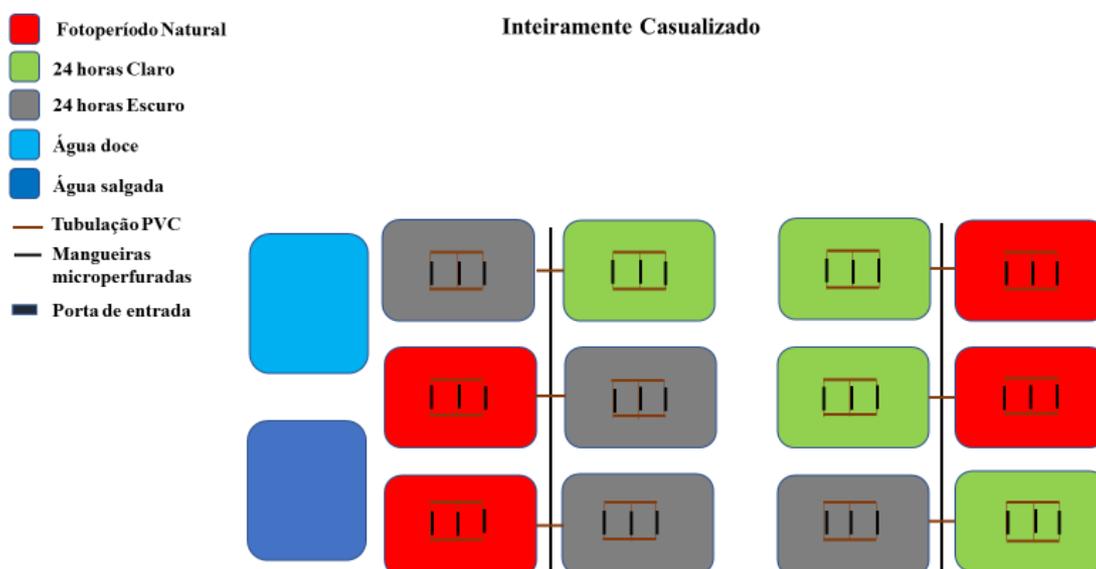


Figura 1: Croqui do experimento

Formação dos Bioflocos

Para estimular a formação dos bioflocos foi mantida a relação C/N do sistema em 15/1, de acordo com a metodologia proposta por Avnimelech (1999) e Ebeling et al. (2006). Também foi adicionado farelo de trigo durante 5 dias como substrato para fixação dos microrganismos.

Para as fertilizações orgânicas foi utilizado melão de cana de açúcar com 37,27% de carbono. a adição de melão foi feita de tal forma a manter uma relação C/N de 6,0 g de carbono (melão) para cada uma g de nitrogênio amoniacal total (TA-N) na água. Além disso, aplicações de probiótico comercial (INVE[®] Sanolife PRO-W) foram

realizadas uma vez por semana na água utilizando um grama para cada mil litros de água, a fim de auxiliar na manutenção da qualidade da água em todos os tratamentos.

Manejo alimentar

Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia, utilizando ração comercial Potimar GUABI[®] (40%) de proteína na fase de berçário e 38% na fase de engorda. Com o objetivo de controlar o consumo, foram colocados 10% da quantidade da ração em bandejas de alimentação e o restante foi distribuído a lanço no tanque. A taxa de arraçoamento no berçário foi de acordo com a metodologia descrita por Jory et al. (2001) e na fase de engorda os ajustes nas taxas de arraçoamento foram realizados seguindo a metodologia de Garza de Yta et al. (2004).

Desempenho zootécnico dos camarões

O desempenho zootécnico dos camarões foi acompanhado por meio de biometrias semanais de 30 animais por tratamento, sendo utilizada balança digital com precisão de 0,01 g (Marte[®] científica AS5000C). Foram avaliados: ganho de peso semanal (GPS) e conversão alimentar aparente (Bagenal e Tesch, 1978; Van Wyk e Scarpa, 1999), pelos seguintes cálculos:

GPS= (PF – PI) / n^o semanas de cultivo.

GPS= ganho de peso semanal, PI= Peso inicial, PF= Peso final.

Conversão alimentar aparente (CAA), como se segue:

CAA= alimento oferecido/incremento de biomassa.

Sobrevivência: (biomassa final/peso médio individual) / n^o indivíduos estocado) x 100

Produtividade: (biomassa final – biomassa inicial) / volume do tanque.

Monitoramento dos parâmetros de qualidade de água

Os parâmetros físicos e químicos que foram monitorados duas vezes ao dia foram: temperatura e oxigênio dissolvido (YSI[®] pro 20) e pH (pH meter[®] FE 20/FG2). A salinidade foi verificada a cada três dias (Hach[®] HQ40d). A turbidez da água foi determinada uma vez por semana com o turbidímetro (Hach[®] 2100P, Hack Company). Diariamente foram coletadas amostras de água para quantificar a concentração de nitrogênio amoniacal total (N-(NH₃+NH₄⁺)), e nitrito (N-NO₂⁻) determinadas de acordo

com (UNESCO, 1983) e Strickland e Parsons (1972) respectivamente, respectivamente. Quando as concentrações de nitrito ultrapassaram o nível de segurança de 26mg L^{-1} Lin e Chen (2003), permitido para a espécie, foram realizadas renovações de 20% do volume do tanque. A alcalinidade foi analisada a cada três dias conforme metodologia proposta por APHA (2012). Quando a alcalinidade alcançava valores abaixo de $150\text{ mg CaCO}_3\text{ L}^{-1}$ e o pH valores abaixo de 7,6, recomendado por Ebeling et al. (2006), foram realizados ajustes com cal hidratada, seguindo a metodologia descrita por (Furtado et al., 2011) e (Zhang et al., 2017).

Semanalmente foram analisadas as concentrações de nitrato (N-NO_3^-), fosfato (P-PO_4^{3-}) e sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) utilizando a metodologia proposta por Strickland e Parsons (1972), sendo que para sólidos suspensos totais, as amostras de água foram filtradas com filtros de fibra-de-vidro GF50-A, utilizando bomba de vácuo (Primatec[®]). Os níveis de sólidos suspensos totais foram mantidos até 500 mg L^{-1} , como recomendado por (Gaona et al., 2011), e quando os valores superavam o valor recomendado foi utilizado clarificadores (Gaona et al., 2011; Ray et al., 2010).

Dióxido de carbono

Foram realizadas análises para quantificar a concentração de dióxido de carbono (CO_2) dissolvido na água de cultivo. Amostras de água foram coletadas duas vezes por semana, durante 70 dias de experimento, para determinação dos níveis de alcalinidade e pH. Em seguida, os resultados de alcalinidade e pH foram utilizados segundo a metodologia proposta por Ebeling et al. (2010) para obtenção da concentração de CO_2 na água de cultivo. Conforme o cálculo a seguir:

$$\text{Concentração } (\text{CO}_2) = \text{alcalinidade} \times 10^{(6,3-\text{pH})}$$

Concentração CO_2 : Concentração de dióxido de carbono dissolvido (mg L^{-1})

Alcalinidade: CaCO_3 (mg L^{-1}).

Composição proximal

Ao final do experimento, amostras do material floculado dos tanques foram coletadas para posterior análise da composição proximal. Essas amostras foram obtidas

a partir da filtração da água de cultivo com bioflocos de cada tanque com malha de 50 µm. Posteriormente, as amostras foram secas em uma estufa por 48 h a uma temperatura de 60°C até atingirem peso constante. As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, segundo os protocolos da AOAC (2000). Para quantificação das cinzas foi realizada uma pré-calcinação e posteriormente levadas à mufla a 600°C por cinco horas. A análise de proteína bruta foi realizada de acordo a metodologia de Kjeldahl, onde procedeu-se a digestão prévia das amostras e posteriormente a destilação e titulação do nitrogênio, multiplicando-se todos os resultados obtidos por 6,25. O valor de extrato etéreo foi obtido pelo método de extração a quente, pelo extrator de Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente, por seis horas. Para a análise da fibra bruta foi utilizada a digestão ácida e básica da amostra por 30 minutos em cada digestão, seguida pela queima do resíduo em mufla a 500°C por uma hora, sendo o valor de FB obtida por diferença.

Coleta e contagem de microrganismos

Para a quantificação dos microrganismos presentes na água de cultivo foram coletadas amostras de água (20 mL), uma vez por semana, de cada unidade experimental. As amostras foram fixadas em formalina 4% e mantidas em frascos âmbar para posterior contagem e identificação de grupos de microrganismos presentes. Para determinação da abundância de bactérias as amostras fixadas foram filtradas em filtros de membrana de policarbonato (Nuclepore, 0,2 µm de poro e 2,5 mm de diâmetro) previamente escurecidos com Irlan Black e coradas com Laranja de Acridina 1%, na concentração de 1 µg/mL (Hobbie et al., 1977). As bactérias foram fotografadas com uso de câmera fotográfica acoplada a microscópio de epifluorescência, Axioplan-Zeiss, com magnificação de 1000X, para posterior contagem de 30 campos escolhidos aleatoriamente.

Para determinação da abundância de protozoários foi utilizado o microscópio invertido Olympus IX51 com magnificação final de 200 x, onde alíquotas de 0,5 mL de amostra foram colocadas em câmara de sedimentação e 30 campos aleatórios foram contados (Utermöhl, 1958).

Os microrganismos foram enquadrados em grupos diferenciados, sendo para bactérias: Cocoides livres, cocoides aderidas, filamentosas livres, filamentosas aderidas, vibrios e bacilos. Para protozoários: flagelados autotróficos, flagelados heterotróficos, ciliados e amebas. E grupos de rotíferos, nematoides e dinoflagelados. Todas as contagens foram realizadas no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos da FURG.

Análise de clorofila *a*

A concentração de clorofila *a* foi determinada uma vez por semana a partir de amostras de 10 mL de água de cultivo filtrada em microfiltros GF 50-A de fibra de vidro. A extração do pigmento fotossintético foi realizada mediante a imersão dos filtros em 10 mL de acetona 90% (Merck[®] PA), acondicionados em frascos e mantidos em congelador (-12°C). Após um período de 24, horas foi realizada a leitura da concentração de clorofila *a*, com uso de fluorímetro (Turner Designs Trilogy) (Welschmeyer, 1994).

Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de homocedasticidade das variâncias e à análise de normalidade da distribuição dos dados. Quando os pressupostos não foram atendidos foram utilizadas transformações estatísticas. Posteriormente, foi aplicada uma análise de variância de uma via – ANOVA ($\alpha=0,05$) e um teste Post-hoc Tukey quando encontradas diferenças significativas (Zar 2010).

RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente experimento para parâmetros químicos e físicos de qualidade de água durante 70 dias de estudo estão dispostos na Tabela 1. Variáveis como amônia, nitrito, clorofila *a* CO₂ e intensidade luminosa apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos expostos à luz e com restrição de luz ($p<0,05$). Variáveis como pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, temperatura, nitrato, fosfato, sólidos suspensos totais, turbidez, sólidos sedimentáveis e salinidade não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$).

Tabela 1- Valores médios (\pm Desvio padrão) de parâmetros físicos e químicos da água nos tratamentos FPN (Fotoperíodo natural), 24hCL (Claro total) e 24hES (Escuro total) durante 70 dias de cultivo do *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Parâmetros	Fotoperíodo Natural (FPN)	24h Luz (24hCL)	24h Escuro (24h ES)
Temperatura (°C)	29,01 \pm 1,69	29,08 \pm 1,67	29,19 \pm 1,63
DO (mg L ⁻¹)	6,21 \pm 0,33	6,36 \pm 0,30	6,30 \pm 0,31
pH	7,90 \pm 0,19	7,95 \pm 0,18	7,98 \pm 0,18
Salinidade	26,41 \pm 0,70	26,40 \pm 0,59	26,25 \pm 0,65
Alcalinidade (mg de CaCO ₃ L ⁻¹)	150,31 \pm 11,19	145,76 \pm 19,21	136,88 \pm 27,31
N-AT (mg L ⁻¹)	0,85 \pm 0,92 ^a	0,85 \pm 0,85 ^a	0,57 \pm 0,68 ^b
N-NO ₂ ⁻ -N (mg L ⁻¹)	8,71 \pm 10,12 ^a	8,37 \pm 10,88 ^a	5,04 \pm 7,76 ^b
N-NO ₃ ⁻ -N (mg L ⁻¹)	25,50 \pm 33,41	28,62 \pm 37,57	33,87 \pm 38,86
P-PO ₄ ³⁻ -P (mg L ⁻¹)	1,37 \pm 1,03	1,27 \pm 0,94	1,54 \pm 1,06
CO ₂ livre (mg L ⁻¹)	4,23 \pm 1,80 ^a	3,72 \pm 1,52 ^{ab}	3,48 \pm 1,50 ^b
Intensidade luminosa (lx)	1071 \pm 71,93 ^a	1192 \pm 106,25 ^a	0,0 \pm 0,0 ^b
TSS (mg L ⁻¹)	330,0 \pm 162,61	315,0 \pm 158,63	297,50 \pm 207,03
Turbidez (NTU)	139,92 \pm 112,19	134,73 \pm 102,98	142,55 \pm 118,84
Sólidos sedimentáveis (mL L ⁻¹)	7,15 \pm 5,96	7,55 \pm 6,35	8,66 \pm 7,73
Clorofila <i>a</i> (µg/L)	121,24 \pm 88,05 ^a	161,52 \pm 91 ^a	1,73 \pm 0,71 ^b

Temperatura (°C), oxigênio dissolvido O.D (mg L⁻¹), pH, alcalinidade (mg CaCO₃ L⁻¹), amônia (TA-N mg/L), nitrito (NO₂-N mg L⁻¹), nitrato (NO₃-N mg L⁻¹), fosfato (PO₄³⁻-P mg L⁻¹), CO₂ livre (mgL⁻¹), Lux (lx), Sólidos Suspensos Totais (SST mg L⁻¹), turbidez (NTU), sólidos sedimentáveis (ml L⁻¹), salinidade, clorofila *a* (µg/L).

A Figura 2 apresenta a variação de temperatura nos três tratamentos. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Durante todo o estudo ocorreu uma variação no valor da temperatura entre o dia 30 e 36 de experimento devido a uma pane no sistema elétrico, entretanto, a mesma foi normalizada. Essa variação ocorreu em todos os tratamentos. O valor mínimo obtido foi de 23,8° C em todos os tratamentos e o máximo de 31°C no tratamento escuro total 24h ES e 30°C para os demais.

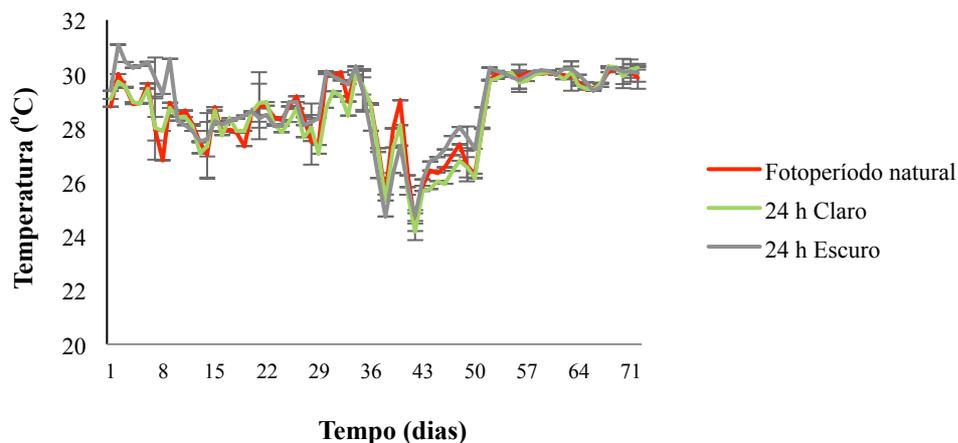


Figura 2- Valores médios (\pm Desvio padrão) diários de temperatura ($T^{\circ}\text{C}$) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

As médias de oxigênio para os três tratamentos estão apresentadas na Figura 3. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). O valor mínimo foi de $5,9 \text{ mg L}^{-1}$ para 24hES e o máximo de $6,9 \text{ mg L}^{-1}$ em todos os tratamentos.

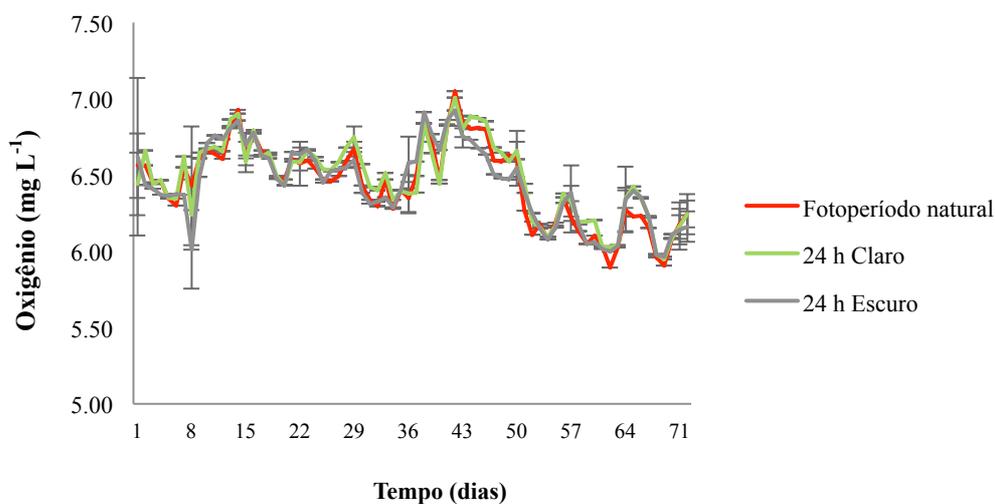


Figura 3- Valores médios (\pm Desvio padrão) de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

O pH teve valor mínimo de 7,6 e o máximo de 8,3 nos três tratamentos (Figura 4), não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$).

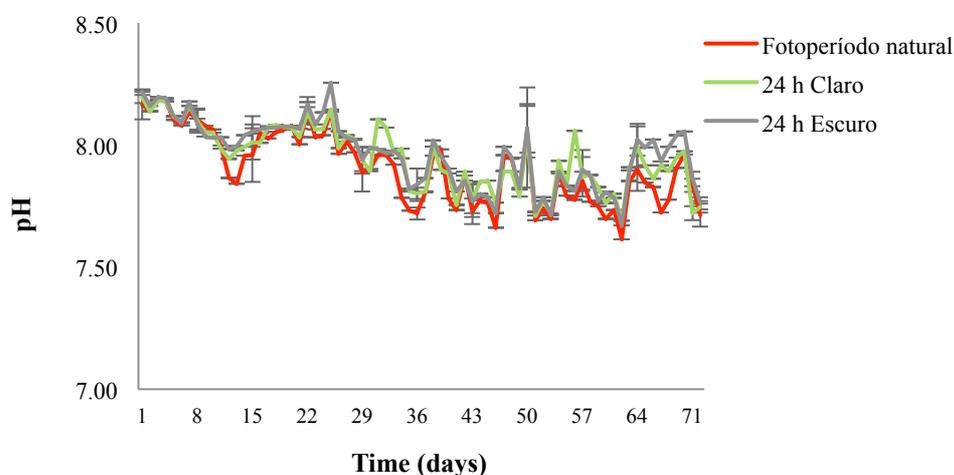


Figura 4- Valores médios (\pm Desvio padrão) diários de pH durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Foram observadas diferenças significativas ($p<0,05$) nas concentrações de amônia total (AT) entre os tratamentos especialmente a partir do 11º dia de experimento quando ocorreu um aumento na concentração com valor máximo de $2,7 \text{ mg L}^{-1}$ para o tratamento FPN, enquanto que o tratamento 24hES foi de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, conforme a Figura 5. A partir do sétimo dia, as concentrações de AT foram mais baixas no tratamento 24hES do que nos demais tratamentos.

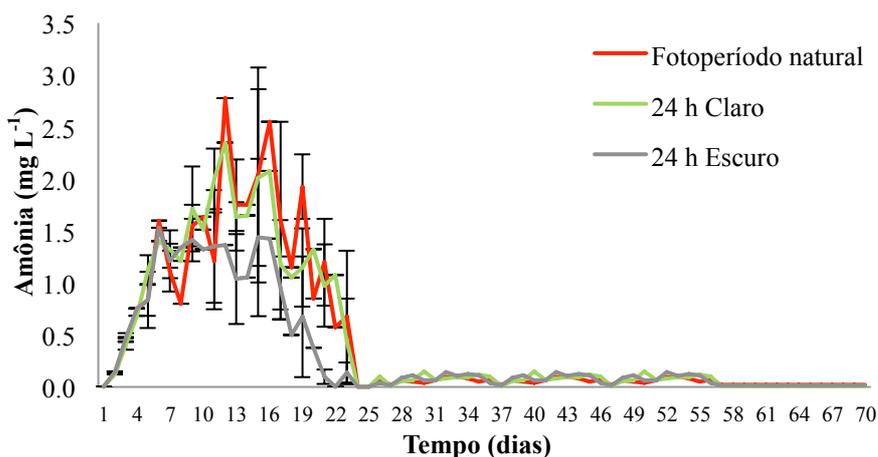


Figura 5 - Valores médios (\pm Desvio padrão) de nitrogênio amoniacal total (AT mg L^{-1}) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT

Os maiores valores de nitrito medidos foram de 32 mg L⁻¹ para o tratamento 24hCL, como mostra a (Figura 6). Vale ressaltar que trabalhamos com uma margem de segurança para os camarões em relação aos níveis de nitrito que foi de 26 mg L⁻¹. Nos tratamentos FPN e 24hCL foram realizadas renovações de 20% do volume do tanque quando ultrapassaram o valor de segurança, enquanto que no tratamento 24hES, não foi realizada nenhuma renovação. O tratamento (24hES) apresentou uma diminuição nas concentrações de nitrito a partir do dia 31, apresentando valores não detectáveis depois do 40º dia, antes dos demais tratamentos.

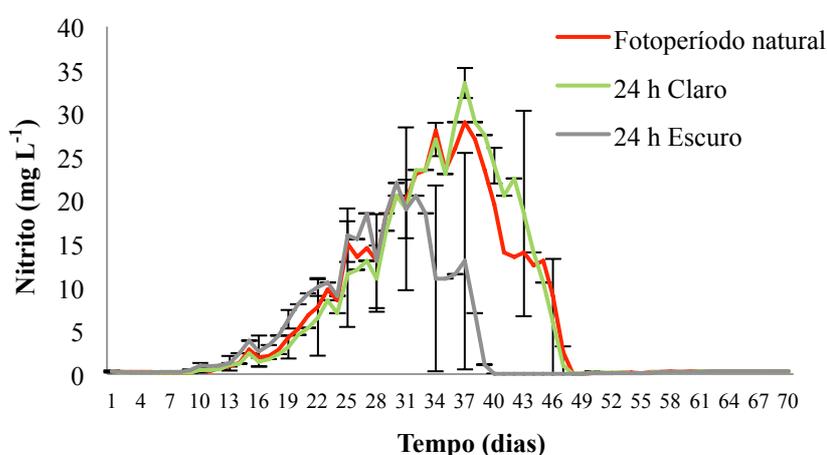


Figura 6 - Valores médios (\pm Desvio padrão) de nitrito (N-NO₂⁻-N mg L¹) durante 70 dias de no cultivo de *L.* em sistema BFT.

De acordo com a Figura 7, verifica-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). A máxima obtida foi de 97 mg L⁻¹ para 24hES.

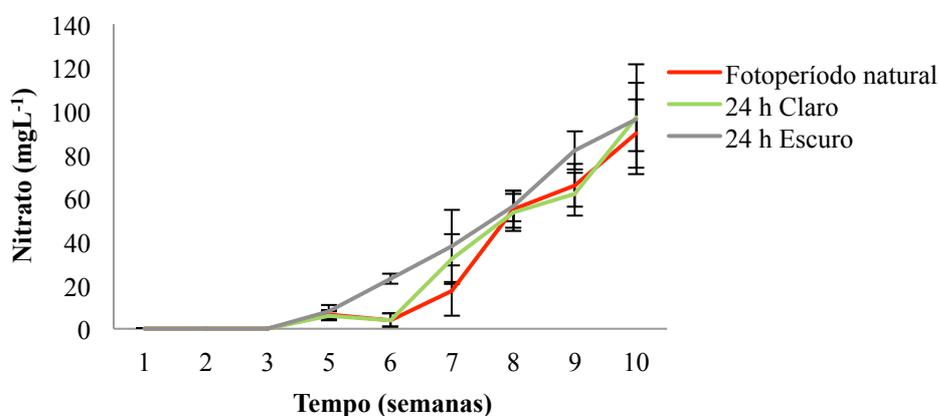


Figura 7-Valores médios (\pm Desvio padrão) de nitrato (N-NO₃⁻ mg L⁻¹) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

O fosfato não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$). O valor máximo foi de 3 mg L^{-1} para 24hES. Valor mínimo de $1,7 \text{ mg L}^{-1}$ para FPN, de acordo com a (Figura 8).

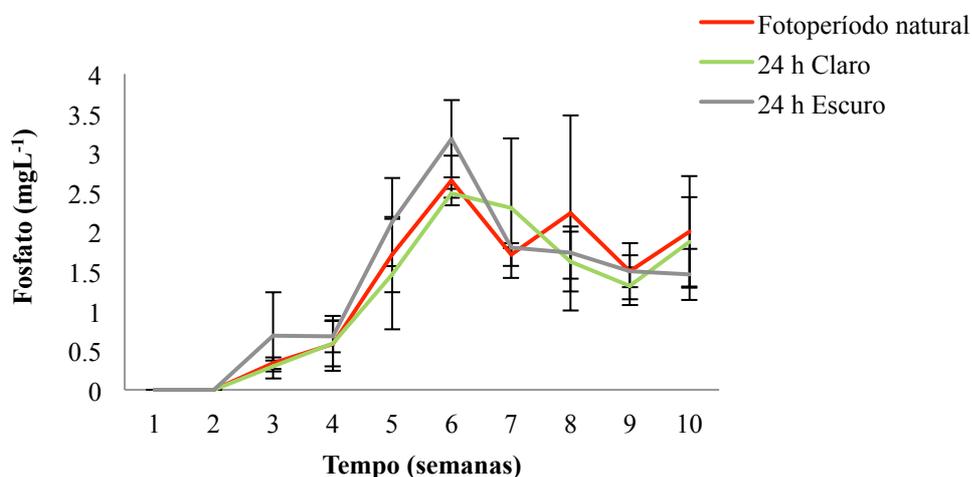


Figura 8- Valores médios (\pm Desvio padrão) de fosfato ($\text{P-PO}_4^{3-} \text{ mg L}^{-1}$) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

A clorofila *a* apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos expostos a luz 24hCL, FPN e com restrição de luz 24hES, com maiores valores para o tratamento 24h Claro. O valor máximo obtido foi de $250 \mu\text{g L}^{-1}$ no 24hCL, e valor mínimo de $84,3 \mu\text{g L}^{-1}$ em 24hCL segundo a (Figura 9).

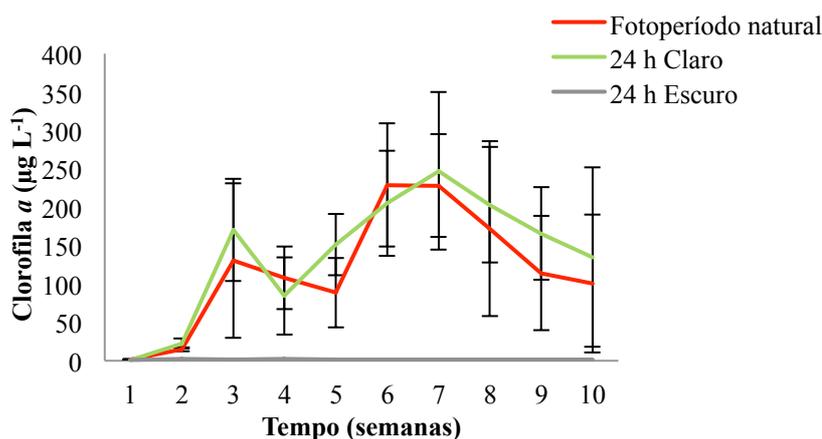


Figura 9- Valores médios (\pm Desvio padrão) de clorofila *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os níveis de luz entre os tratamentos Figura 10. O valor máximo foi de 1400 lux para FPN. O valor mínimo 0,01 lux 24hDA.

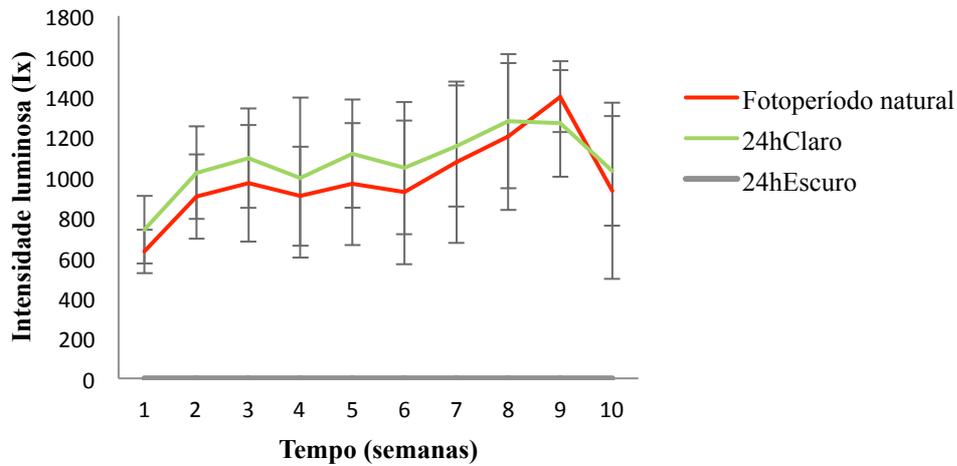


Figura 10- Valores médios (\pm Desvio padrão) diários de luz (lx) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Para os sólidos sedimentáveis também não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. No tratamento 24hES observou-se valor máximo de 19 mgL^{-1} . O valor mínimo foi de 7 mgL^{-1} FPN, (Figura 11).

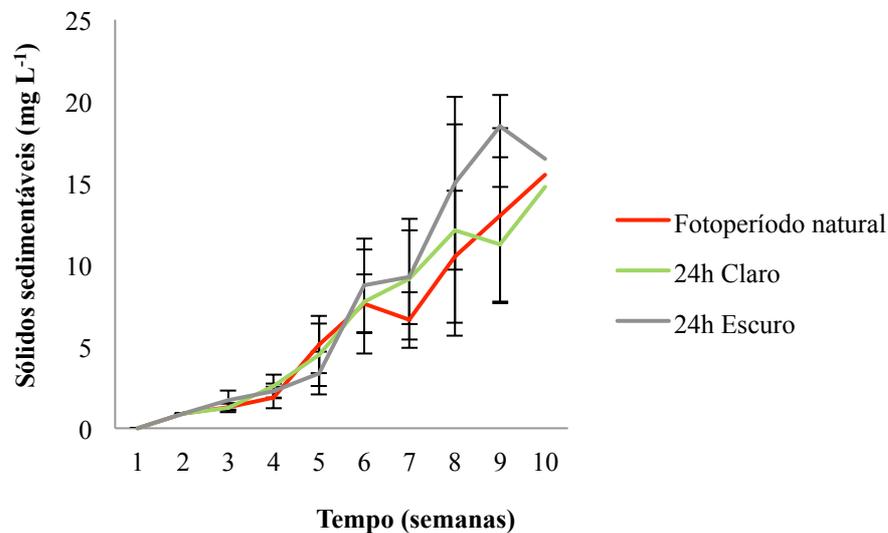


Figura 11- Valores médios (\pm Desvio padrão) de sólidos sedimentáveis (mg L^{-1}) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Da mesma forma, para os sólidos suspensos totais não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Os valores máximos foram de 583 mg L^{-1} para 24hES. O valor mínimo foi de 283 mg L^{-1} para 24hCL (Figura 12). Foram realizadas clarificações em todos os tratamentos a fim de manter de sólidos suspensos

totais no nível recomendado, isto é, abaixo de 500 mg L^{-1} , porém no 24hES foi realizado 4 clarificações a mais em relação aos demais tratamentos .

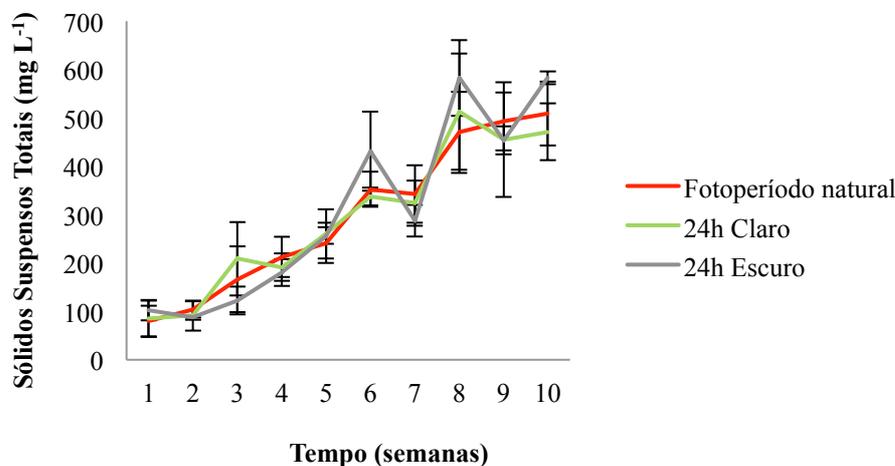


Figura 12- Valores médios (\pm Desvio padrão) de sólidos suspensos totais (SST mg L^{-1}) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os níveis de turbidez entre os tratamentos (Figura 13). O valor máximo foi 300 NTU para 24hES.

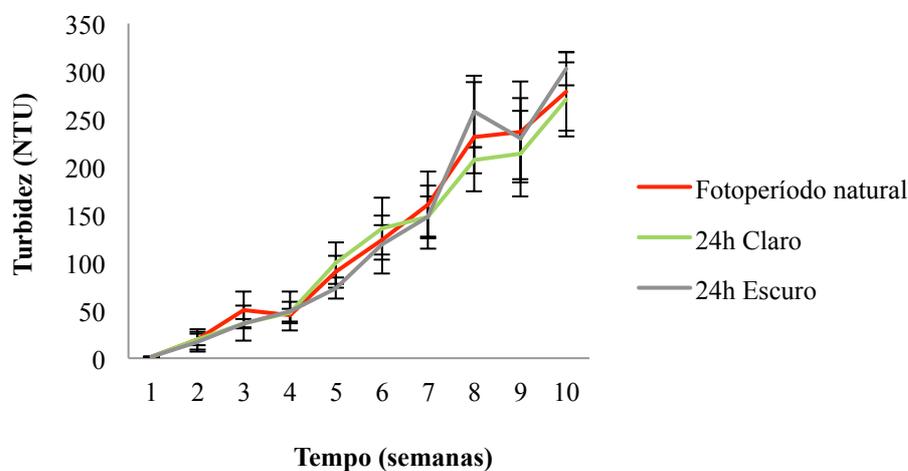


Figura 13- Valores médios (\pm Desvio padrão) de turbidez (NTU) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L.* em sistema BFT.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) para a salinidade entre os tratamentos (Figura 14). O valor máximo de salinidade foi 26,7 para FPN e 24hES. O valor mínimo foi de 26 para todos os tratamentos.

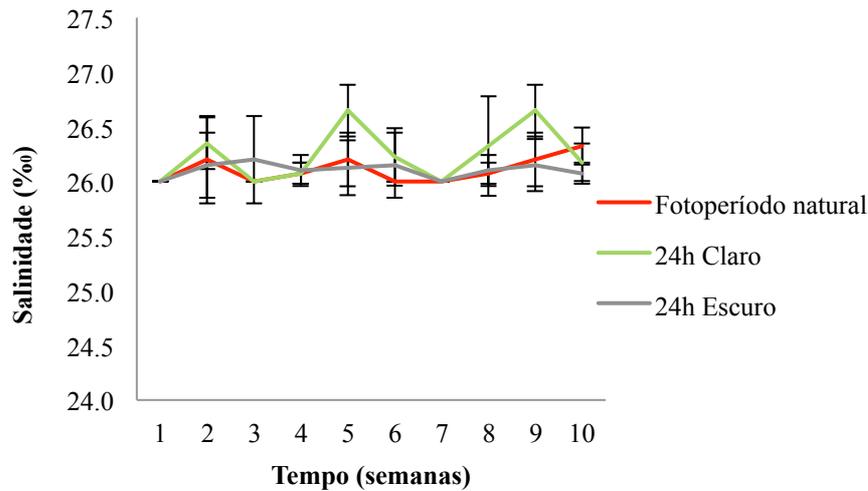


Figura 14- Valores médios (\pm Desvio padrão) de salinidade durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

A alcalinidade não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. O valor máximo foi 160 mg L^{-1} e mínimo foi de $120,0 \text{ mg L}^{-1}$ para 24hES, conforme a (Figura 15). Em todos os tratamentos, foram realizadas correções a fim de manter os níveis de alcalinidade dentro do requerido para a espécie em estudo, porém, no tratamento 24hES, as correções começaram a ser realizadas uma semana antes que os demais.

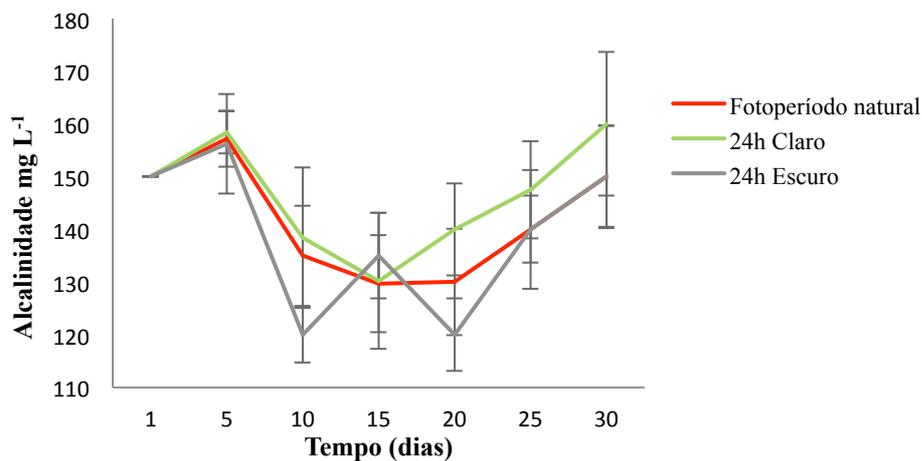


Figura 15- Valores médios (\pm Desvio padrão) de alcalinidade durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

As concentrações de CO_2 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos 24hCL, FPN e 24hES, com maiores valores no tratamento FPN, conforme a

Figura 16. O valor máximo foi de 7,13 mg L⁻¹ e o mínimo foi de 2 mg L⁻¹ para todos os tratamentos (Figura 16).

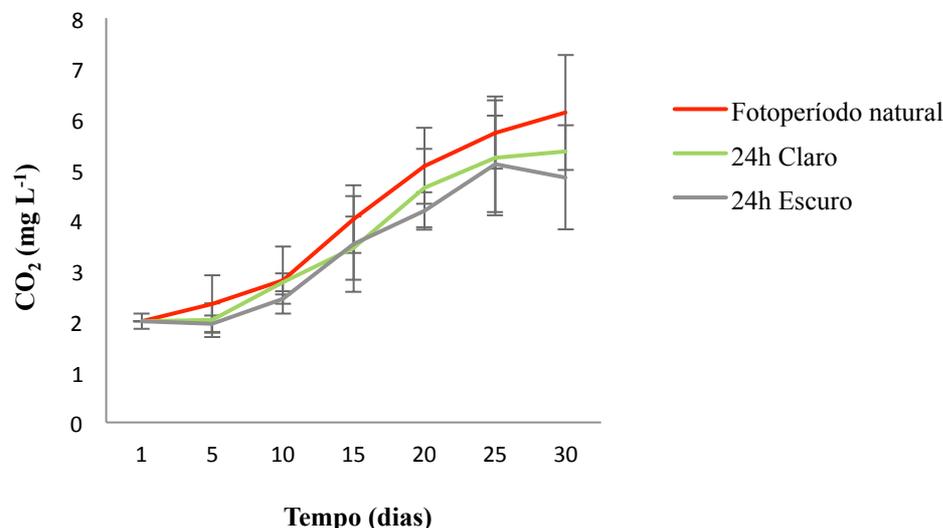


Figura 16- Valores médios (\pm Desvio padrão) de CO₂ livre (mg L⁻¹) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Os resultados de quantificações de bactérias nas amostras de água de bioflocos, durante 70 dias de experimento, estão dispostas nas Figuras 17 a 22. Não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos em ambos os períodos para bactérias cocoides livres, conforme a (Figura 17).

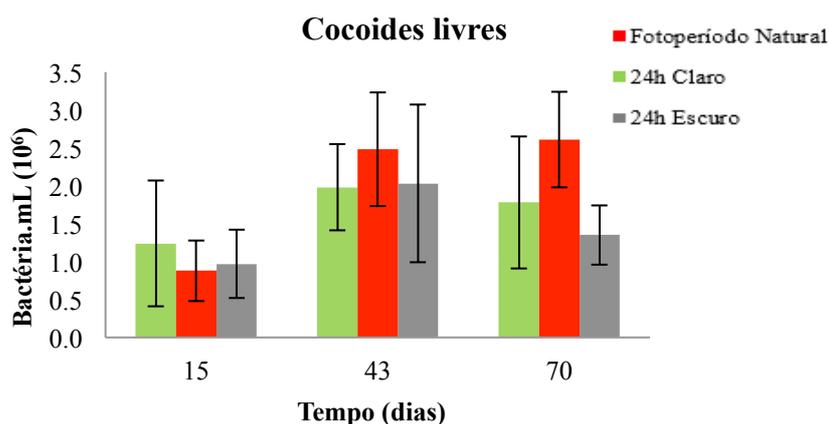


Figura 17- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bactérias cocoides livres durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Conforme os resultados expostos na (Figura 18) para as bactérias cocoides aderidas, verifica-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos

nas amostras com 15 dias. Valor máximo de $2,5 \times 10^5$ para FPN, e mínimo $0,1 \times 10^5$ para 24hDA.

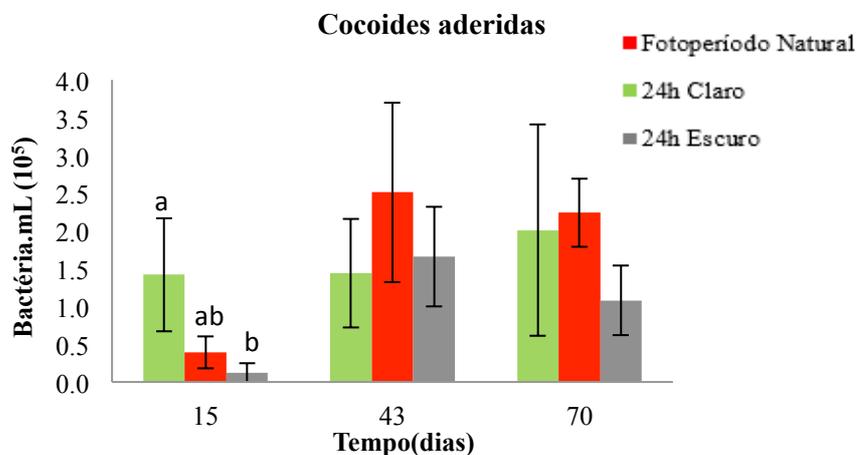


Figura 18- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bactérias cocoides aderidas durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Conforme a Figura 19, os valores de bactérias filamentosas livres apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) com 43 dias. Valor máximo de $2,4 \times 10^6$ para 24hCL e mínima de $0,4 \times 10^6$ para 24hCL.

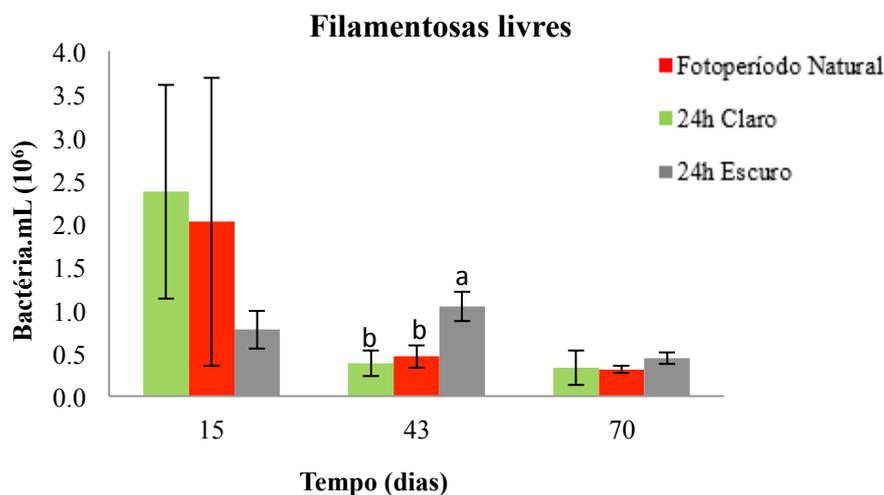


Figura 19- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bactérias filamentosas livres durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados de bactérias filamentosas aderidas (Figura 20), houve diferenças significativas ($p < 0,05$) nos 43 e 70 dias, com valor máximo de $17,8 \times 10^4$ e mínima de $0,6 \times 10^4$ para FPN.

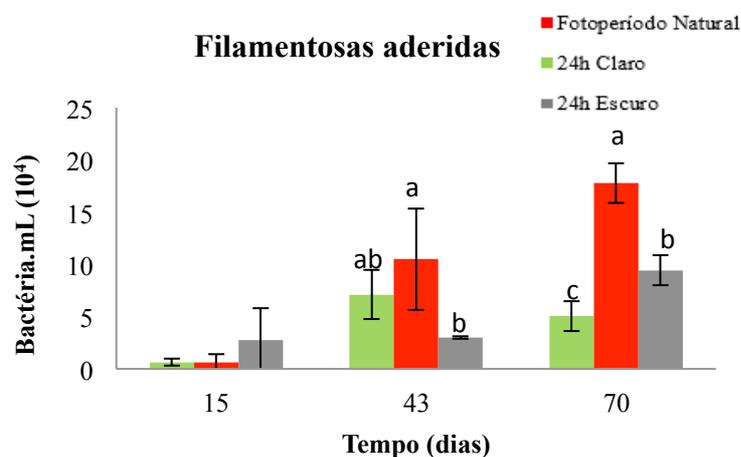


Figura 20- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bactérias filamentosas aderidas durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Conforme os resultados expostos na (Figura 21) para as bactérias do gênero *Vibrio* apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) com 15 e 43 dias. Com máxima de $4,2 \times 10^4$ para 24hCL e mínima de $0,2 \times 10^4$ para 24hES.

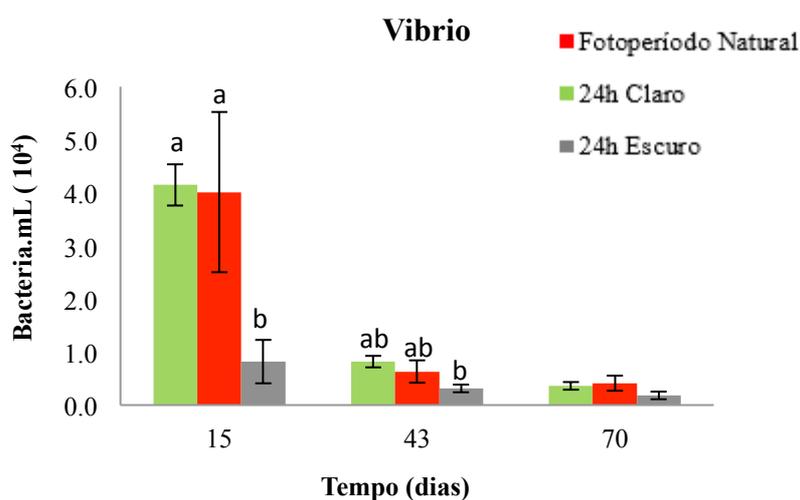


Figura 21- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bactérias do gênero *Vibrio* durante 70 dias de experimento no cultivo de *L.* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

As bactérias do tipo bacilos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, tendo máxima de $8,3 \times 10^5$ para FPN e mínima de $2,3 \times 10^5$ para 24hES como exposto na (Figura 22).

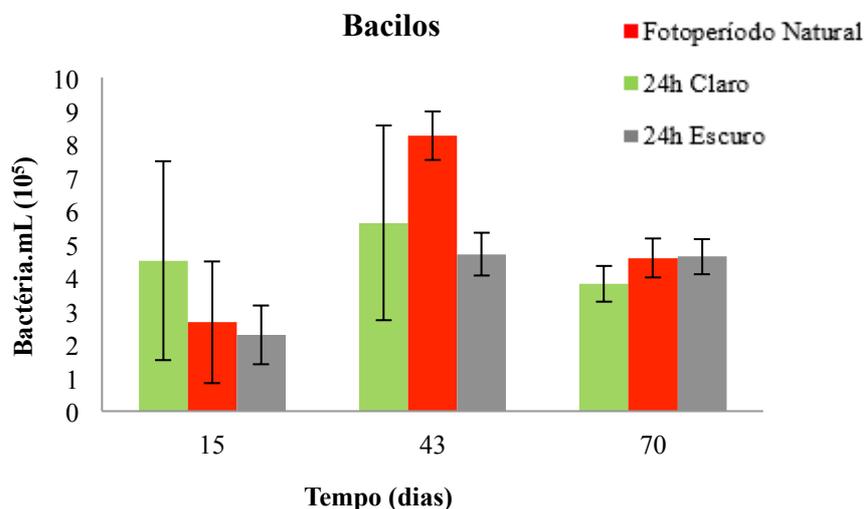


Figura 22- Valores médios (\pm Desvio padrão) de bacilo durante 70 dias de experimento no cultivo de *L.* em sistema BFT. Valores médios \pm desvio padrão para quatro repetições. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

As figuras 23 a 25 apresentam fotomicrografias de microrganismos nos tratamentos aos 15 e 70 dias de experimento. Os tratamentos com luz apresentaram maior abundância de bactérias filamentosas e flagelados (Figuras 23 e 24) em comparação ao tratamento escuro (24hES) (Figura 25).

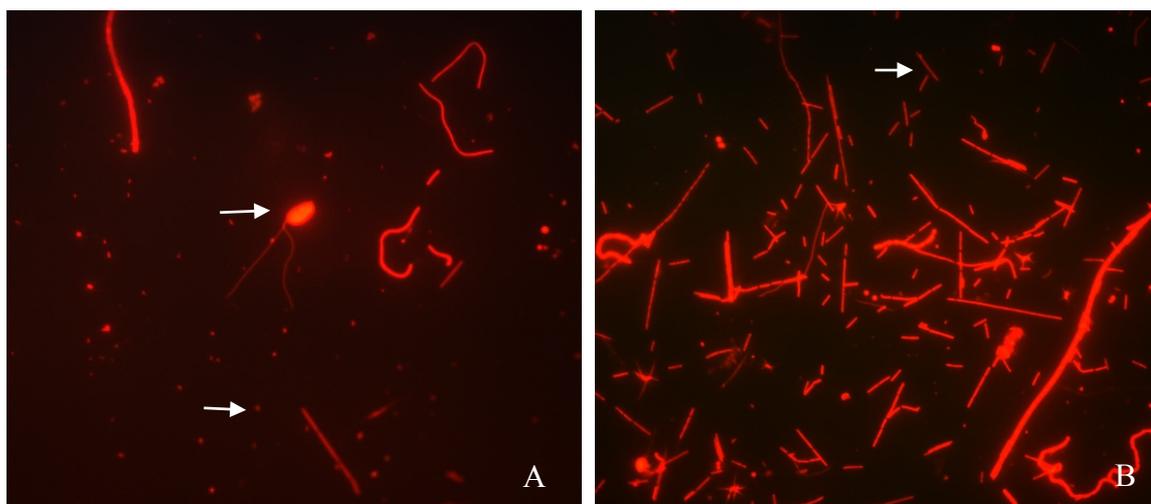


Figura 23- Abundância de bactérias no flocos microbianos no tratamento fotoperíodo (FPN) em diferentes períodos de cultivo (A) flagelado (protozoário) e cocoides livres (bactérias) com 15 dias de experimento (B) bactérias filamentosas livres com 70 dias, com aumento de 1000x (Foto: Wellica G. Reis).

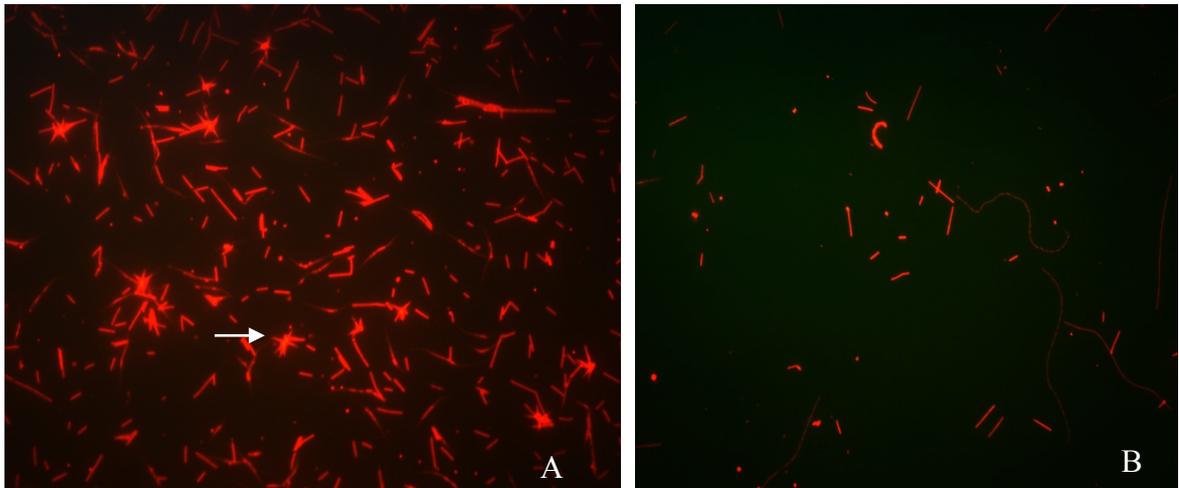


Figura 24- Abundância de bactérias no floco microbiano no tratamento claro total (24hCL) em diferentes períodos de cultivo (A) Ameba 15 dias e (B) 70 dias, com aumento de 1000x (Foto: Wellica G. Reis).

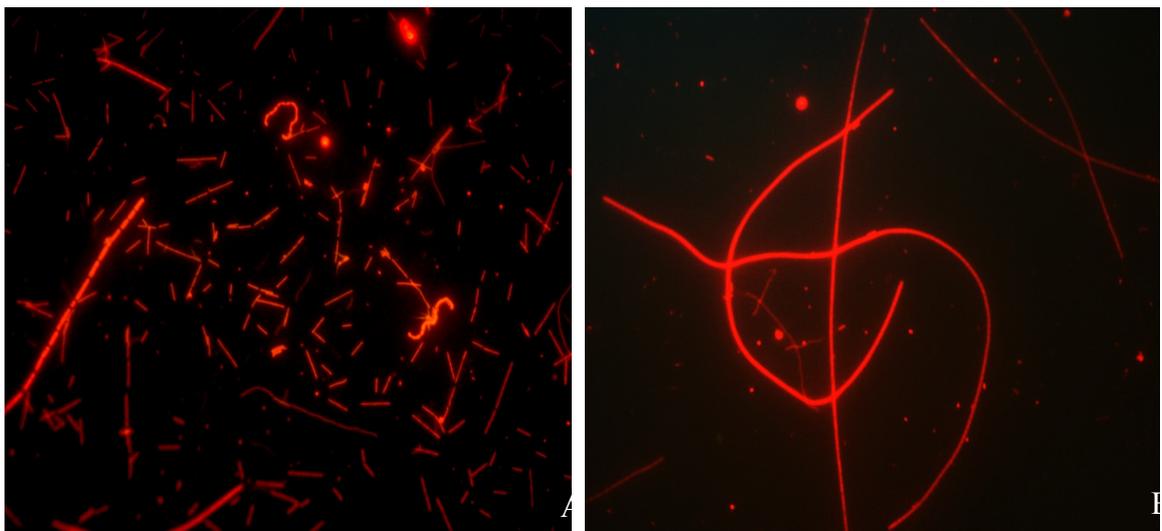


Figura 25- Abundância de bactérias no floco microbiano no tratamento escuro total (24hES) em diferentes períodos de cultivo (A) 15 dias e (B) 70 dias, com aumento de 1000x (Foto: Wellica G. Reis).

Os resultados da quantificação de protozoários estão ordenados nas Figuras 26 a 32. Para flagelados autotróficos ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos com 25, 43 e 70 dias. O máximo foi de 10×10^3 para FPN e mínima de $0,1 \times 10^3$ para 24hES.

Flagelados fotoautotróficos

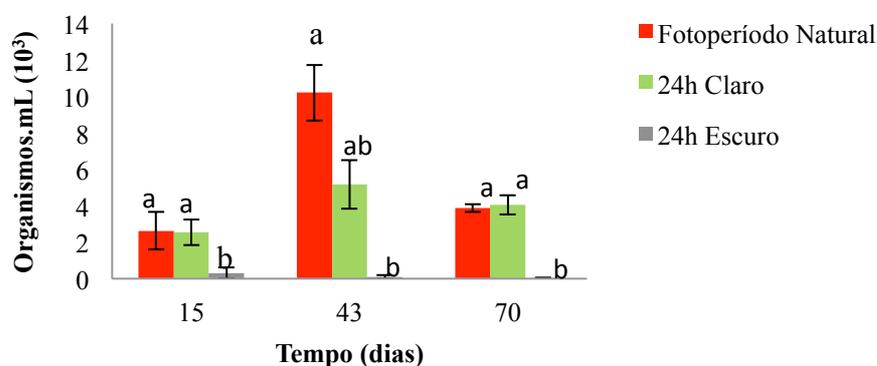


Figura 26- Valores médios (\pm Desvio padrão) de flagelado autotrófico durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados da (Figura 27) verificou-se que os flagelados heterotróficos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), entre os tratamentos com 43 e 70 dias, com valor máximo de 29×10^2 para 24hES e mínimo de 2×10^2 para 24hCL.

Flagelados heterotróficos

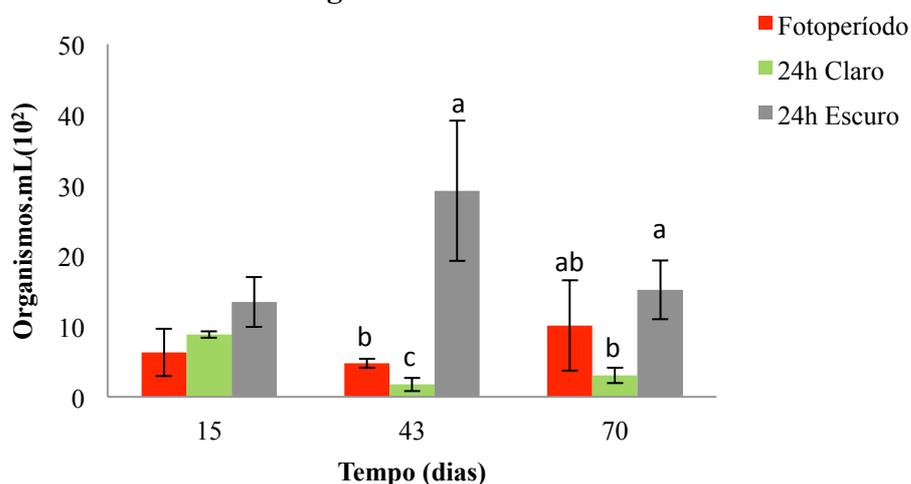
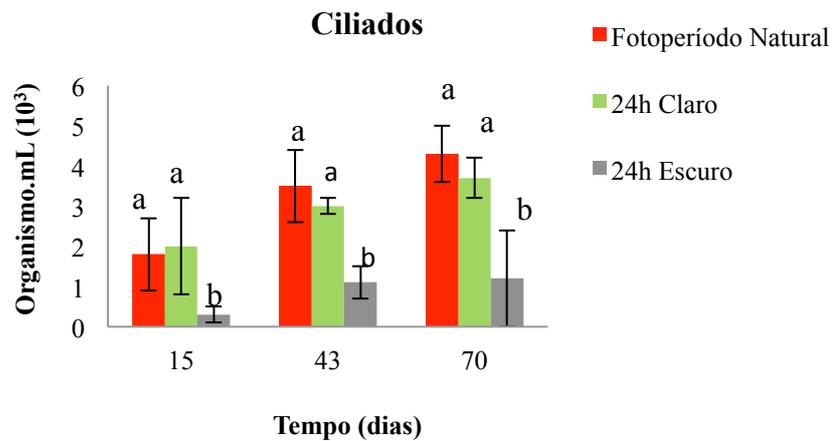


Figura 27- Valores médios (\pm Desvio padrão) de protozoários flagelados heterotróficos durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Para os ciliados ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos no período com 15, 43 e 70 dias. com valor máximo de $4,3 \times 10^3$ para FPN e mínimo de $0,3 \times 10^3$ para 24hES (Figura 28).



28- Valores médios Figura (\pm Desvio padrão) de protozoários ciliados durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Com relação aos dinoflagelados houve uma dominância no tratamento escuro total, sendo observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nas amostras com 15 e 70 dias, com valor máximo de 2×10^2 para 24hES, e mínimo de $0,01 \times 10^2$ para 24hCL, conforme mostra a (Figura 29).

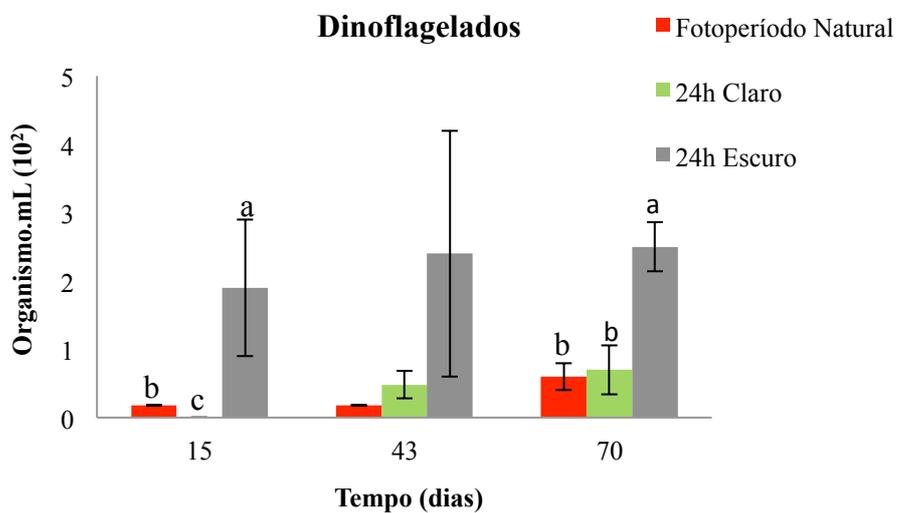


Figura 29- Valores médios (\pm Desvio padrão) de dinoflagelados durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Para os rotíferos, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) aos 43 e 70 dias, com máxima 19×10^1 para 24hCL e mínima $0,02 \times 10^1$ para 24hCL e 24hES conforme a (Figura 30).

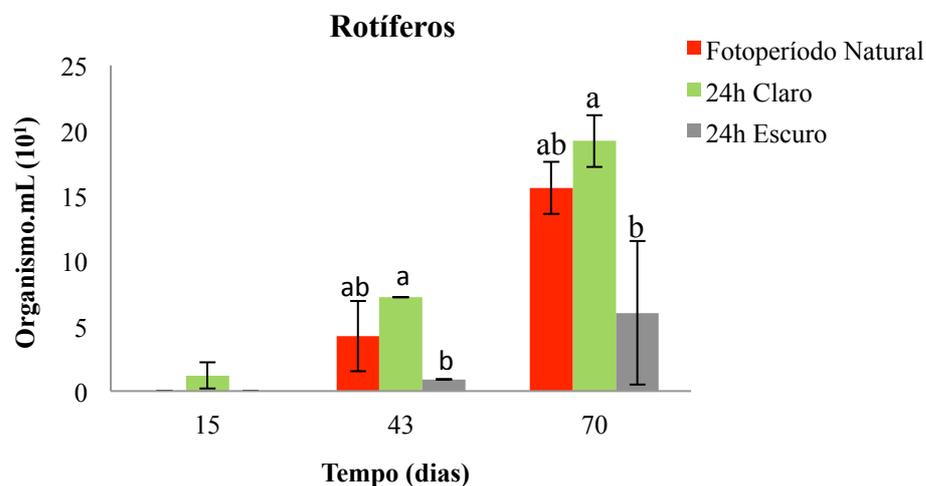


Figura 30- Valores médios (\pm Desvio padrão) de rotífero durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Para os nematoides, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos com 43 dias, com máxima de $14,0 \times 10^2$ para 24hES e mínima de $0,01 \times 10^2$ para 24hES e FPN (Figura 31).

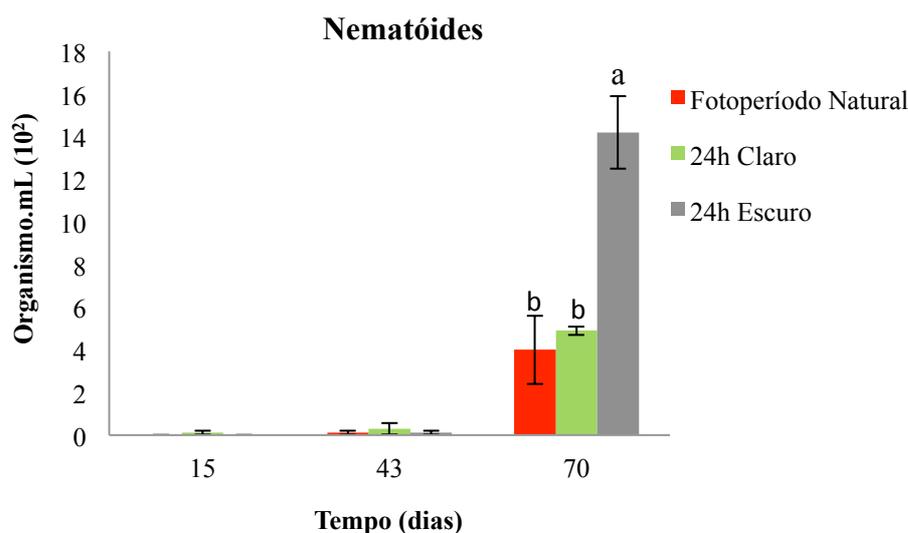


Figura 31- Valores médios (\pm Desvio padrão) de nematoides durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT. Diferentes letras indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Para a presença de amebas não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Figura 32). Valor máximo de $0,6 \times 10^2$ para FPN e mínimo de $0,1 \times 10^5$ para 24hES.

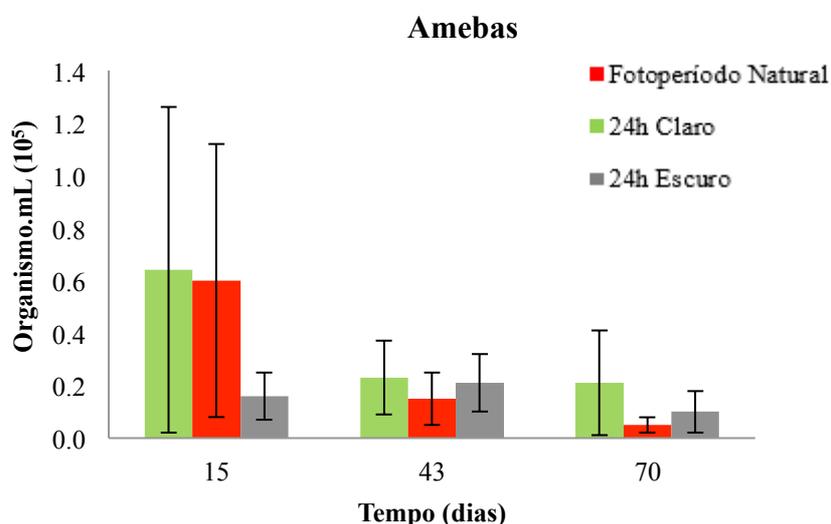


Figura 32- Valores médios (\pm Desvio padrão) de ameba durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

Os resultados obtidos no presente experimento para análise proximal do floco ao final de 70 dias de estudo estão dispostos na Tabela 2. Proteína bruta e lipídios apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 2- Análise proximal do bioflocos formados nos diferentes fotoperíodos com *L. vannamei*. Diferentes letras na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

	Fotoperíodo Natural (FPN)	24h Luz (24hCL)	24h Escuro (24h ES)
Proteína bruta (%)	25,59 \pm 0,64 ^a	24,82 \pm 0,34 ^{ab}	23,89 \pm 0,72 ^b
Extrato etéreo (%)	1,81 \pm 0,09 ^a	2,28 \pm 0,07 ^a	1,02 \pm 0,07 ^b
Fibras (%)	5,16 \pm 1,56	6,41 \pm 1,17	4,37 \pm 1,04
Cinzas (%)	53,68 \pm 2,14	51,60 \pm 1,45	51,79 \pm 0,77
ENN (%)	22,46 \pm ,051	24,82 \pm 0,60	23,89 \pm 0,55

ENN: Extrato não-nitrogenado: estimados através da diferença [100-(PB+EE+FB+cinzas)]. Todas as análises foram realizadas com matéria seca oriunda do bioflocos.

Os resultados para desempenho zootécnico no presente experimento para camarões da espécie *L. vannamei* durante 70 dias de estudo estão dispostos na Tabela 3. Os tratamentos expostos a luz obtiveram melhores valores de desempenho zootécnico em peso final, biomassa final, sobrevivência, conversão alimentar, biomassa por m³, crescimento semanal e crescimento após 1 g com diferença significativa (p<0,05).

Tabela 3- Valores médios (\pm DP) de desempenho zootécnico do *L. vannamei* nos tratamentos FPN (fotoperíodo natural), 24hCL (Claro Total) e 24hES (Escuro Total) durante 70 dias de cultivo na fase de berçário e engorda em sistema BFT. Diferentes letras na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05).

	Fotoperíodo Natural (FPN)	24h Luz (24hCL)	24h Escuro (24h ES)
Peso inicial (g)	0,053 \pm 0,010	0,053 \pm 0,010	0,053 \pm 0,010
Peso final (g)	8,62 \pm 0,98 ^a	7,60 \pm 0,88 ^a	6,76 \pm 0,49 ^b
Sobrevivência (%)	90,12 \pm 31,71 ^a	91,87 \pm 10,5 ^a	69,67 \pm 14,36 ^b
FCR	1,32 \pm 0,08 ^a	1,43 \pm 0,16 ^a	2,47 \pm 0,27 ^b
Biomassa final (Kg/m ³)	4,66 \pm 0,32 ^a	4,27 \pm 0,08 ^a	2,17 \pm 0,20 ^b
Crescimento semanal (g)	0,86 \pm 0,09 ^a	0,75 \pm 0,06 ^{ab}	0,61 \pm 0,05 ^b
Crescimento após 1 g	1,12 \pm 0,18 ^a	0,99 \pm 0,15 ^{ab}	0,73 \pm 0,07 ^b

A Figura 34 mostra as diferenças significativas entre os pesos dos camarões nos tratamentos 24hCL, FPN e 24hES

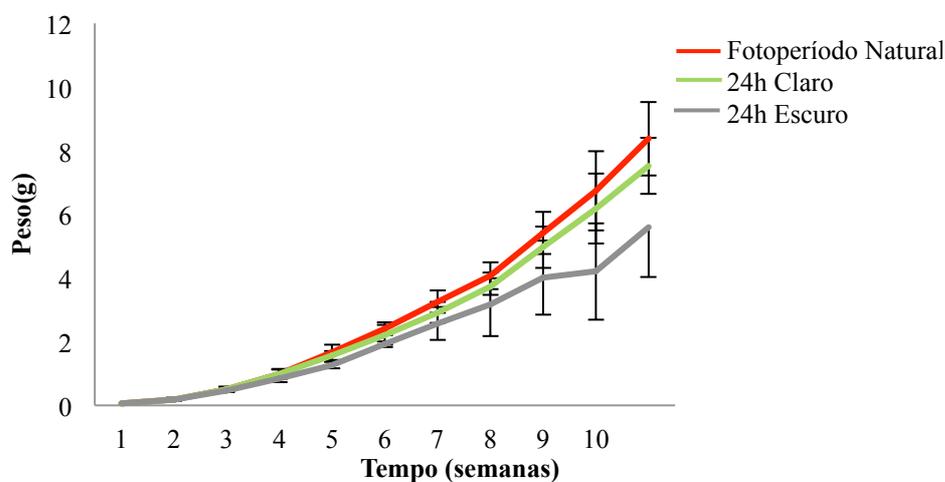


Figura 34- Valores médios (\pm Desvio padrão) de peso (g) durante 70 dias de experimento no cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT.

DISCUSSÃO

A luz é considerada um fator abiótico de suma importância para organismos que vivem no meio aquático. Camarões peneídeos podem apresentar modificações no comportamento, crescimento, ingestão de alimento, maturação, reprodução e possivelmente mudanças na atividade natatória, quando expostos a diferentes condições de luminosidade (Gardner et al., 1998; Wang et al., 2004; Guerra-Santos et al., 2017).

Além disso, o próprio sistema BFT, pode apresentar várias mudanças, especialmente quando exposto à luz solar podendo variar abruptamente de um sistema predominantemente fotoautotrófico (dominado por microalgas) para um sistema heterotrófico (dominado por bactérias e protozoários principalmente) (Kirk, 2010; Hargreaves, 2013). Neste estudo, verificamos efeitos da luz não só no desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei*, mas também na qualidade de água, na composição proximal dos bioflocos e na abundância da comunidade microbiana.

Influência da luz na qualidade de água

No cultivo do camarão *L. vannamei*, o monitoramento dos parâmetros de qualidade de água é fundamental para obter resultados considerados favoráveis para crescimento e sobrevivência dos animais. Houve diferença estatística para os tratamentos FPN, 24hCL e 24hES para os resultados de amônia, nitrito, clorofila *a*, CO₂ e intensidade luminosa, os demais parâmetros como: temperatura, oxigênio, pH, nitrato, fosfato, alcalinidade, sólidos suspensos totais, turbidez, sólidos sedimentáveis não houve diferença estatísticas, os valores para estas variáveis estão dentro da faixa considerada aceitável para a espécie em estudo, sendo assim, provavelmente não causaram nenhuma diferença nos índices de desempenho (Van Wyk e Scarpa, 1999; Gaona et al., 2011; Furtado et al., 2016; Zhang et al., 2017).

No cultivo de *L. vannamei*, os níveis de concentração de Nitrogênio Amoniacal Total (N-(NH₃+NH₄⁺)) são considerados tóxicos para espécie e também variam de acordo com a salinidade, pH e temperatura da água do cultivo, entre salinidade 25 e 35, os níveis de segurança considerados para este parâmetro são de 3,55 e 3,95 mg N-AT L⁻¹, respectivamente, de acordo com Lin e Chen (2001) e Ebeling et al. (2006). Foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos expostos a luz FPN e com restrição de luz (24hsES), porém os valores não chegaram próximos dos níveis de

segurança, sendo que o valor máximo foi de $2,7 \text{ mg L}^{-1}$. O tratamento (24hES) apresentou níveis mais baixos de amônia $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ quando comparado com os demais tratamentos. Cabe ressaltar que, no sistema BFT, as concentrações de amônia são controladas através da adição de uma fonte de carbono (Avnimelech, 2009). Sabe-se que a taxa de crescimento das bactérias heterotróficas é significativamente mais rápida do que as bactérias quimioautotróficas. Sendo assim, com o rápido crescimento dessas bactérias ocorre a remoção do nitrogênio amoniacal pela incorporação em biomassa bacteriana (Ebeling et al., 2006; Avnimelech, 2009).

A toxicidade do nitrito é influenciada pela salinidade e pelo pH, ou seja, quanto menores os valores para estes parâmetros mais tóxico se torna o nitrito. Os níveis de segurança para as concentrações de nitrito em cultivos de *L. vannamei* são de 15,2 e $25,7 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ para salinidades de 25 e 35 respectivamente (Lin e Chen, 2003). No presente estudo trabalhamos com um nível de segurança de $26 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$, e quando os tratamentos ultrapassaram esse valor foi realizado renovações de 20% do volume total do tanque. Vale ressaltar que no tratamento escuro total 24hES não foram feitas renovações, pois o nível de segurança para a espécie não foi ultrapassado. De forma geral foi observado que a nitrificação no tratamento 24hES foi mais efetiva quando comparada com os demais tratamentos. Este fato pode ser explicado pela fotossensibilidade das bactérias nitrificantes e também por competição por nutrientes.

As bactérias nitrificantes possuem respostas à luz de maneiras distintas. Em um trabalho realizado por Guerrero (1996), os autores observaram uma fotossensibilidade das bactérias nitrificantes quando expostas a diferentes comprimentos de ondas de luz e também em diferentes colorações. Observaram a inibição da atividade das bactérias nitrificantes quando expostas a luz solar, porém o efeito da luz sobre as bactérias não depende apenas do tipo da bactéria, mas também das condições ambientais. Em um outro estudo, Vergara et al. (2016) também observaram a sensibilidade referente a luz por bactérias nitrificantes, em que irradiação com $500 \text{ e } 1250 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ocasionou a redução de 20 a 60% nas taxas de remoção da amônia e cerca de 26 a 71% nas taxas de remoção do nitrito. Essa fotossensibilidade pode explicar porque no escuro a nitrificação ocorreu de forma antecipada e melhor referente os tratamentos expostos a luz. O tratamento com restrição de luz propiciou um ambiente de cultivo favorável para

o crescimento dessas bactérias evitando uma possível inibição da atividade das bactérias nitrificantes.

Outro fato importante é a competição no sistema de cultivo. As bactérias fotoautotróficas, quimioautotróficas e as heterotróficas consomem carbonatos para cada grama de amônia consumida, ou seja, as organismos fotoautotróficas utilizam 3,13g de alcalinidade/g NH_4^+ , as quimioautotróficas 7,05g de alcalinidade/g NH_4^+ e as heterotróficas 3,57g de alcalinidade/g NH_4^+ (Ebeling et al., 2006). Dessa forma, quando em um mesmo sistema de cultivo todos esses grupos estão presentes, ocorre competição por nutrientes, nesse caso, carbonatos e compostos nitrogenados. Este fato pode explicar porque a nitrificação no tratamento com restrição de luz foi melhor. No tratamento 24hES houve principalmente o crescimento de bactérias heterotróficas, sendo assim, houve maior fonte de nutriente disponível para essas bactérias como carbonatos e compostos nitrogenados e conseqüentemente uma menor competição com os organismos fotoautotróficos por nutriente. Vale ressaltar que no tratamento (24hES) foi realizado mais correções para manter a alcalinidade, pois este tratamento teve quedas nos níveis de alcalinidade uma semana antes quando comparado aos tratamentos expostos a luz.

O dióxido de carbono dissolvido (CO_2) na água de cultivo é resultado da respiração dos camarões cultivados juntamente com a comunidade microbiana no sistema de cultivo (Van Wyk e Scarpa.,1999), Densidades de estocagem muito elevadas podem elevar as taxas de CO_2 no sistema. Os tanques de cultivos expostos à luz 24hCL e FPN obtiveram maiores taxas de sobrevivência e com isso maior biomassa no tanque respirando e gerando CO_2 . Segundo Furtado (2016), os níveis adequados são de menos de 5 mg $\text{CO}_2 \text{ L}^{-1}$ durante o cultivo de *L. vannamei* para não reduzir o consumo de oxigênio. No presente estudo houve diferença significativa entre os tratamentos FPN, 24hCL e 24hsES. Entretanto, o maior valor encontrado no experimento foi de 4,32 mg $\text{CO}_2 \text{ L}^{-1}$ não ultrapassando o valor de segurança recomendado pelo referido autor.

A clorofila *a* é o pigmento mais importante para a fotossíntese, encontrado nos cloroplastos de todas as espécies fotossintetizantes que absorvem a luz visível, entre o comprimento de onda 380-750 nm (Lourenço et al., 2009). Assim, todos os organismos fotossintetizantes contidos no floco, contribuíram para os altos níveis de clorofila *a* nos tratamentos expostos à luz. As altas concentrações de clorofila *a* foram influenciadas

pela presença de luz no cultivo de acordo com os tratamentos FPN e 24hsCL. Na quarta semana de experimento houve uma variação na clorofila *a* que pode ter ocorrido devido as renovações que foram realizadas nos tratamentos FPN e 24hCL, quando ultrapassaram os valores de segurança na concentração do nitrito. Além disso, as concentrações de clorofila *a* variam de acordo com a intensidade luminosa aferida no dia. Houve diferença significativa na intensidade luminosa entre os tratamentos expostos a luz e com restrição de luz, uma vez que, o tratamento com restrição luz foi coberto com uma lona preta em toda a extensão do tanque, ou seja, não permitindo que houvesse a entrada de luz neste tratamento, e assim, influenciando na captação de luz pelo o aparelho (luxímetro), o que resultou em resultados imperceptíveis pelo aparelho. E o contrário ocorreu com os tratamentos expostos a luz, que não foram cobertos e os resultados de luz foram mais elevados. Esse comportamento, tanto da clorofila quanto da luz já era esperado nos tratamentos.

Influência da luz na abundância de microrganismos

Variações no ambiente de cultivo, como nutrientes, competição natural de comunidades de diferentes espécies e luz, podem influenciar na produtividade tanto primária quanto também na predominância de grupos específicos de microrganismos mais adaptados às condições ambientais estabelecidas (Irigoien e Castel, 1997; Neto et al., 2008). Durante este estudo foi possível verificar a presença abundante de microrganismos durante o sistema de cultivo em diferentes fotoperíodos. Ou seja, nos tratamentos expostos a luz houve maior abundância de bactérias do grupo como: cocoides livres, cocoides aderidas, filamentosa livre, filamentosa aderida, e bacilo. E para protozoários grupos como: flagelados autotróficos, ciliados, amebas e grupos de rotíferos quando comparados com o tratamento com restrição luminosa.

Em ambientes com abundância de luz acredita-se que, as microalgas se estabelecem primeiro, e estas servem ainda como fonte básica de alimento para o posterior desenvolvimento de uma comunidade zooplânctônica, além de proporcionar alimentação suplementar para os camarões (Ju et al., 2008).

No sistema de produção intensivo de camarões, a comunidades natural produzida no cultivo possui uma ampla variedade com a presença de bactérias, fitoplâncton, rotíferos, nematoides e protistas, e estes desempenham um importante

papel no fluxo energético dos ecossistemas aquáticos (Decamp et al., 2003; Lara et al., 2017). A biomassa microbiana produzida no sistema BFT serve como uma importante fonte de nutrientes para os camarões cultivados (Wasielisky et al., 2006; Ballester et al., 2010; Becerril-cortés et al., 2018). No presente estudo, a abundância de microrganismos foi correspondente ao ambiente de cultivo, ou seja, tratamentos expostos a luz apresentaram maior abundância de organismos fotoautotróficos e o com restrição de luz maior concentração de organismos heterotróficos. Em uma observação geral quanto a abundância dos microrganismos é possível constatar que a presença de luz influenciou positivamente tanto para bactérias como para protozoários, havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

A presença de luz influenciou na comunidade de bactérias cocoides aderidas quando comparado com o tratamento com restrição de luz, principalmente nas duas primeiras semanas de cultivo e posteriormente um aumento significativo ao longo do período em todos os tratamentos. Em um estudo realizado por Ferreira et al. (2008) sobre de formação de flocos microbianos formados por duas espécies de camarões (*L. vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis*), pode estar relacionada com a abundância de bactérias formadoras de bioflocos, principalmente do tipo cocos e que além disso, existe uma estreita relação entre a quantidade de agregados e a presença de bactérias cocoides aderidas.

Para bactérias filamentosas livres e aderidas parece haver uma relação inversamente proporcional entre elas nos tratamentos (Figuras 28 e 29). Observa-se que a concentração de filamentosas livres preferencialmente no início é maior quando comparado com as bactérias filamentosas aderidas e que a medida que as bactérias filamentosas livres diminuem ocorre o inverso com as filamentosas aderidas. Além disso, foi verificado uma maior abundância de ambas as bactérias nos tratamentos expostos a luz FPN e 24hCL quando comparado com restrição de luz 24hES. Este fato pode estar relacionado com uma maior disponibilidade de carbono orgânico dissolvido no meio de cultivo, principalmente no início do experimento quando introduzimos uma fonte externa de carbono orgânico. Anesio et al. (2003) constataram que tanto as bactérias livres como as aderidas atuam de formas diferentes no ambiente, sendo que quando temos uma maior disponibilidade de carbono orgânico dissolvido no meio ocorre uma maior abundância de bactérias livres, e posterior a esse período as bactérias

aderidas predominam, e com isso ocorre uma ligação alimentar detrítica a níveis tróficos superiores.

Observando-se as Figuras 30-31 foi possível notar que no início do período tivemos altas concentrações de vibrios nos tratamentos expostos a luz FPN e 24hCL e que no tratamento com restrição a luz 24hES, a concentração foi menor, entretanto, após o aumento das concentrações de bacilos no sistema ocorre um decréscimo nas concentrações de vibrios, mostrando antagonismo entre vibrios e bacilos no tanque de cultivo. Este fato pode estar relacionado com adição de probiótico na água desde o início do experimento. Esse resultado corrobora com Krummenauer et al. (2014) e Hostins (2017) que constataram menores concentrações de vibrio e o aumento dos bacilos quando utilizado probiótico no sistema BFT. Em um estudo realizado por Esparza-Leal et al. (2017), onde *L. vannamei* foi exposto a limitação luminosa em baixa salinidade com bioflocos, os autores também observaram uma diminuição na contagem de vibrio e respectivo aumento de bacilos. Apesar de quantificado não foi possível a identificação das espécies do gênero *Vibrio*.

Nos tratamentos expostos a luz houve maior abundância de protozoários ciliados no sistema. Os ciliados funcionam como indicador da qualidade de água (Decamp et al., 1999). No presente estudo foi possível evidenciar alta quantidade de ciliados e flagelados autotróficos nos tratamentos expostos a luz quando comparado com o tratamento com restrição de luz que obteve concentrações maiores em flagelados heterotróficos como era esperado (Figuras 28, 29 e 30). Ao longo de todo o período de estudo notamos que ocorreu diminuição na concentração de flagelados e um respectivo aumento na concentração de ciliados, esse fato pode estar relacionado com a predação dos flagelados autotróficos pelos os ciliados ocorrendo a existência de interações tróficas entre os microrganismos nos tanques de cultivo.

A população de rotíferos apresentou um aumento significativo nos tratamentos (FPN) e (24hCL) principalmente no período com 43 e 70 dias (Figura 32) e nesses períodos observamos o aumento dos ciliados (Figura 34), enquanto que no tratamento (24hES), tanto as concentrações de ciliados, como de rotíferos permaneceram menores. Esse fato demonstra que quando temos um aumento na abundância de ciliados, o mesmo ocorre com os rotíferos havendo uma relação entre os organismos. Os rotíferos são reportados como eficientes predadores de ciliados (Decamp et al., 2006). No presente

estudo foi observada a dominância dos ciliados referente a outros seres que compõem o zooplâncton em termos quantitativos, corroborando o trabalho de (Decamp et al., 2006).

A concentração dos nematoides no tanque de cultivo pode ser alterada devido a taxa de predação dos organismos cultivados (Ray et al., 2010). Para os nematoides analisados na água de cultivo nos períodos de 15 e 43 dias, as concentrações permaneceram baixas em todos os tratamentos. Esta baixa concentração, principalmente com 43 dias, pode estar relacionada com predação dos nematoides pelo camarão e assim diminuição de predação sobre os ciliados ocasionando maior aumento em sua concentração e conseqüentemente maior predação sobre os flagelados e com isso menor pressão sobre as bactérias indicando um possível controle “Top-Down” (Carperter e Kitchell, 1993). Porém, foi observado aumento na concentração dos nematoides no período final do estudo, principalmente do tratamento (24hES), parecendo não haver predação dos nematoides pelo camarão.

As amebas são organismos heterotróficos e estão tipicamente associadas à superfícies quando estão no seu estado ativo de alimentação, esses organismos podem ingerir bactérias, protozoários flagelados e ciliados, algas, diatomáceas, rotíferos e nematoides, além disso, é comum ingerir quantidades elevadas de bactérias em locais onde ciliados e metazoários não estão disponíveis (Decamp et al., 2006). No presente experimento foi observado uma grande abundância de amebas no 15º dia de estudo nos tratamentos FPN e 24hCL e posteriormente uma diminuição significativa na sua concentração, diferindo do encontrado por Godoy (2008), que observou estes organismos somente na última semana de experimento. A presença de amebas desde o início pode estar relacionada com a oferta de alimento disponível nos tanques de cultivo desde o começo. As concentrações de amebas permanecem altas até que os níveis de nutrientes para as outras espécies (protozoários) sejam suficientes para que as altas taxa de crescimento dos outros organismos supere das amebas, e assim, ocorre uma competição por espaço e nutrientes (Decamp et al., 1999; Silva et al., 2008).

Portanto, a presença de luz influenciou de forma positiva em toda comunidade microbiana, tanto na abundância como também nos níveis tróficos no sistema de cultivo.

A influência da luz na composição proximal

Os microrganismos são conhecidos não somente como importantes fontes de proteínas, mas também por suprir as necessidades lipídicas, minerais e vitamínicas do camarão (Decamp et al., 2002). Além disso, servem como fonte potencial de enzimas exógenas que auxiliam na digestão (Decamp et al., 2003; Ballester et al., 2010; Loureiro et al., 2012; Becerril-Cortés et al., 2018). Os diferentes fotoperíodos influenciaram na abundância da comunidade microbiana e conseqüentemente houve alterações nos níveis lipídicos e proteicos dos bioflocos, com e sem restrição de luz. Nas análises de cinzas e fibras não houve diferença significativa entre os tratamentos.

O percentual de lipídeo dos bioflocos para os tratamentos expostos a luz e com restrição de luz foram significativamente maiores (Tabela 3), quando comparados com os valores registrados por Wasielesky et al. (2006); Ballester et al. (2010) e Emerenciano et al. (2012) (0,49; 0,47 e 0,47%, respectivamente) e similar aos valores encontrados por Silva et al. (2013) e Fugimura et al. (2015), (2,48 e 2,57%, respectivamente). Esta alta concentração de lipídeos no presente trabalho pode estar relacionada com uma maior abundância de flagelados, bactérias filamentosas, ciliados, cocoides e bacilos nos tratamentos FPN e 24hCL. Os flagelados são fonte de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS) e esteróis (Decamp et al., 2003). Maior abundância de microrganismos podem colaborar para o volume desse nutriente, além dos nematoides, os flagelados heterotróficos, as cianobactérias filamentosas, os ciliados e as bactérias heterotróficas unicelulares também apresentam alta relação com os lipídios sendo uma importante fonte lipídica para os camarões (Silva et al., 2008; Rocha et al., 2012).

Os níveis de proteínas do bioflocos para os tratamentos expostos a luz FPN e 24hCL foram significativamente maiores ao do tratamento com restrição de luz 24hES, (Tabela 3). Os valores de proteínas foram similares aos encontrados por outros autores (e.g. Ballester et al., 2010; Wasielesky et al., 2012; Gaona et al., 2016). Os níveis de proteínas observados no presente estudo podem estar relacionados com a abundância de microrganismos e sua contribuição proteica em cada tratamento. Segundo Silva et al. (2008), nematoides, bactérias cocoides e bactérias (como bacilos) são importantes fontes proteicas. Nos tratamentos FPN e 24hCL foi observado maiores concentrações de bactérias cocoides e bacilos, sendo assim, esses organismos podem ter contribuído para os valores de proteína nos tratamentos, esses resultados corroboram com Rocha et al.

(2012), que constataram que os bioflocos com maior nível de proteína bruta, próximo a 30%, apresentaram maior abundância de bactérias do tipo cocos, enquanto que o bioflocos com menos proteína apresentaram menor abundância de bactérias do tipo cocos no mesmo período.

Os elevados níveis de cinzas no presente experimento demonstram que a matéria mineral é proveniente dos bioflocos microbianos no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema BFT. Tacon et al., (2002) em uma análise de minerais os autores observaram que os flocos são ricos em fósforo bem como cálcio, potássio, magnésio, entre outros. Os resultados são similares aos níveis descritos por outros autores. Wasielesky et al. (2006), Silva et al., (2008) e Gaona et al. (2016) encontraram elevados níveis de cinzas (44,85%, 45,50 e 55,51%, respectivamente). Tacon et al. (2002) constataram que os flocos são ricos em fósforo bem como cálcio, potássio, magnésio, entre outros. Os valores de fibras corroboram com Silva et al. (2013); Arias Moscoso et al. (2016) e Gaona et al. (2016).

Influência da luz no desempenho zootécnico

A presença da luz no cultivo dos camarões *L. vannamei* influenciou positivamente o seu desempenho zootécnico. A abundância da comunidade microbiana e as alterações comportamentais dos animais associadas à presença da luz podem ajudar a explicar essas diferenças. Estudos demonstram que o camarão branco do Pacífico tem a habilidade em aproveitar a produtividade natural no sistema de cultivo BFT (Hargreaves, 2013; Samocha et al., 2017). O alimento natural serve como fonte suplementar de nutrientes aos camarões refletindo no desempenho, tanto no ganho de peso, como nas taxas de conversão alimentar (Wasielesky et al., 2006; Becerril-Cortés et al., 2018). O *L. vannamei* apresenta atividade durante o dia e durante a noite, entretanto, essa atividade varia em função de comportamentos específicos. Por exemplo, a agilidade locomotora (natação) ocorre mais a noite, já a exploração no substrato (busca por alimento) ocorre em ambas fases, porém, os animais tendem a iniciar o consumo do alimento nos horários de fase clara (Pontes e Arruda, 2005; Pontes, 2006).

O presente estudo apresentou variações na taxa de sobrevivência com diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados para os tratamentos expostos a luz corroboram com Wasielesky et al. (2012) e Baloi et al. (2013), e os resultados com

restrição de luz foram similares aos descritos por Neal et al. (2010). A baixa taxa de sobrevivência no tratamento com restrição de luz pode ser atribuída a presença de dinoflagelados da ordem Gymnodiniales. Sabe-se que Gymnodiniales incluem espécies tóxicas (Smayda, 2002). Além disso, os dinoflagelados não fotossintéticos absorvem compostos orgânicos dissolvidos, sobrevivem em profundidades não iluminadas, na água e no sedimento, e são favorecidos nos meses de verão (Taylor et al., 2008). Porém, em nosso estudo não foi possível a identificação da espécie presente no sistema de cultivo.

As taxas de conversão alimentar do presente estudo nos tratamentos expostos a luz foram consideradas baixas, quando comparadas com trabalhos em sistema de bioflocos com restrição de luz (Wasielesky et al., 2012; Baloi et al., 2013; Esparza-Leal et al., 2017), porém, para os resultados do tratamento com restrição luminosa 24hES são similares com Baloi et al. (2013) e Neal et al. (2010). A presença de luz propiciou maior disponibilidade de alimentos como bactérias, protozoários e organismos fotoautotróficos no sistema de cultivo, com isso, gerou alimento com maiores concentrações de proteína e lipídios servindo como fonte suplementar para o camarão refletindo na conversão alimentar.

A taxa de crescimento e peso final foram significativamente maiores nos tratamentos expostos a luz (FPN e 24hCL), quando comparados com a condição de restrição de luz. Em FPN e 24hCL foi observada maior abundância de microrganismos principalmente fotoautotróficos que contribuíram na produção primária de alimento, influenciando nas taxas de lipídios no bioflocos. A maior abundância de microrganismos também puderam contribuir com as concentrações de proteínas no floco, contudo, esse fato pode ter influenciado o crescimento dos camarões resultando em um maior peso específico para *L. vannamei* (Wasielesky et al., 2006, Becerril-Cortés et al., 2018). Os resultados de desempenho são diferentes do relatado por Esparza-Leal et al. (2017) e similares a Guo et al. (2012); Wasielesky et al. (2012) e Baloi et al. (2013).

CONCLUSÃO

A restrição de luz proporcionou melhor nitrificação evitando uma foto inibição das bactérias nitrificantes, gerando melhor qualidade da água, mostrando um crescimento de bactérias heterotróficas. Assim, os nutrientes foram destinados a estas bactérias, evitando a competição com organismos fotoautotróficos por nutrientes. Por outro lado, a presença de luz resulta em maior abundância de bactérias, protozoários e organismos fotoautotróficos, fato que gerou maiores concentrações de lipídios e proteínas, contribuindo como fonte suplementar de alimento para os camarões.

Portanto, este estudo mostrou que a presença de luz influenciou positivamente a abundância de microrganismos refletindo sobre melhor desempenho de *L. vannamei*. Os resultados do tratamento FPN foram semelhantes ao 24hCL, porém este a custo de energia com luz artificial durante a noite. Sendo assim, os resultados sugerem que o tratamento com fotoperíodo (FPN) é indicado para a cultura no sistema BFT.

REFERÊNCIAS

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16th ed. Patricia Cunniff (Ed.), Washington, DC.
- Alonso-Rodríguez, R., Paez-Osuna, F., 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219, 317–336. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00509-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00509-4)
- Anesio, A.M., Abreu, P.C., Biddanda, B.A., 2003. The role of free and attached microorganisms in the decomposition of estuarine macrophyte detritus. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 56, 197–201. [https://doi.org/10.1016/S0272-7714\(02\)00152-X](https://doi.org/10.1016/S0272-7714(02)00152-X)
- APHA/Awwa/Wef, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Stand. Methods 541. <https://doi.org/ISBN 9780875532356>
- Maria, L., Holanda, M., Ferreira, D.M., Maria, L., Holanda, M., Ferreira, D.M., 2008. Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do camarão-branco *Litopenaeus vannamei*.
- Arias Moscoso, J., Cuevas Acuna, D., Rivas Vega, M., Martinez Cordova, L., Osuna Amarilas, P., Miranda Baeza, A., 2016. Physical and chemical characteristics of lyophilized biofloc produced in whiteleg shrimp cultures with different fishmeal inclusion into the diets. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 44, 769–778. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-12>
- Avnimelech, Y., 2015. Biofloc technology – A practical guide book., A practical guide book. The World Aquaculture. <https://doi.org/10.13140/2.1.4575.0402>
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquac. Int.* 227–235.
- Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture* 287, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.009>
- Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerenciano, M., de Abreu, L., Wasielesky, W., 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquac. Nutr.* 16, 163–172.

- <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x>
- Baloi, M., Arantes, R., Schweitzer, R., Magnotti, C., Vinatea, L., 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. *Aquac. Eng.* 52, 39–44.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.07.003>
- Bagenal, T.B., Tesch, F.W., 1978. Age and growth, in: Bagenal, T.B. (eds), *Methods for the assessment of fish production in fresh waters*. IBP Handbook, 3.
- Becerril-cortés, D., Monroy-dosta, M.D.C., Emerenciano, G.C., Castro-mejía, G., Sofía, B., Bermúdez, S., Correa, G.V., 2018. Effect on nutritional composition of produced bioflocs with different carbon sources (Molasses , coffee waste and rice bran) in Biofloc system 6, 541–547.
- Vergara, J.C, D., R.Muñoz, Campos, J.L., Seeger, M., 2016. Influence of light intensity on bacterial nitrifying activity in algal- bacterial photobioreactors and its implications for microalgae-based wastewater treatment 114, 116–121.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.06.006>
- Cardona, E., Lorgeoux, B., Geffroy, C., Richard, P., Saulnier, D., Gueguen, Y., Guillou, G., Chim, L., 2015. Relative contribution of natural productivity and compound feed to tissue growth in blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) reared in bio floc : Assessment by C and N stable isotope ratios and effect on key digestive enzymes. *Aquaculture* 448, 288–297. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.035>
- Carpenter, Sr & Je Kitchell. 1993. *The tropic cascade in lakes*. (ed. Cambridge University press), New York. 385p.
- Correia, E.S., Suwannatous, S., New, M.B., 2007. Flow-through Hatchery Systems and Management. *Freshw. Prawn Cult. Farming Macrobrachium Rosenbergii* 52–68.
<https://doi.org/10.1002/9780470999554.ch5>
- Coyle, S.D., Bright, L.A., Wood, D.R., Neal, R.S., Tidwell, J.H., 2011. Performance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in zero-exchange tank systems exposed to different light sources and intensities. *J. World Aquac. Soc.* 42, 687–695. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00512.x>
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production 270, 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.006>

- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Bio flocculation technology in aquaculture : Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356–357, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>
- Crawford, B.O.B., Wyk, P. Van, Davis-hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Mountain, J., Scarpa, J., 1999. Farming Marine Shrimp in Maine.
- Silva, K.R., Wasielesky, W., Abreu, P.C., 2013. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 44, 30–41. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>
- Yta, A.G., Rouse, D.B., Davis, D., 2004. Influence of Nursery Period on the Growth and Survival of *Litopenaeus vannamei* Under Pond Production Conditions. *J. World Aquac. Soc.* 35, 357–365. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00099.x>
- Decamp, O., L. Conquest, I. Forster & A.G.J Tacon. 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: role of eukaryotic microorganisms. In: Lee, C.S. & P O'Bryen (eds.). *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Chap. 5: 79-86.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G., Tacon, A.G.J., 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero-water exchange culture systems.
- Decamp, O., Warren, A., Sanchez, R., 1999. The Role Of Ciliated Protozoa In Subsurface Flow Wetlands And Their Potential As Bioindicators. *Water Sci. Technol.* 40, 91–98. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00444-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00444-8)
- Decamp, O.E., Ootshi, C.A., Moss, S.M., 2006. Protozoans and meiofauna inhabiting a bead filter: A preliminary investigation of their role as potential bioindicators of shrimp production system health. *J. World Aquac. Soc.* 37, 481–489. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00061.x>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic , autotrophic , and heterotrophic removal of ammonia – nitrogen in aquaculture systems 257, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

- Timmons MB, Ebeling JM. 2010. Recirculating Aquaculture, 2nd edition. Cayuga Aqua Ventures, Ithaca, NY. <http://www.bee.cornell.edu/aquain18/11/2010>. p. 998.
- Eaton, D. E., L. S. Clesceri, and A. E. Greenberg, editors. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th Edition. Publication Office, American Public Health Association, Washington D.C., USA.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). Aquac. Res. 43, 447–457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02848.x>
- Esparza-Leal, H.M., López-Álvarez, E.S., Ponce-Palafox, J.T., Melendrez-Soto, J.A., Medina-Astorga, M.A., Luna-González, A., Valenzuela-Quiñónez, W., Álvarez-Ruiz, P., Rodríguez-Quiroz, G., 2017. Effect of light limitation on the water quality, bacterial counts and performance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared with biofloc at low salinity. Aquac. Res. 48, 4371–4379. <https://doi.org/10.1111/are.13260>
- Fernandes Da Silva, C., Ballester, E., Monserrat, J., Geracitano, L., Wasielesky, W., Abreu, P.C., 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: Protein and lipid contents. Aquac. Nutr. 14, 507–514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00556.x>
- Lise Maria Mendes Holanda de Melo Ferreira, 2008. Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do camarão-branco *Litopenaeus vannamei* .
- Fugimura, M.M.S., Flor, H.R., Wasielesky, W., Oshiro, L.M.Y., 2015. Criação do camarão *Litopenaeus schmitti* com diferentes salinidades e níveis de proteína na dieta em sistema de bioflocos. Bol. do Inst. Pesca 41, 865–876.
- Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. Aquaculture 321, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.034>
- Furtado, P.S., Valenzuela, M.A.J., Badillo, M.A., Gaxiola, G., Wasielesky, W., 2016. Effect of dissolved carbon dioxide on oxygen consumption in the Pacific white

- shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). Mar. Freshw. Behav. Physiol. 49, 337–346. <https://doi.org/10.1080/10236244.2016.1213568>
- Gaona, C.A.P., Poersch, L.H., Krummenauer, D., Foes, G.K., Wasielesky, W.J., 2011. The Effect of Solids Removal on Water Quality, Growth and Survival of *Litopenaeus vannamei* in a Biofloc Technology Culture System. Int. J. Recirc. Aquac. 12, 54–73. <https://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1354>
- Gaona, C.A.P., Serra, F. da P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2016. Biofloc management with different flow rates for solids removal in the *Litopenaeus vannamei* BFT culture system. Aquac. Int. 24, 1263–1275. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-9983-2>
- Gardner, C., Maguire, G.B., 1998. Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). Aquaculture 165, 51–63. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00245-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00245-2)
- Godoy, L.C. de, 2008. Dissertação - Desempenho do camarão-branco *Litopenaeus vannamei* cultivado em meio de diatomáceas ou flocos microbianos com mínima troca de água 1–66.
- Guerra-Santos, B., López-Olmeda, J.F., de Mattos, B.O., Baião, A.B., Pereira, D.S.P., Sánchez-Vázquez, F.J., Cerqueira, R.B., Albinati, R.C.B., Fortes-Silva, R., 2017. Synchronization to light and mealtime of daily rhythms of locomotor activity, plasma glucose and digestive enzymes in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comp. Biochem. Physiol. -Part A Mol. Integr. Physiol. 204, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.11.006>
- Guerrero, M.A., Jones, R.D., 1996. Photoinhibition of marine nitrifying bacteria. I. Wavelength-dependent response. Mar. Ecol. Prog. Ser. 141, 183–192. <https://doi.org/10.3354/meps141183>
- Guo, B., Wang, F., Dong, S., Zhong, D., 2012. Effect of fluctuating light intensity on molting frequency and growth of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 330–333, 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.017>
- Ju, Z.Y.; Forster, I.; Conquest, L.; Dominy, W. 2008 Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. Aquaculture Research, 39(2): 118-133

- Hargreaves, J. A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 4503.
- Hobbie, J.E., Daley, R.J., Jasper, S., 1977. Use of nucleopore filter counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 1225–1228. <https://doi.org/citeulike-article-id:4408959>
- Hoppenrath, F.J.R.T.M., Saldarriaga, J.F., 2008. Dino X agellate diversity and distribution 1 C 407–418. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9258-3>
- Hostins, B., Lara, G., Decamp, O., Cesar, D.E., Wasielesky, W., 2017. Efficiency and variations in bacterial density in the gut of *Litopenaeus vannamei* reared in a BFT system and in clear water supplemented with a commercial probiotic mixture. *Aquaculture* 480, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.036>
- Irigoien, X. E Castel, J. 1997 Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: The Gironde (SW France).
- Jory, D.E., Cabrera, T.R., Dugger, D.M., Fegan, D., Lee, P.G., Lawrence, L., Jackson, C.J., McIntosh, R.P., Castañeda, J., International, B., Park, H.A., Hwy, N.O.D., Pierce, F., 2001. A Global Review of Shrimp Feed Management : Status and Perspectives. *Aquaculture* 104–152.
- Kirk, K.R., 2010. Modeling microbial and nutrient dynamics in zero-discharge aquaculture systems.
- Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., Wasielesky, W., 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *litopenaeus vannamei*, in BFT system. *J. World Aquac. Soc.* 45, 3–14. <https://doi.org/10.1111/jwas.12093>
- Lara, G., Hostins, B., Bezerra, A., Poersch, L., Wasielesky, W., 2017a. The effects of different feeding rates and re-feeding of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc culture system. *Aquac. Eng.* 77, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.02.003>
- Lara, G., Krummenauer, D., Abreu, P.C., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2017b. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. *Aquac. Int.* 25, 147–162. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0019-8>
- Lin, Y.C., Chen, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259, 109–119.

- Lin, Y.C., Chen, J.C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 224, 193–201.
- Lourenço, S.O.; Marques Júnior, A.N. Produção primária marinha. In Pereira, C.P.; Soares-Gomes, A. (Org.) *Biologia Marinha*. – 2º Ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009.
- Loureiro, C.K., Wasielesky Jr, W., Abreu, P.C., 2012. the Use of Protozoan, Rotifers and Nematodes As Live Food for Shrimp Raised in Bft System. *Atlântica* 34, 5–12. <https://doi.org/10.5088/atl.2012.34.1.5>
- Maicá, P.F., de Borba, M.R., Wasielesky, W., 2012. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquac. Res.* 43, 361–370. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02838.x>
- Neal, R.S., Coyle, S.D., Tidwell, J.H., Boudreau, B.M., 2010. Evaluation of Stocking Density and Light Level on the Growth and Survival of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Reared in Zero-Exchange Systems 41, 533–544.
- Tacon, Agj, Jj Cody, Ld Conquest, S Divakaran, Ip Forster & Oe Decamp. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutr.*, 8: 121-137.
- Pontes, C.S., 2006. Padrão de deslocamento do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) nas fases clara e escura ao longo de 24 horas. *Rev. Bras. Zool.* 23, 223–227. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752006000100015>
- Pontes, C.S., Arruda, M.D.F., 2005. Acesso ao alimento artificial e enchimento do trato digestivo de juvenis do artificial trato digestivo juvenis camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustacea, Decapoda) nas fases clara e escura do período de 24 horas durante fases cl 22, 1039–1043.
- Prangnell, D.I., Castro, L.F., Ali, A.S., Browdy, C.L., Zimba, P. V., Laramore, S.E., Samocha, T.M., 2016. Some Limiting Factors in Superintensive Production of Juvenile Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in No-water-exchange, Biofloc-dominated Systems. *J. World Aquac. Soc.* 47, 396–413. <https://doi.org/10.1111/jwas.12275>
- Ray, A.J., Seaborn, G., Lef, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010.

- Characterization of microbial communities in minimal-exchange , intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management 310, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.019>
- Rocha, A.F. Da, Abreu, P.C., Wasielesky, W., Tesser, M.B., 2012. Avaliação Da Formação De Bioflocos Na Criação De Juvenis De Tainha Mugil Cf. Hospes Sem Renovação De Água. *Atlântica* 34, 63–74. <https://doi.org/10.5088/atl.2012.34.1.63>
- Samocha, T.M., Prangnell, D.I., Hanson, T.R., Treece, G.D., Morris, T.C., Castro, L.F., Staresinic, N., 2017. No Title. Samocha, TM, DI Prangnell, TR Hanson, GD Treece, TC Morris, LF Castro & N Staresinic. 2017. Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* – The Texas A&M AgriLife.
- Silva, A.F., Lara, G.R., Ballester, E.C., Krumennauer, D., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2013. Efeito das altas densidades de estocagem no crescimento e sobrevivência de *litopenaeus vannamei* na fase final de engorda, cultivados em sistemas de bioflocos (bft). *Cienc. Anim. Bras.* 14, 279–287. <https://doi.org/10.5216/cab.v14i3.10.419>
- Smayda, T.J., 2002. Turbulence, watermass stratification and harmful algal blooms: An alternative view and frontal zones as “pelagic seed banks.” *Harmful Algae* 1, 95–112. [https://doi.org/10.1016/S1568-9883\(02\)00010-0](https://doi.org/10.1016/S1568-9883(02)00010-0)
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. A Pract. Handb. seawater Anal. 167, 185. <https://doi.org/10.1002/iroh.19700550118>
- Tacon, a G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Water* 8, 121–137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x>
- Taylor Fjr, M Hoppenrath & Jf Saldarriaga. 2008. Dinoflagellate diversity and distribution. *Biodivers Conserv.*, 17: 407–418.
- Unesco, 1983. Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring 53.
- Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Int. Vereinigung für Theor. und Angew. Limnol. Kom. für Limnol. Methoden* 9, 1–39.
- Van Wyk, P., Scarpa, J., 1999. Water Quality Requeriments and Management. In: Van

- Wyk, P., et al. (Eds.), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, pp. 141–162.
- Wang, F., Dong, S., Dong, S., Huang, G., Zhu, C., Mu, Y., 2004. The effect of light intensity on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. Aquaculture. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.024>
- Wasielesky, W., Abreu, P.C., Poersch, L.H., Thompson, F., Ballester, E.L.C., 2012. Influence of light intensity on biofilm formation and the performance of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* juveniles reared in cages. Aquac. Res. 43, 706–712. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02878.x>
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 258, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>
- Welschmeyer, N.A., 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. Limnol. Oceanogr. 39, 1985–1992. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.8.1985>
- Yun, H., Shahkar, E., Katya, K., Jang, I.K., Kim, S. kyoung, Bai, S.C., 2016. Effects of bioflocs on dietary protein requirement in juvenile whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Res. 47, 3203–3214. <https://doi.org/10.1111/are.12772>
- Zhang, K., Pan, L., Chen, W., Wang, C., 2017. Effect of using sodium bicarbonate to adjust the pH to different levels on water quality , the growth and the immune response of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks 1194–1208. <https://doi.org/10.1111/are.12961>
- Zar, JH. 2010. Biostatistical Analysis. Upper Saddle River: Prentice.