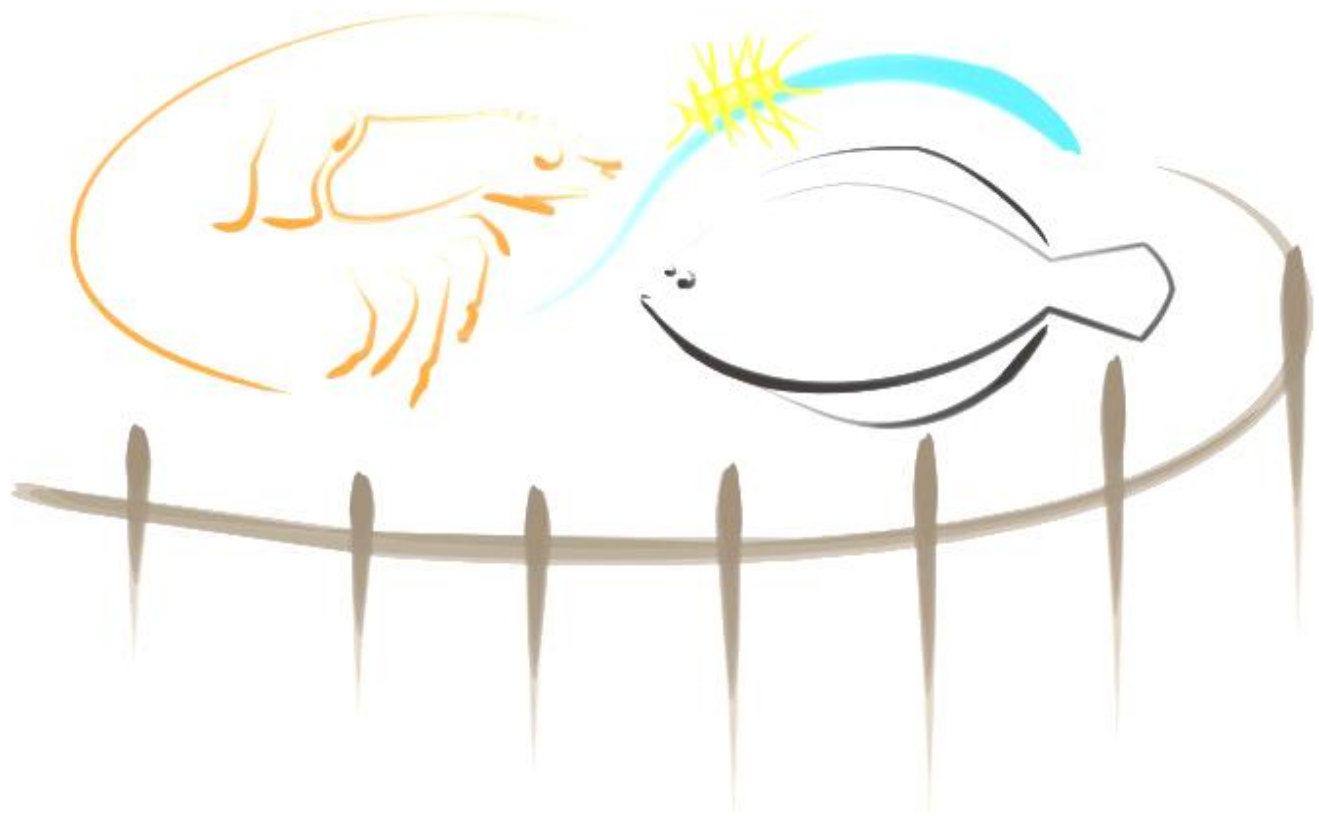


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**Influência das Baixas Salinidades na Composição Microbiana
e no Desempenho de Juvenis de *Litopenaeus vannamei*
Cultivados em Sistema Super-Intensivo
sem Renovação de Água**

PAULA FRAGA MAICÁ

Rio Grande / RS

2009

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

Influência das Baixas Salinidades na Composição Microbiana e
no Desempenho de Juvenis de *Litopenaeus vannamei* Cultivados
em Sistema Super-Intensivo sem Renovação de Água

PAULA FRAGA MAICÁ

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maude Regina de Borba

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

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

Rio Grande / RS

Março 2009

Índice

Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	viii
1. Introdução	10
2. Objetivos	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. Material e métodos	15
3.1. Local e instalações	15
3.2. Material biológico e aclimação	15
3.3. Meio de cultivo	16
3.4. Protocolo experimental	16
3.5. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água	17
3.6. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo	18
3.7. Composição centesimal dos flocos microbianos e dos ingredientes da fertilização orgânica	18
3.8. Parâmetros indicadores de desempenho	18
3.9. Análises estatísticas	19
4. Resultados	20
4.1. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água	20
4.2. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo	22
4.3. Composição centesimal dos flocos microbianos e dos ingredientes da fertilização orgânica	27
4.4. Desempenho dos camarões	27
5. Discussão	30
5.1. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água	30
5.2. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo	37
5.3. Composição centesimal dos flocos microbianos	39
5.4. Desempenho dos camarões	41
6. Conclusões	47
7. Referências bibliográficas	48

Aos Meus Pais Gentil e Eloísa...

Dedico

Agradecimentos

Agradeço aos meus amados pais pela eterna dedicação e confiança. Por sempre me incentivarem e acreditarem em mim, muito mais do que eu mesma, e por me amarem incondicionalmente...

Ao Rafael Finkler com especial e imenso carinho. Admirável a possibilidade de, em apenas um só ser, reunirem-se os mais raros e preciosos atributos que uma pessoa seja capaz de possuir... Pelo privilégio de lhe ter ao meu lado durante estes anos... lhe agradeço, minha alma gêmea...

A Prof.^a Dr.^a Maude Regina de Borba agradeço pela orientação e constante disposição.

Ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr. agradeço pela co-orientação e importantes sugestões para o desenvolvimento do presente estudo.

Ao Prof. Dr. Paulo César Abreu e ao Prof. Dr. Luís Vinaterra Arana agradeço pelo aceite de participação na banca examinadora.

Aos amigos do Laboratório agradeço pela convivência e colaboração...
Eduardo Ballester, Mineiro, Charles, Dariano, Diana, Ângela, Linamara, Gusta, Léa Carolina, Luigi, Tati, Sandro, Klebinho, Okamoto, Leandro, Márcio (Chicleto), Plínio, Vivi, Cris, Ricardo, Jezinho, Kassio, Sabrina, Getúlio, Adriana, Geraldão, Gabi, Eduardo (Talibã), Diogão, Hermes, Pita, Santa Casa...

Ao CNPq agradeço pelo auxílio financeiro.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram com minha formação, não apenas profissional, mas humana...

Muito Obrigada!

Resumo

Considerados ambientalmente amigáveis, devido ao mínimo uso de água e emissão de efluentes, os sistemas de produção realizados sem renovação de água apresentam as vantagens adicionais da possibilidade do cultivo de camarões marinhos distante da valorizada região costeira e próximo aos centros de consumo, bem como de complementação da dieta dos animais por meio de sua característica comunidade microbiana. O camarão *Litopenaeus vannamei*, devido ao crescimento acelerado e tolerância a grande amplitude de salinidades, representa uma espécie de interesse para cultivo em tais sistemas de produção. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da salinidade na qualidade da água, na composição microbiana e no desempenho de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema sem renovação de água. O sistema experimental foi montado no interior de uma estufa, sendo constituído por 16 tanques circulares ($0,36\text{m}^2$ de área de fundo) com volume útil de 163L. Grupos de 110 camarões, com peso médio inicial de $0,24 \pm 0,08\text{g}$, foram aleatoriamente distribuídos nas unidades experimentais (300 camarões/ m^2) e cultivados durante 40 dias em diferentes salinidades (0, 2, 4 e 25‰) com quatro repetições por tratamento. Anteriormente a estocagem, ao longo de 10 dias os camarões foram devidamente aclimatados às diferentes salinidades. A alimentação (dieta comercial - 42,5% PB) foi realizada com auxílio de bandejas, duas vezes ao dia, em uma taxa inicial de 8% da biomassa em cada tanque e, posteriormente, ajustada conforme o consumo observado. Os parâmetros físicos, químicos e biológicos da água (temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, alcalinidade, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, sólidos suspensos totais e clorofila *a*) foram monitorados periodicamente. A comunidade microbiana presente nas diferentes salinidades foi caracterizada e analisada quanto a sua composição centesimal. O desempenho dos animais (peso final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, biomassa final, consumo alimentar total individual, conversão alimentar e sobrevivência) foi avaliado. A maioria dos parâmetros de qualidade de água não foi significativamente influenciada pela salinidade, exceto a concentração de sólidos suspensos totais e o pH. Apesar das diferenças não significativas ($P>0,05$), foi observada tendência de intensificação do processo de nitrificação com a elevação da salinidade, sendo obtidos valores mais baixos de amônia e mais altos de nitrito e nitrato na salinidade mais elevada (25‰). Foi verificada tendência de redução na concentração de ciliados e elevação na concentração de flagelados com o aumento da salinidade. As

microalgas foram predominantemente representadas pelas diatomáceas na salinidade mais elevada e pelas clorofíceas nas salinidades reduzidas. O percentual de proteína bruta nos flocos microbianos diminuiu conforme a elevação da salinidade, enquanto que o teor de cinzas apresentou comportamento inverso. A sobrevivência, o peso final, a biomassa final e o consumo alimentar total individual foram positivamente influenciados pelo aumento da salinidade ($P < 0,05$). Os demais parâmetros de desempenho, apesar de também apresentarem tendência de melhora com o aumento da salinidade, não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). No presente estudo, os melhores resultados foram obtidos com juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema sem renovação de água na salinidade 25‰, contudo, índices satisfatórios de produtividade também foram verificados na salinidade 4‰, sugerindo a viabilidade de realização do cultivo em baixa salinidade.

Abstract

Considered environmentally friendly, due to minimal water use and effluents emission, the production systems performed without water exchange present the additional advantages of the possibility of rearing marine shrimp far from the valued coastal zone and close to consumption centers, as well as supplementation of the animals diet through their characteristic microbial community. The shrimp *Litopenaeus vannamei*, due to accelerated growth and tolerance to a wide range of salinities, represents a species of interest to rearing in such production systems. In this context, the objective of this study was to evaluate the influence of salinity on water quality, microbial composition and performance of *L. vannamei* juveniles reared in system without water exchange. The experimental system was installed inside a greenhouse and consisted of 16 circular tanks (bottom area of 0.36m²) with useful volume of 163L. Groups of 110 shrimps, with initial mean weight of 0.24 ± 0.08 g, were randomly distributed in the experimental units (300 shrimps/m²) and reared during 40 days at different salinities (0, 2, 4 and 25‰) with four replicates each treatment. Prior to the stocking, during 10 days the shrimps were properly acclimated to the different salinities. The feeding (commercial diet - 42.5% CP) was performed through feeding trays, twice daily, in an initial rate of 8% of the biomass in each tank with posterior adjustments according to the observed consumption. The physical, chemical and biological water parameters (temperature, dissolved oxygen, salinity, pH, alkalinity, ammonia, nitrite, nitrate, phosphate, total suspended solids and chlorophyll *a*) were monitored periodically. The microbial community present in the different salinities was characterized and analyzed as its proximate composition. The animals performance (final weight, weight gain, specific growth rate, final biomass, total individual feed consumption, feed conversion and survival) was evaluated. The most of the water quality parameters was not significantly influenced by salinity, except for total suspended solids concentration and pH. Despite no significant differences ($P>0.05$), it was observed a tendency of intensification on the nitrification process according to salinity increase, and lower values of ammonia and higher values of nitrite and nitrate were obtained at the highest salinity (25‰). It was verified a tendency of reduction on ciliates concentration and increase on flagellates concentration according to salinity increase. The microalgae were predominantly represented by diatoms in the highest salinity and by chlorophytes in lower salinities. The crude protein percentage in

microbial flocs reduced according to salinity increase, whereas the ash content showed inverse tendency. Survival, final weight, final biomass and total individual feed consumption were positively influenced by salinity increase ($P<0.05$). The others performance parameters, although also tended to improve with increasing salinity, did not differ among treatments ($P>0.05$). In the present study, better results were obtained with *L. vannamei* juveniles reared in system without water exchange at salinity 25‰; however, satisfactory productivity was also verified at salinity 4‰, suggesting the viability of implementation the culture at low salinity.

1. Introdução

A aquicultura segue se expandindo mais rapidamente do que qualquer outro setor de produção de alimentos de origem animal. No período compreendido entre 1970 e 2004, sua taxa de crescimento mundial foi de 8,8% ao ano, enquanto que a pesca de captura e os sistemas terrestres de produção de carne aumentaram apenas 1,2% e 2,8%, respectivamente. Em 2004, os camarões atingiram a representatividade de 16,5% do valor total de produtos pesqueiros comercializados internacionalmente, com mais de 41% (2,5 milhões de toneladas) de sua produção total sendo proveniente de cultivos (FAO 2007).

O camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* é o peneídeo mais amplamente produzido no hemisfério Ocidental (Saoud *et al.* 2003), onde seu cultivo em águas interiores tem tornado-se muito freqüente (Roy *et al.* 2006a). Devido à sua habilidade em manter a regulação osmótica em diversos gradientes salinos, esta espécie apresenta capacidade de habitar águas com salinidades desde 0,5‰ até 40‰ (Bray *et al.* 1994, Saoud *et al.* 2003). Juvenis de *L. vannamei* são cultivados com sucesso em salinidades desde 5‰ até 35‰ (Bray *et al.* 1994, Ponce-Palafox *et al.* 1997), sendo a faixa de salinidade entre 15‰ e 25‰ considerada ideal para a sua criação (Vinatea 2004).

As excelentes características zootécnicas e a ampla tolerância do *L. vannamei* às diferentes salinidades, aliada à expansão dos cultivos em águas interiores salinas, tornaram esta espécie atrativa para a aquicultura em diversos países americanos (McGraw *et al.* 2002), Tailândia (Saoud *et al.* 2003), Israel (Boyd 2001) e China (Cheng *et al.* 2006). Os cultivos continentais de camarões marinhos, em áreas onde exista a disponibilidade de águas com baixas salinidades ou mesmo em águas doces, são de grande interesse e têm motivado o desenvolvimento de numerosos estudos envolvendo a criação do camarão *L. vannamei* em ambientes de salinidades reduzidas (Laramore *et al.* 2001, McGraw *et al.* 2002, Davis *et al.* 2002, Saoud *et al.* 2003, Gross *et al.* 2004, Cheng *et al.* 2005, 2006, Roy *et al.* 2007a, b, Li *et al.* 2007, Perez-Velazquez *et al.* 2007, Flores *et al.* 2007, Araneda *et al.* 2008).

A produção de camarões marinhos em águas interiores apresenta maior viabilidade econômica em comparação aos cultivos realizados em zonas costeiras, devido, principalmente, ao elevado custo da terra e ao rigor da legislação de proteção ambiental existente no litoral (Atwood *et al.* 2003). Moya *et al.* (1999) destacam que a

tolerância do *L. vannamei* às baixas salinidades permite a instalação de fazendas de cultivo distante de águas costeiras potencialmente contaminadas. Deste modo, o risco da ocorrência de enfermidades é reduzido, como no caso da necrose hepatopancreática, cujo desenvolvimento é dependente de águas com salinidades acima de 20‰ (Frelie *et al.* 1995). Além disso, os cultivos realizados em baixas salinidades apresentam a vantagem da maior facilidade de tratamento dos efluentes (Dinçer & Kargi 2001), bem como, da possibilidade de utilização destes em produções agrícolas (Brown & Glenn 1999).

Entretanto, salinidades reduzidas podem afetar negativamente a fisiologia dos camarões e os parâmetros de qualidade de água, conforme relatado por Jiang *et al.* (2000), os quais verificaram menores taxas de excreção de amônia por *L. vannamei* mantidos na salinidade 25‰, em relação às taxas observadas nas salinidades 10‰ ou 40‰. Em contraste, Decamp *et al.* (2003), realizando experimento com juvenis de mesma espécie em sistema de cultivo sem renovação de água em salinidades 9, 18 e 36‰, mencionam que a salinidade da água não causa impacto significativo no ambiente de cultivo, quer seja diretamente, através da atividade de nitrificação das bactérias, ou indiretamente, pela retenção ou excreção de nitrogênio pelos camarões.

Estudos demonstram que as taxas de sobrevivência de camarões marinhos submetidos às baixas salinidades são influenciadas por diversos fatores, tais como espécie, salinidade final de aclimação, taxa de redução da salinidade, idade da pós-larva e composição iônica da água (Samocha *et al.* 1998, Tsuzuki *et al.* 2000, Davis *et al.* 2002, McGraw *et al.* 2002, Cheng *et al.* 2006). Decamp *et al.* (2003), por sua vez, verificaram que embora a sobrevivência de juvenis de *L. vannamei* não tenha sido afetada pelo decréscimo da salinidade da água (36 - 9‰), o crescimento dos animais foi significativamente reduzido.

Nos últimos anos, a crescente preocupação em relação ao impacto ambiental ocasionado pelas fazendas de cultivo de camarões marinhos em áreas costeiras, juntamente à incidência de enfermidades, conduziu ao desenvolvimento de sistemas de produção de camarões marinhos utilizando renovações de água mínimas ou ausentes (Hopkins *et al.* 1995). A contenção da água dentro destes sistemas impede a potencial disseminação de doenças entre as populações selvagens e os animais cultivados, assim como evita a poluição e a deterioração de ecossistemas adjacentes pelos efluentes da produção (Naylor *et al.* 1998, Wasielesky *et al.* 2006). Ainda, o cultivo de camarões sem renovação de água permite a desassociação das zonas de gerenciamento costeiro

(McNeil 2000) possibilitando, desta forma, a maior proximidade dos mercados consumidores (Tallamy & Moss 2006). Neste contexto, os sistemas intensivos de produção denominados ZEAH (*Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems*), ou seja, sistemas de cultivo sem renovação de água, através de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica, são considerados ambientalmente amigáveis e economicamente interessantes (Wasielesky *et al.* 2006). Assim, estudos vêm sendo realizados visando a possibilidade de cultivo do camarão *L. vannamei* em sistemas de produção com renovação de água mínima ou ausente e sob baixas salinidades (Decamp *et al.* 2003, Gonzáles-Félix *et al.* 2007, Perez-Velazquez *et al.* 2008).

Além da realização de cultivos com renovação de água reduzida em viveiros, novos métodos de produção, utilizando sistemas de recirculação no interior de estufas, têm sido abordados em pesquisas (Browdy & Moss 2005). Dentre as principais vantagens destes sistemas, encontram-se a capacidade de obtenção de grandes produtividades devido às altas densidades de estocagem tipicamente utilizadas (> 300 camarões/m²) e à possibilidade de cultivo durante todo o ano mesmo em regiões de baixas temperaturas (McNeil 2000, Wasielesky *et al.* 2006). Adicionalmente, a elevada produtividade natural favorecida durante o ciclo de produção nos sistemas intensivos ZEAH, freqüentemente denominada de flocos ou agregados microbianos, pode atuar como fonte dietética suplementar aos organismos cultivados (McIntosh *et al.* 2000, Bratvold & Browdy 2001, Moss *et al.* 2001, Samocha *et al.* 2001, Weirich *et al.* 2002, Burford *et al.* 2003). Deste modo, torna-se possível a utilização de rações mais custo-efetivas, devido à redução da concentração protéica e, conseqüentemente, do componente farinha de peixe (Wasielesky *et al.* 2006, Ballester *et al.* 2009, no prelo).

Os flocos microbianos são constituídos por uma ampla variedade de organismos, tais como bactérias, protozoários, metazoários, rotíferos e microalgas, além de fezes e restos de organismos mortos, entre outros, predominando uma biota aeróbica e heterotrófica (Schryver *et al.* 2008). Entretanto, para efetivamente se beneficiar da produtividade natural formada nestes sistemas, a espécie destinada ao cultivo deve ser capaz de utilizar os flocos como fonte alimentar, obtendo-se, assim, melhor aproveitamento dos nutrientes presentes no meio e maior incorporação de nitrogênio no tecido animal (McNeil 2000). As espécies detritívoras, indicadas para utilização nestes sistemas, incluem camarões peneídeos (*L. vannamei*, *L. stylirostris* e *Penaeus esculentus*), tilápias (*Oreochromis* sp.), carpas (Cyprinidae) e tainhas (*Mugil* sp.)

(McNeil 2000). Burford *et al.* (2004) relataram que até 29% do alimento consumido pelo camarão *L. vannamei* pode ser proveniente dos flocos microbianos.

Nos sistemas intensivos ZEAH, a predominância não é representada pela espécie cultivada, mas sim pela comunidade microbiana presente nestes ambientes, a qual possui funções importantes, tais como ciclagem de nutrientes e manutenção da qualidade de água do cultivo (McNeil 2000, Wasielesky *et al.* 2006). O acúmulo de formas tóxicas de nitrogênio inorgânico, como amônia e nitrito, representa um dos maiores problemas de qualidade de água em sistemas intensivos de produção (Ostrensky & Wasielesky 1995). Segundo Samocha *et al.* (2007), a adição de fontes de carbono orgânico, como o melaço, pode ser utilizada como ferramenta de prevenção ao aumento das concentrações de nitrogênio amoniacal total e de nitrito durante o cultivo de *L. vannamei* em sistemas com renovação de água reduzida ou ausente. O balanço de mistura carbono e nitrogênio (C:N) na proporção de aproximadamente 20:1 favorece a pronta assimilação destes compostos pelas bactérias que possuem capacidade de síntese protéica a partir de carbono orgânico e amônia (Avnimelech 1999; Chamberlain *et al.* 2001).

Conforme Tallamy & Moss (2006), em sistemas de recirculação a comunidade microbiana sofre alterações em termos de biomassa e de função ao longo do cultivo, desde a estocagem até o final do ciclo de produção. Adicionalmente, enquanto alguns estudos demonstram que fatores abióticos, como a salinidade da água, podem exercer efeito sobre a dinâmica do nitrogênio nestes sistemas (Nijhof & Bovendeur 1990, Chen *et al.* 2006), outros não evidenciam tal influência (Decamp *et al.* 2003). Desta forma, visando o desenvolvimento sustentável e lucrativo da carcinicultura, é de grande importância a realização de pesquisas que busquem o conhecimento das implicações relacionadas ao cultivo do camarão marinho *L. vannamei* em sistemas super-intensivos sem renovação de água sob baixas salinidades, abrangendo aspectos relacionados à qualidade de água, à composição dos flocos microbianos e ao desempenho dos camarões.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da redução da salinidade no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a influência da salinidade sobre a qualidade de água do cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água;
- Avaliar a composição microbiana presente no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água em diferentes salinidades;
- Avaliar a influência da salinidade sobre o desempenho de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema super-intensivo sem renovação de água.

3. Material e métodos

3.1. Local e instalações

O experimento foi conduzido durante o período de abril a maio de 2008 nas instalações da Estação Marinha de Aquacultura “Prof. Marcos Alberto Marchiori” - EMA, pertencente à Universidade Federal do Rio Grande, localizada na Praia do Cassino, Município de Rio Grande / RS.

O sistema experimental foi montado no interior de uma estufa, sendo constituído por 16 tanques circulares de polietileno de cor cinza, com área de fundo de 0,36m² e volume útil de 163L. Estruturas circulares, feitas com mangueira cristal de ½” e encaixe de pedras porosas alimentadas por um soprador de ar, foram dispostas nas unidades experimentais objetivando-se prover oxigenação contínua e intensa da água e suspensão dos flocos microbianos na coluna d’água.

3.2. Material biológico e aclimação

As pós-larvas (PL) de *Litopenaeus vannamei*, no estágio de PL10, foram adquiridas do laboratório comercial Aquatec - Larvicultura de Camarões Marinhos, localizado no Município de Canguaretama / RN, e mantidas no setor de Larvicultura da EMA (28°C e 30‰), sendo alimentadas com ração comercial e náuplios de *Artemia* sp. durante 44 dias, anteriormente ao período de aclimação às diferentes salinidades experimentais. Para a aclimação, os animais foram dispostos em tanques quadrados pretos de polietileno, com 0,50m² de área de fundo e 150L de volume útil, contendo água do mar (30‰), nos quais procederam-se reduções de 5‰ a cada 24h (Ponce-Palafox *et al.* 1997) até que fosse atingida a salinidade 5‰ e, posteriormente, de 2‰ a cada 24h (Li *et al.* 2007) até que alcançada a salinidade 0‰. As salinidades experimentais foram obtidas por meio da diluição de água marinha, bombeada da praia do Cassino e previamente filtrada através de filtro de areia, com água doce proveniente de um curso de água natural. Anteriormente ao uso no processo de aclimação, a água doce coletada passava por uma seqüência de tratamentos físicos e químicos envolvendo filtragem em filtro cuno (5µm), cloração (15mL cloro/1000L) e aplicação de E.D.T.A. (30g/1000L). O período de aclimação teve a duração total de 10 dias, dos quais os últimos 2 dias corresponderam à permanência dos animais na salinidade final desejada,

visando assegurar a completa adaptação às condições experimentais (Decamp *et al.* 2003). Durante a aclimação, os animais foram mantidos sob aeração constante à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e alimentados 4 vezes ao dia em uma proporção inicial de 30% da biomassa (Jory *et al.* 2001) com ajustes de acordo com o consumo observado.

3.3. Meio de cultivo

Inicialmente, as unidades experimentais foram preenchidas com água nas diferentes salinidades, preparadas conforme procedimento descrito quando da aclimação. Posteriormente, foi realizada a inoculação da microalga diatomácea *Thalassiosira weissflogii* em uma concentração aproximada em cada tanque de $2,6 \times 10^4$ células/mL. Após ter sido constatada a fase de crescimento exponencial da microalga, foi efetuada a estocagem dos camarões.

Objetivando-se estimular a formação dos flocos microbianos, durante os três primeiros dias de experimento foi realizada a fertilização orgânica dos tanques, adicionando-se como fontes de carbono o melão de cana-de-açúcar e o farelo de trigo, o qual também atuou como substrato para fixação das bactérias heterotróficas. O cálculo das quantidades adicionadas destes ingredientes foi baseado, inicialmente, na quantidade de ração fornecida diariamente aos camarões, favorecendo-se uma relação C:N de aproximadamente 20:1 (Chamberlain *et al.* 2001, McIntosh 2001). Posteriormente, de acordo com o monitoramento periódico da quantidade de amônia no sistema, sempre que verificada concentração de nitrogênio amoniacal total (N-AT) $\geq 1\text{mg/L}$ efetuava-se a adição de melão de cana-de-açúcar na proporção de 6g de carbono para cada 1g de N-AT (Avnimelech 1999). Todas as fertilizações realizadas durante o experimento foram calculadas considerando-se as composições centesimais dos ingredientes utilizados (Tabela 2).

3.4. Protocolo experimental

Em um delineamento inteiramente casualizado, grupos de 110 juvenis de *L. vannamei* ($300/\text{m}^2$) com peso inicial de $0,24 \pm 0,08\text{g}$, devidamente aclimatados às salinidades 0, 2, 4 e 25‰, foram distribuídos aleatoriamente nas unidades experimentais com quatro repetições por tratamento. Durante os 40 dias de experimento, os camarões foram alimentados com auxílio de bandejas de alimentação duas vezes ao dia (9:00h e

17:00h) com ração comercial (Guabi - PotiMar/38 Active). A taxa inicial de arraçoamento foi de 8% da biomassa total em cada tanque, ajustada posteriormente conforme o consumo observado. Para tanto, todas as manhãs a ração do dia anterior não consumida era removida das bandejas, seca em estufa à 105°C até peso constante e pesada para avaliação do consumo e determinação da quantidade de ração a ser fornecida na refeição seguinte. O percentual de lixiviação da matéria seca da ração foi verificado para posterior quantificação do consumo alimentar dos camarões. Assim, uma quantidade conhecida de ração foi colocada nas bandejas de alimentação e depositada nos tanques, em duplicata, sob as mesmas condições experimentais utilizadas, porém sem a presença dos camarões. Após 12h, a ração foi recolhida das bandejas, seca em estufa à 105°C até peso constante e o percentual de lixiviação calculado pela diferença de peso antes e após a permanência nos tanques.

3.5. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água

Diariamente foram monitorados a temperatura, o oxigênio dissolvido (O_2D) e o pH da água dos tanques, com auxílio dos aparelhos Oxímetro Oxi 315i/WTW e pHmetro pH 315i/WTW, respectivamente. Para evitar a queda acentuada da temperatura da água, aquecedores Precision Aquarium Heater/SERA - 300W foram instalados nas unidades experimentais a partir do 11º dia de experimento. A cada três dias foram verificadas a salinidade e a alcalinidade da água, por meio do aparelho Salt Refractometer w/ATC - Sper Scientific e do kit Teste de Alcalinidade - HidroAll do Brasil, respectivamente. Também a cada três dias foram coletadas amostras para determinação das concentrações de nitrogênio amoniacal total ($N-NH_3 + N-NH_4^+$) pelo método UNESCO (1983) e de nitrito ($N-NO_2^-$), nitrato ($N-NO_3^-$) e ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$) de acordo com metodologias descritas por Aminot e Chaussepied (1983). Com a mesma periodicidade efetuou-se a avaliação da concentração de sólidos suspensos totais (SST), seguindo o método de gravimetria de volatilização adaptado de Strickland e Parsons (1972). Para tanto, micro filtros de fibra de vidro (GF/50-A $47 \pm 0,5mm$), previamente secos e pesados, foram utilizados na filtração de um volume de amostra conhecido (100 - 150mL), sendo posteriormente levados à estufa (60°C) durante 12h e então pesados em balança analítica. A determinação da concentração de clorofila *a* nas diferentes salinidades foi realizada a cada 7 dias procedendo-se a filtragem de 10mL de amostra de cada unidade experimental através de filtros de microfibras de vidro (GF/F - 25mm). A

extração do pigmento fotossintético ocorreu em acetona 90% (Merck® PA), no escuro e à -18°C durante 24h, para posterior determinação da concentração de clorofila *a* por fluorimetria (Strickland & Parsons 1972) através das equações propostas por Jeffrey & Humphrey (1975).

3.6. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo

As amostras destinadas à quantificação e à caracterização da comunidade microbiana presente nas diferentes salinidades foram coletadas em cada unidade experimental a cada 7 dias e armazenadas em frascos âmbar (30mL de volume útil) contendo solução de formol 4%. A análise do material foi realizada no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos da FURG, para a qual sub-amostras de 2,1mL foram colocadas em câmara de sedimentação para caracterização e quantificação dos microorganismos (30 campos/câmara) com auxílio de microscópio invertido Olympus IX51. As imagens digitais dos microorganismos foram capturadas com auxílio de uma câmera SPOT Insight QE acoplada a um microscópio invertido Zeiss Axiovert.

3.7. Composição centesimal dos flocos microbianos, ração e ingredientes da fertilização orgânica

Os ingredientes utilizados na fertilização orgânica (farelo de trigo e melaço de cana-de-açúcar), a ração e os flocos microbianos coletados ao final do experimento, pela filtragem com o auxílio de uma malha de 100µm, tiveram suas composições centesimais determinadas (AOAC 1984).

3.8. Parâmetros indicadores de desempenho

Uma amostra aleatória de 20 camarões de cada unidade experimental foi individualmente pesada e posteriormente devolvida aos tanques de origem no início, aos 20 e 30 dias e no final do experimento, quando todos os camarões foram quantificados.

O desempenho dos juvenis de *L. vannamei* submetidos às diferentes salinidades foi avaliado de acordo com os seguintes parâmetros:

- Sobrevivência (%) = $100 \times (\text{n}^\circ \text{ final camarões} / \text{n}^\circ \text{ inicial camarões})$
- Peso final (g)
- Ganho em peso (g) = peso final (g) - peso inicial (g)
- Taxa de crescimento específico (%) = $100 \times (\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso inicial (g)}) / \text{tempo em dias}$
- Biomassa final (g) = $\text{n}^\circ \text{ final camarões} \times \text{peso final (g)}$
- Consumo alimentar total individual (g) = $\sum \text{consumo diário de ração (MS)} / \text{camarão}$
- Conversão alimentar = $\text{consumo de ração (MS)} / \text{ganho em peso (g)}$

3.9. Análises estatísticas

Os parâmetros de qualidade de água e de desempenho dos animais nos diferentes tratamentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA - uma via) considerando-se as premissas necessárias para a sua aplicação. Quando detectada diferença significativa entre os tratamentos, o teste de Tukey de separação de médias foi aplicado ($P < 0,05$). Os valores em percentagem sofreram transformação arco-seno da raiz quadrada para serem analisados. Nos casos em que os dados não satisfizeram as premissas para aplicação da ANOVA foi utilizada a transformação das variáveis por meio de um fator constante. Quando mesmo assim as premissas não puderam ser cumpridas foi realizada a análise de variância (ANOVA - uma via) Kruskal-Wallis. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa STATISTICA 6.0.

4. Resultados

4.1. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água

Os valores médios das variáveis físicas, químicas e biológicas mensuradas durante o período experimental estão apresentados na Tabela 1. Os dados referentes à salinidade 0‰ foram coletados somente até o 26º dia de experimento, quando a mortalidade dos camarões atingiu 100% e, desta forma, não foram incluídos nas análises estatísticas. A concentração de O₂D e a temperatura da água não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos, no entanto, o valor médio de pH obtido na salinidade 25‰ foi significativamente inferior ($P<0,05$) ao das demais salinidades. As concentrações de SST diferiram significativamente ($P<0,05$) entre os tratamentos, sendo a maior média registrada na salinidade 25‰, seguida pelas salinidades 4 e 2‰. Similarmente, embora as diferenças não tenham sido significativas ($P>0,05$), a alcalinidade (mg/L CaCO₃) e a concentração de Chl *a* apresentaram tendência de aumento com a elevação da salinidade. Em relação aos compostos nitrogenados, apesar de as maiores concentrações médias de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ terem sido verificadas na salinidade 25‰, não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,05$). As concentrações de N-AT e P-PO₄³⁻ também não diferiram significativamente ($P>0,05$) entre as salinidades testadas. As progressões das concentrações de N-AT, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, P-PO₄³⁻, SST e Chl *a* registradas ao longo do experimento podem ser visualizadas nas Figuras 1 e 2.

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água do cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades durante 40 dias^{1,2}.

Parâmetros	0‰ ³	2‰	4‰	25‰
Temperatura a.m. (°C)	21,53 ± 0,74	22,64 ± 0,30	22,71 ± 0,36	23,01 ± 0,49
Temperatura p.m. (°C)	23,69 ± 0,46	24,27 ± 0,19	24,29 ± 0,26	24,38 ± 0,42
O ₂ D a.m. (mg/L)	7,88 ± 0,15	7,55 ± 0,13	7,56 ± 0,07	7,45 ± 0,07
O ₂ D p.m. (mg/L)	7,31 ± 0,08	7,06 ± 0,03	7,09 ± 0,08	7,01 ± 0,06
pH	8,58 ± 0,27	8,24 ± 0,03 ^a	8,25 ± 0,04 ^a	8,05 ± 0,06 ^b
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	152 ± 0,94	160 ± 2,10	159 ± 0,63	171 ± 1,41
SST (mg/L)	55,15 ± 12,04	151,06 ± 25,61 ^c	198,22 ± 17,56 ^b	256,00 ± 12,71 ^a
Chl <i>a</i> (µg/L) ⁴	19,15 ± 0,59	37,61 ± 4,35	61,33 ± 15,78	116,15 ± 43,13
N-AT (mg/L)	1,36 ± 0,11	1,70 ± 0,16	1,75 ± 0,17	1,29 ± 0,33
N-NO ₂ ⁻ (mg/L) ⁴	0,40 ± 0,07	1,67 ± 0,43	0,64 ± 0,23	1,76 ± 0,70
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,21 ± 0,28	2,51 ± 1,20	1,43 ± 0,92	4,21 ± 3,02
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,40 ± 0,04	0,46 ± 0,11	0,37 ± 0,05	0,36 ± 0,05

¹Valores correspondentes à média de 4 repetições $\pm$ desvio padrão.

²Linhas com letras diferentes sobrescritas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

³Variáveis mensuradas até o 26º dia de experimento, não incluídas nas análises estatísticas.

⁴Aplicada análise de variância (ANOVA - uma via) Kruskal-Wallis.

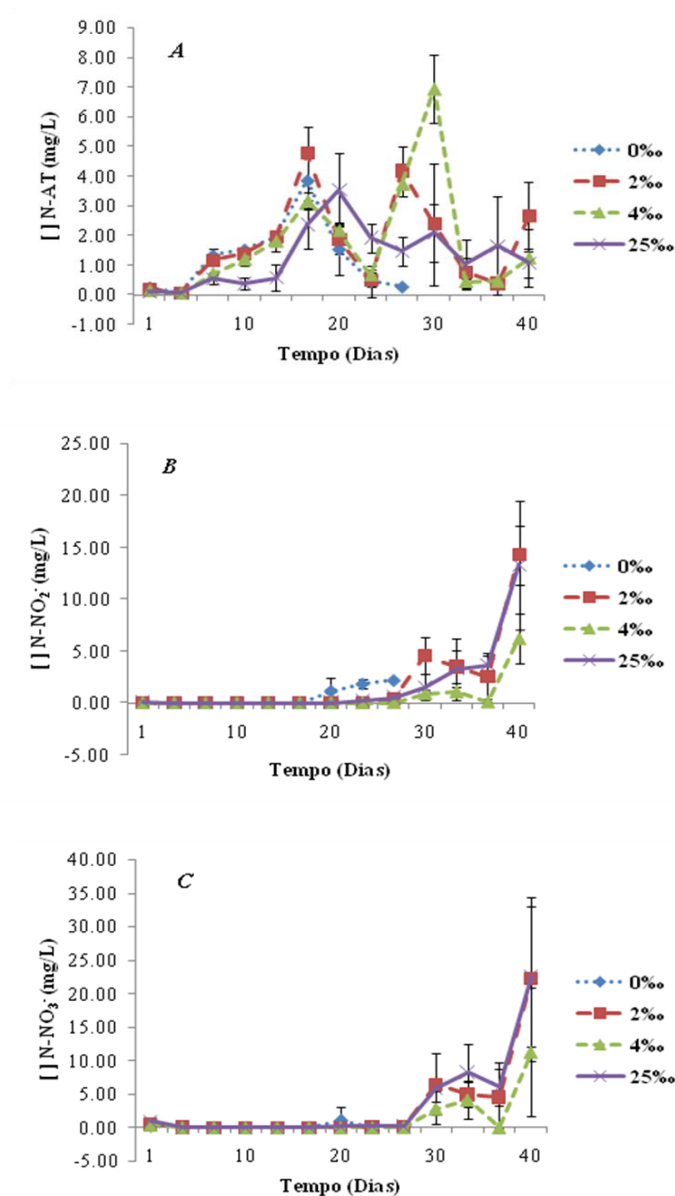


Figura 1. Concentrações médias de N-AT (A), NO₂⁻ (B) e NO₃⁻ (C) na água do cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades durante 40 dias.

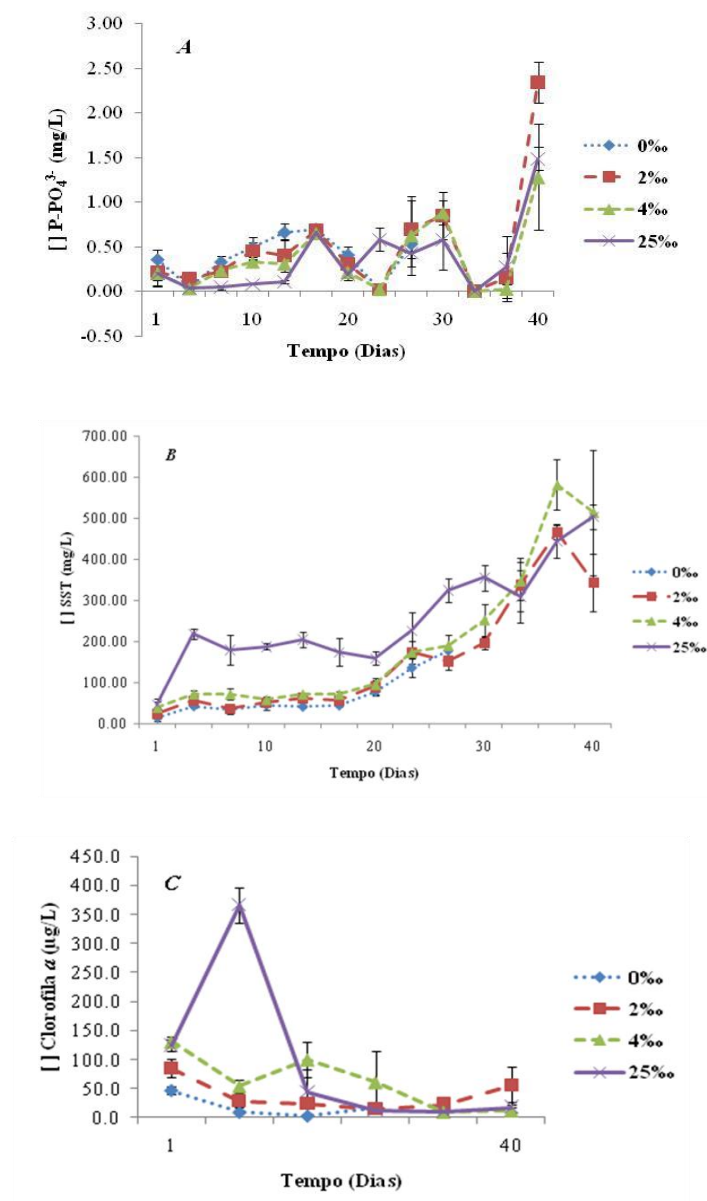


Figura 2. Concentrações médias de $P-PO_4^{3-}$ (D), SST (E) e Chl a (F) na água do cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades durante 40 dias.

4.2. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo

Como pode ser visualizado na Figura 3, os protistas autotróficos foram representados em sua totalidade por microalgas pertencentes ao grupo das diatomáceas e à classe das clorófitas. As microalgas clorófitas predominaram nas salinidades 2‰ e 4‰, enquanto que, na salinidade 25‰, as microalgas diatomáceas foram encontradas em maior abundância. As fotomicrografias das microalgas presentes nas salinidades experimentais podem ser visualizadas nas Figuras 4 e 5.

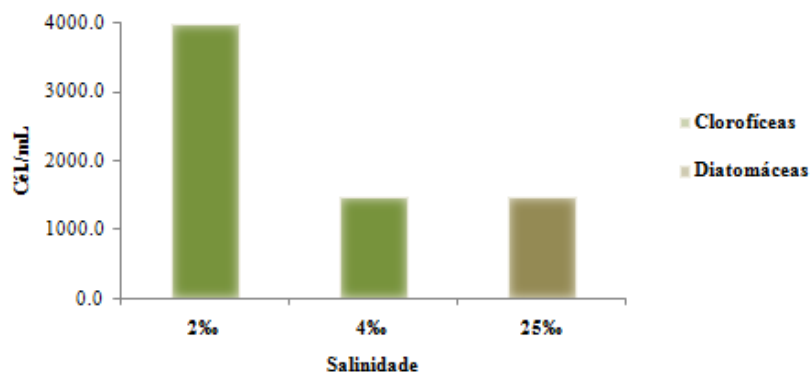


Figura 3. Concentração de microalgas clorofíceas e diatomáceas na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades.

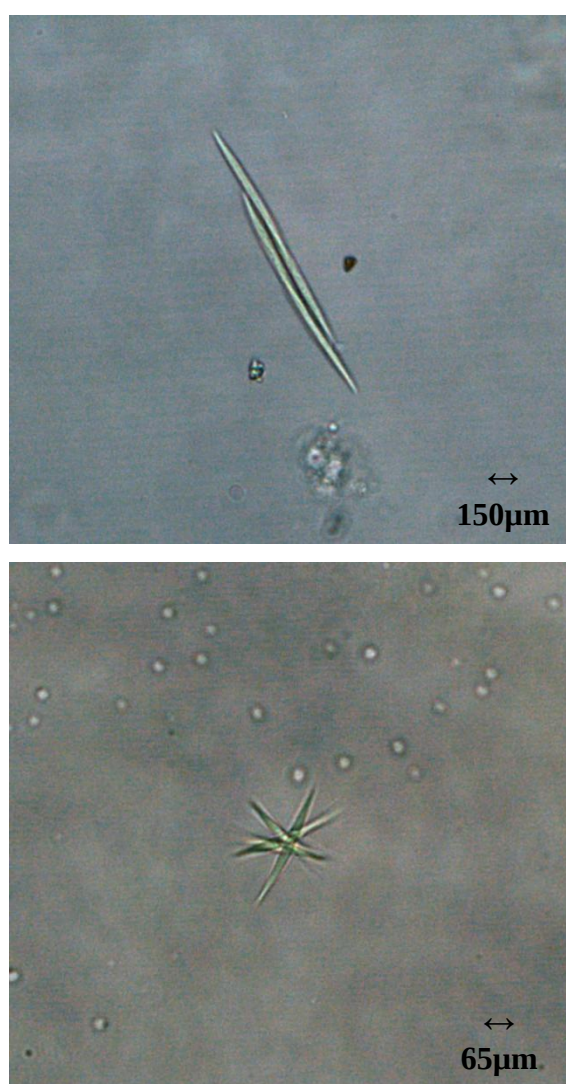


Figura 4. Microalgas clorofíceas presentes na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob as salinidades 2‰ e 4‰ (40 x).

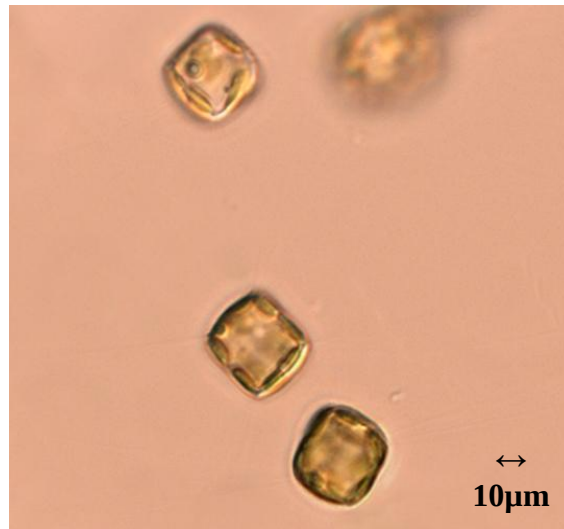
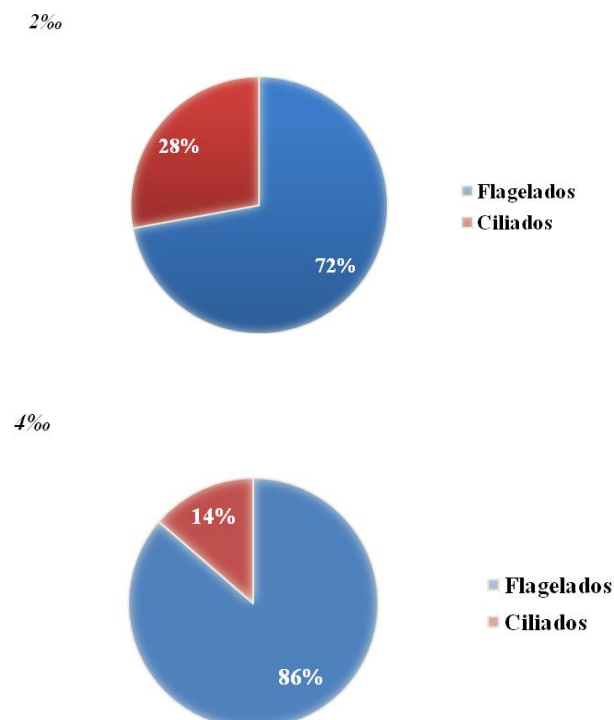


Figura 5. Microalga diatomácea presente na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob a salinidade 25‰ (40 x).

Em relação às concentrações de protistas heterotróficos, os protozoários flagelados foram dominantes na salinidade 25‰, enquanto que nas salinidades 2 e 4‰, os protozoários ciliados foram verificados em maiores concentrações (Figura 6). Na Figura 7 estão demonstradas a concentração e a sucessão dos protistas heterotróficos nas diferentes salinidades avaliadas. As fotomicrografias dos ciliados e dos flagelados presentes nas salinidades experimentais podem ser visualizadas nas Figuras 8 e 9.



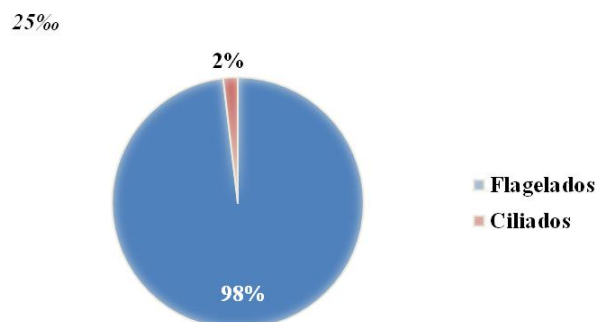


Figura 6. Contribuição percentual média de protozoários ciliados e flagelados na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades.

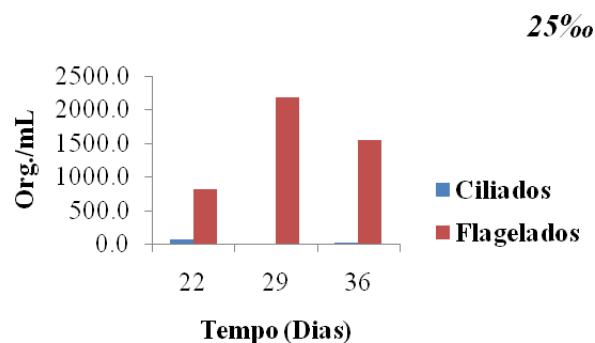
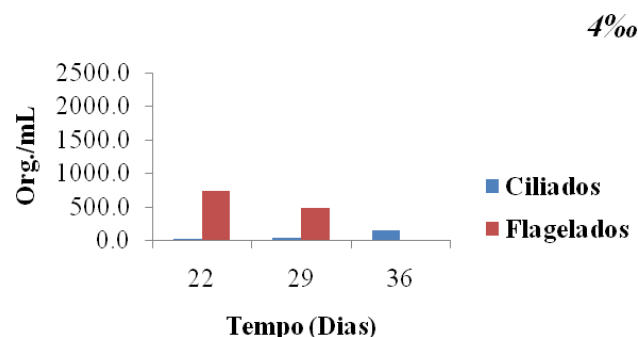
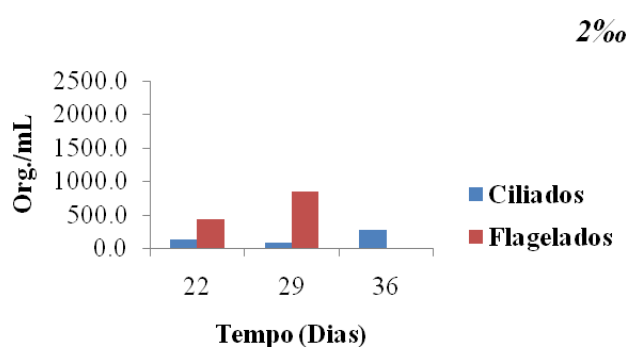


Figura 7. Concentração e sucessão de protistas heterotróficos registradas na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades.



Figura 8. Ciliados presentes na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades (40 x).



Figura 9. Flagelado presente na água de cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades (20 x).

4.3. Composição centesimal dos flocos microbianos, ração e ingredientes da fertilização orgânica

Os resultados das análises de composição centesimal dos flocos microbianos obtidos ao final do período experimental, da ração e dos ingredientes utilizados na fertilização orgânica estão expressos na Tabela 2.

As quantidades de proteína bruta e de lipídio verificadas nos flocos microbianos apresentaram tendência de diminuição conforme o aumento da salinidade. Os conteúdos de matéria seca e cinzas relacionaram-se positivamente com a elevação da salinidade, aumentando da menor para a maior salinidade avaliada, enquanto que o teor de fibra demonstrou tendência contrária, diminuindo com o aumento da salinidade.

Tabela 2. Composição centesimal dos flocos microbianos obtidos nas salinidades 2, 4 e 25‰ ao final de 40 dias, da ração comercial e dos ingredientes utilizados na fertilização orgânica¹.

	<i>Matéria Seca</i>	<i>Proteína¹</i> (%)	<i>Lipídio¹</i>	<i>Cinzas¹</i>	<i>Fibra¹</i>
	<i>Flocos Microbianos²</i>				
2‰	12,04	43,15	3,62	22,12	10,36
4‰	12,11	37,06	2,71	26,73	8,93
25‰	13,88	28,76	2,11	42,19	8,74
	<i>Ingredientes</i>				
Ração comercial	89,68	42,47	9,43	14,76	4,18
Farelo de trigo	81,46	19,15	1,06	6,37	14,53

¹Valores expressos com base em 100% de matéria seca.

²Realizado *pool* de amostras das repetições de cada salinidade para análise.

4.4. Desempenho dos camarões

Os resultados referentes aos parâmetros de desempenho dos juvenis de *L. vannamei* estão apresentados na Tabela 3. A sobrevivência diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos, tendo sido o melhor resultado obtido na salinidade 25‰. A redução da salinidade refletiu em piora gradativa da sobrevivência ao longo do período experimental. Na salinidade 0‰ as mortalidades tiveram início aos 19 dias de experimento e ao final de 26 dias a perda já era total. Na salinidade 2‰, apesar de as mortalidades terem iniciado somente a partir do 31º dia, ao final dos 40 dias de experimento a sobrevivência foi bastante reduzida (22,5%) e significativamente inferior às verificadas nas salinidades 4‰ (72,7%) e 25‰ (97,5%).

Os pesos finais dos animais mantidos nas salinidades 2 e 4‰ não diferiram entre si e foram significativamente ($P<0,05$) inferiores aos no tratamento 25‰. Embora não tenha havido diferença significativa entre os tratamentos ($P>0,05$) também foi observada tendência de melhora no ganho em peso e na taxa de crescimento específico dos juvenis de *L. vannamei* cultivados na salinidade 25‰. A biomassa final obtida foi positivamente influenciada pelo aumento da salinidade, sendo os melhores resultados verificados na salinidade 25‰ ($P<0,05$). O peso médio individual e a biomassa média dos camarões registrados ao longo do experimento encontram-se graficamente apresentados na Figura 10.

Os consumos alimentares verificados nas salinidades 4 e 25‰ não diferiram entre si e foram significativamente ($P<0,05$) superiores ao observado na salinidade 2‰. Em relação à conversão alimentar, embora não detectada diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos, a menor, portanto melhor, conversão alimentar foi obtida na salinidade 25‰.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades durante 40 dias^{1,2}.

Parâmetros	2‰	4‰	25‰
Sobrevivência (%)	22,50 ± 31,71 ^c	72,73 ± 16,63 ^b	97,50 ± 2,02 ^a
Peso final (g)	1,87 ± 0,07 ^b	1,94 ± 0,07 ^b	2,06 ± 0,12 ^a
Ganho em peso (g)	1,63 ± 0,07	1,70 ± 0,07	1,82 ± 0,12
Taxa de crescimento específico (%)	5,13 ± 0,10	5,23 ± 0,09	5,37 ± 0,15
Biomassa final (g)	91,25 ± 61,16 ^b	154,61 ± 31,06 ^{ab}	220,53 ± 13,90 ^a
Consumo total individual (g)	1,40 ± 0,02 ^b	1,48 ± 0,02 ^a	1,46 ± 0,02 ^a
Conversão alimentar	0,86 ± 0,02	0,87 ± 0,03	0,81 ± 0,05

¹Peso médio inicial: 0,24g ± 0,08.

²Valores correspondentes a média de 4 repetições ± desvio padrão. Linhas com letras diferentes sobrescritas indicam diferenças significativas ($P<0,05$).

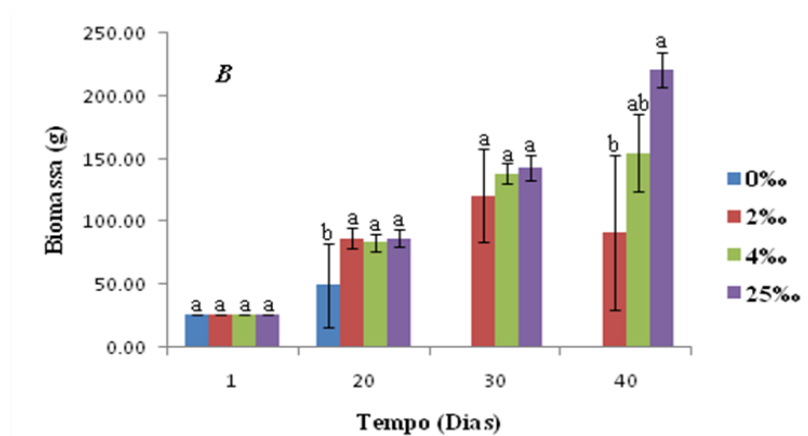
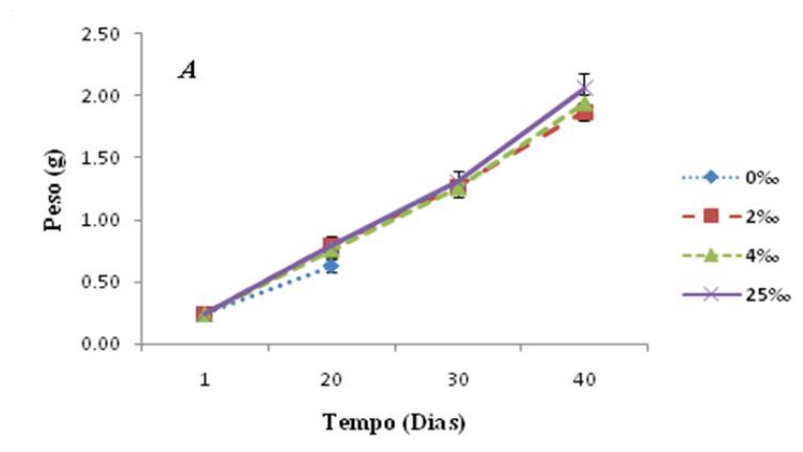


Figura 10. Peso médio individual (A) e biomassa média (B) de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema super-intensivo sem renovação de água sob diferentes salinidades durante 40 dias.

5. Discussão

5.1. Parâmetros físicos, químicos e biológicos da água

A temperatura da água afeta diretamente o metabolismo dos camarões marinhos, estando índices importantes, como de consumo alimentar e de crescimento, intimamente relacionados a este parâmetro ambiental (Van Wyk & Scarpa 1999).

Embora o camarão *L. vannamei* seja capaz de sobreviver em temperaturas abaixo de 24°C e acima de 32°C, quando fora desta faixa estes organismos ficam estressados e não crescem satisfatoriamente. O intervalo de temperatura para o máximo crescimento desta espécie é ainda mais estreito, variando entre 28 e 32°C (Ponce-Palafox *et al.* 1997, Van Wyk & Scarpa 1999). Wyban *et al.* (1995) verificaram menores taxas de crescimento de juvenis de *L. vannamei* mantidos em 23°C em comparação aos animais cultivados em 27 e 30°C. No presente estudo, a queda de temperatura ocorrida durante o período experimental, devido ao início do outono, foi amenizada pelo fato deste ter sido conduzido no interior de uma estufa e pela instalação de aquecedores nas unidades experimentais. Ainda assim, os valores médios de temperatura registrados ao longo do experimento ficaram abaixo da faixa de 24 a 32°C considerada adequada para a espécie, desfavorecendo a expressão do máximo potencial de crescimento pelos camarões.

Em sistemas de cultivo sem renovação de água, além da demanda de oxigênio por parte dos camarões, ocorrem demandas adicionais de oxigênio pelos flocos microbianos, respiração do fitoplâncton e constante oxidação da matéria orgânica, o que conduz à necessidade de altos níveis de aeração (Tacon *et al.* 2002, Burford *et al.* 2003, Emerenciano *et al.* 2007). Desta forma, maiores custos são gerados para o suprimento de oxigênio nestes sistemas, em relação aos cultivos realizados em água clara (Kuhn *et al.* 2008). De acordo com Van Wyk & Scarpa (1999), o suprimento reduzido de oxigênio dissolvido no ambiente de cultivo limita a habilidade dos camarões em metabolizar o alimento, ocasionando prejuízos nas taxas de crescimento e conversão alimentar. No presente estudo, a concentração de oxigênio dissolvido apresentou leve tendência de redução conforme a elevação da salinidade, todavia as diferenças não foram significativas e os valores observados mantiveram-se dentro da faixa recomendada de 5,0 à 9,0mg/L para o cultivo da espécie (Van Wyk & Scarpa 1999).

Os camarões marinhos apresentam capacidade de tolerar faixas de pH entre 7,0 e 9,0. Entretanto, ambientes demasiadamente ácidos (pH inferior a 6,5) ou básicos (pH superior a 10,0) podem ser nocivos às brânquias destes animais, ocasionando supressão do crescimento (Van Wyk & Scarpa 1999). No presente estudo, embora verificadas diferenças significativas entre as salinidades, os valores médios de pH permaneceram dentro da faixa aceitável (7,0 - 9,0) para o cultivo da espécie (Van Wyk & Scarpa 1999), tendo sido a menor média (8,0) observada na maior salinidade avaliada. Resultados semelhantes foram relatados por Decamp *et al.* (2003) no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema sem renovação de água, os quais verificaram valores de pH significativamente mais baixos na salinidade 36‰, em comparação aos obtidos em 18 e 9‰, o que foi atribuído à maior atividade fotossintética observada nos tratamentos de menor salinidade. González-Félix *et al.* (2007), também em cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema sem renovação de água sob baixa salinidade (4,6‰), verificaram valores de pH semelhantes aos obtidos nas menores salinidades avaliadas no presente estudo.

De acordo com Van Wyk & Scarpa (1999), o pH da água sofre grande influência dos processos respiratórios e fotossintéticos que ocorrem no ambiente de cultivo, os quais podem refletir, respectivamente, em redução ou elevação deste parâmetro. Em sistemas de cultivo sem renovação de água, a produção de oxigênio pela fotossíntese possui menor representatividade em relação às quantidades de CO₂ geradas pela respiração das bactérias e dos camarões, o que resulta na redução do pH do meio (McIntosh 2001). Wasielesky *et al.* (2006) registraram médias de pH de 7,8 e 7,6 no cultivo de juvenis de *L. vannamei* realizado, respectivamente, em água clara e em meio aos flocos microbianos, atribuindo os menores valores à respiração dos microrganismos heterotróficos. Além disto, Boyd (2007) menciona que os processos de nitrificação realizados pelas bactérias em cultivos intensivos com recirculação, não apenas consomem o oxigênio dissolvido na água, como podem rapidamente ocasionar declínios no pH.

Van Wyk & Scarpa (1999) destacam que a manutenção da adequada alcalinidade do ambiente de cultivo contribui para a moderação nas alterações de pH decorrentes de processos fotossintéticos e respiratórios. Segundo estes autores, a alcalinidade do meio varia em função da salinidade da água, sendo valores de 116mg/L geralmente encontrados em águas marinhas, enquanto que em águas doces este parâmetro pode variar desde 20 até 300mg/L. No presente estudo, os valores médios de

alcalinidade permaneceram dentro dos níveis recomendados ($\geq 100\text{mg/L CaCO}_3$) para o cultivo de *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa 1999) e, embora não tenham sido verificadas diferenças significativas para este parâmetro entre as salinidades avaliadas, foi observada tendência de aumento conforme a elevação da salinidade.

De acordo com Samocha *et al.* (2007), em sistemas fechados de cultivo, a visualização de camadas de espuma flutuantes na superfície da água, bem como de materiais particulados suspensos, indicam o desenvolvimento de flocos microbianos. A concentração dos flocos microbianos no meio de cultivo sofre variações ao longo do tempo, sendo influenciada por fatores como a sua produção, biodegradação e consumo pelos organismos cultivados. Tais fatores compreendem processos complexos, os quais são dependentes das condições operacionais (taxa de renovação de água, tempo médio de residência dos flocos e intensidade de aeração) e ambientais (temperatura e salinidade) (Avnimelech 2007). Ainda, quanto mais elevada a salinidade da água, maior a agregação das partículas suspensas e o tamanho dos flocos, além de mais rápida a velocidade de decantação (Lars Hakanson 2006). No presente estudo, pela avaliação da concentração de sólidos suspensos totais, foi observado ao longo do período experimental o aumento na densidade dos flocos microbianos, tendo sido as maiores concentrações registradas na salinidade mais elevada. Decamp *et al.* (2003) observaram idêntica evolução deste parâmetro, com as maiores concentrações de SST também verificadas na maior salinidade avaliada (36‰). Avnimelech (2007), por sua vez, utilizando água de baixa salinidade (3‰) proveniente de viveiros sob sistema de renovação mínima de água em cultivo de juvenis de Tilápia *Oreochromis mossambicus*, observou concentrações elevadas de sólidos suspensos totais (643mg/L), superiores às obtidas por Decamp *et al.* (2003) e no presente estudo.

Para a quantificação das comunidades de microalgas existentes em ambientes de cultivo comumente são utilizadas medições das concentrações de Chl *a*, devido à sua presença na totalidade dos grupos fitoplancctônicos (Ju *et al.* 2008). Entretanto, existem grupos de fitoplâncton que apresentam demais tipos de pigmentações específicas, como Chl *c* e fucoxantina, em microalgas diatomáceas, e Chl *b* e luteína, em microalgas clorofíceas (Descy *et al.* 2000). Ju *et al.* (2008), utilizando a técnica de biomarcadores, observaram concentrações elevadas de Chl *b* e luteína nos flocos microbianos provenientes do cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistemas com renovação de água reduzida e salinidade 5‰, nos quais a predominância foi de microalgas clorofíceas. Enquanto que nos flocos desenvolvidos na salinidade 32‰ a predominância foi de

microalgas diatomáceas e concentrações elevadas de Chl *c* e fucoxantina foram verificadas.

Assim como relatado por Ju *et al.* (2008) em cultivos realizados nas salinidades 5 e 32‰, no presente estudo, embora as concentrações de Chl *a* não tenham diferido significativamente entre as salinidades avaliadas, observou-se clara tendência de diminuição desta variável com a redução da salinidade. Todavia, tendo em vista que na menor salinidade testada foram verificadas as maiores concentrações de microalgas e predominância de clorofíceas, os resultados da análise de Chl *a* provavelmente subestimaram a concentração de fitoplâncton presente no meio, devido ao pigmento mais abundante nestas microalgas ser a Chl *b* e não a Chl *a* (Ju *et al.* 2008). Já na salinidade 25‰, foi verificada menor concentração de microalgas em comparação à salinidade 2‰, entretanto o valor médio da concentração de Chl *a* foi maior. Este resultado pode ser em parte explicado pelo fato de logo no início do experimento ter ocorrido um pico de Chl *a* na salinidade 25‰, sugerindo que as condições do meio favoreceram o crescimento acelerado das microalgas. Assim, apesar do declínio acentuado deste parâmetro nas medições seguintes, o valor médio da concentração de Chl *a* permaneceu mais elevado nesta salinidade. A microalga inoculada nos tanques ao início do experimento (*T. weissflogii*) é uma espécie eurialina e apresenta capacidade de aclimação às variações de salinidade (Radchenko & Il'yash 2005). Todavia, demonstra crescimento acelerado em salinidades elevadas ($\approx 30\text{‰}$) (Montagnes *et al.* 1994) e característicos *blooms* e *crashes* ao longo do ciclo de produção em sistemas de aquicultura (Moss & Pruder 1995) o que pôde ser claramente observado na maior salinidade testada.

Em contraste aos resultados verificados por Ju *et al.* (2008) e no presente estudo, Decamp *et al.* (2003) registraram elevação nas concentrações de Chl *a* conforme a redução da salinidade (36 - 9‰), tendo sido os maiores valores médios observados na menor salinidade testada. Entretanto, González-Félix *et al.* (2007), utilizando sistema sem renovação de água no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em salinidade aproximada de 4,6‰, observaram valores de Chl *a* próximos a zero, sugerindo o limitado desenvolvimento do fitoplâncton em baixa salinidade. Ainda, de acordo com Santos (2003), a salinidade da água igualmente exerce influência sobre as concentrações de Chl *a* em biofilmes. Ballester (2004), avaliando os efeitos da utilização do biofilme no cultivo de juvenis de *Farfantepenaeus paulensis*, mencionam que as quedas nos valores

médios de Chl *a* verificadas podem ter sido decorrentes da redução na salinidade do ambiente de cultivo.

Decamp *et al.* (2007) e Godoy *et al.* (2009, submetido), utilizando água marinha no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistemas de cultivo sem renovação de água, relataram elevadas concentrações de Chl *a* (373 - 509µg/L e 343µg/L, respectivamente). No presente estudo, a concentração média de Chl *a* registrada na mais elevada salinidade avaliada (116µg/L) foi menor do que nos trabalhos mencionados, entretanto, encontra-se de acordo com os observados em sistemas de cultivo de recirculação com mínima troca de água em meio aos flocos microbianos (Weirich *et al.* 2003) e em sistemas de cultivo em viveiros (Burford *et al.* 2004).

As menores concentrações de amônia foram registradas na salinidade mais elevada testada, entretanto, as diferenças não foram significativas. Em contraste, Sowers *et al.* (2006) observaram maiores níveis desta substância nos ambientes de mais alta salinidade (20‰), em comparação às verificadas em menor salinidade (2‰). As concentrações de amônia registradas nas diferentes salinidades avaliadas estiveram abaixo dos níveis de segurança determinados por Lin & Chen (2001) para o cultivo de juvenis de *L. vannamei* em salinidades 15, 25 e 35‰ (2,44, 3,55 e 3,95mg/L, respectivamente). Entretanto, tendo em vista que as salinidades 0, 2 e 4‰ testadas no presente estudo foram muito inferiores à menor salinidade analisada pelos referidos pesquisadores, é possível que as concentrações de amônia atingidas nestas baixas salinidades tenham sido tóxicas aos camarões, refletindo em redução significativa das taxas de sobrevivência. Decamp *et al.* (2007) mencionam que juvenis de *L. vannamei* apresentam elevada tolerância à amônia, em relação às demais espécies, contudo, sua susceptibilidade à toxicidade desta substância aumenta em ambientes de baixas salinidades (Li *et al.* 2007). De acordo com Perez-Velazquez *et al.* (2008), o estresse osmorregulatório ocasionado nos animais mantidos em águas de baixas salinidades, juntamente a concentrações elevadas de compostos nitrogenados no meio de cultivo, podem resultar em índices insatisfatórios de sobrevivência.

Ainda, diversos estudos demonstram a relação inversa existente entre a salinidade do ambiente e as taxas de excreção de amônia de camarões peneídeos (Jiang *et al.* 2000, Gómez-Jiménez *et al.* 2005, Perez-Velazquez *et al.* 2008). González-Félix *et al.* (2007) explicam que em meios hipo-osmóticos, juvenis de *L. vannamei* demonstram mecanismo hiper-regulatório, o que ocasiona aumento nas taxas de excreção desta substância. Entretanto, Jiang *et al.* (2000) observaram as menores taxas

de excreção de amônia, por juvenis de mesma espécie, na salinidade intermediária avaliada (10, 25 e 40‰). Estes autores sugerem que a elevação nas taxas metabólicas destes animais ocorre em função do desvio da salinidade a partir de seu ponto iso-osmótico, o qual encontra-se entre 24,7 e 26‰ (Castille & Lawrence 1981).

Conforme verificado no presente estudo, Decamp *et al.* (2003) mencionam que em cultivos realizados sob sistema sem renovação de água, a dinâmica do nitrogênio parece não ser significativamente impactada pela salinidade da água. Estes pesquisadores sugerem que as variações nas concentrações dos compostos nitrogenados, observadas em diferentes salinidades, refletem apenas o acúmulo de nitrogênio em um sistema de cultivo realizado sem renovação de água. Nestes sistemas, as concentrações crescentes de amônia e nitrito são resultantes, respectivamente, do metabolismo da proteína e amonificação microbiana do nitrogênio orgânico e da atividade de bactérias amônio-oxidantes nos estágios finais de produção. Entretanto, estudos indicam que a salinidade do ambiente representa um dos principais fatores que influenciam o desenvolvimento de bactérias heterotróficas e os processos de nitrificação (Timmons *et al.* 2002 *apud* Ebeling *et al.* 2006).

Nos sistemas intensivos de produção, o acúmulo de compostos nitrogenados tóxicos representa considerável problema (Ostrensky & Wasielesky 1995). Avnimelech (1999) sugere que a adição de fontes de carbono orgânico no ambiente de cultivo, visando manter uma relação C:N de aproximadamente 20:1, possibilita maior absorção do nitrogênio presente na água pelos microorganismos, favorecendo a rápida oxidação da amônia tóxica e do nitrito à nitrato (Tallamy & Moss 2006, Boyd 2007), bem como propicia a síntese de proteína microbiana. Diversos estudos demonstraram concentrações reduzidas de amônia e de nitrito no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistemas intensivos sem renovação de água (McIntosh *et al.* 2000, Burford *et al.* 2004, Wasielesky *et al.* 2006, Kuhn *et al.* 2008).

No presente estudo, as maiores concentrações de nitrito foram verificadas na maior salinidade testada, porém, as diferenças entre as salinidades experimentais não foram significativas. Da mesma forma, Laramore *et al.* (2001), Decamp *et al.* (2003) e Sowers *et al.* (2006) observaram concentrações de nitrito estatisticamente iguais entre as salinidades 0, 2, 4 e 30‰; 9, 18 e 36‰ e 2 e 20‰, respectivamente.

Lin & Chen (2003) demonstraram relação inversa existente entre a salinidade do ambiente e a toxicidade do nitrito em juvenis de *L. vannamei*, destacando que a susceptibilidade à toxicidade desta substância aumenta quando os animais são expostos

a condições hipo-osmóticas. Os valores médios de nitrito verificados no presente estudo excederam as concentrações seguras determinadas para o cultivo de juvenis de *L. vannamei* em águas marinhas ($\leq 1\text{mg/L}$) e em águas com salinidades aproximadas de 2‰ (0,45mg/L) (Van Wyk & Scarpa 1999, Gross *et al.* 2004). Desta forma, é possível que as concentrações de nitrito alcançadas tenham sido um dos principais fatores que contribuíram para as mortalidades verificadas, as quais aumentaram significativamente de acordo com a redução da salinidade. Nas salinidades 0 e 2‰, os primeiros picos de concentração de nitrito no meio ocorreram, respectivamente, por volta do 20° e 30° dia de experimento (Fig. 1b), exatamente quando tiveram início as mortalidades nestas salinidades. Na salinidade 0‰, as concentrações de nitrito foram crescentes a partir do 20° dia, assim como as mortalidades verificadas neste tratamento, as quais atingiram 100% no 26° dia de experimento.

As concentrações de nitrato registradas nas diferentes salinidades experimentais estiveram dentro dos níveis aceitáveis ($\leq 60\text{mg/L}$) para o cultivo de *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa 1999). Esta substância apresentou comportamento idêntico em relação às concentrações de nitrito, ou seja, as maiores concentrações foram verificadas na salinidade mais elevada testada, porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos. O aumento dos níveis de nitrato com a elevação da salinidade também foi verificado em estudos realizados por Decamp *et al.* (2003) e Sowers *et al.* (2006).

Os valores de fosfato observados neste estudo não diferiram significativamente entre as salinidades experimentais. Entretanto, foi constatada tendência de redução em suas concentrações com a elevação da salinidade. Já Decamp *et al.* (2003) verificaram comportamento inverso, no qual as concentrações de fosfato tenderam ao aumento conforme a elevação da salinidade (73,4 - 79,3 μM ; 9 - 36‰, respectivamente). McIntosh *et al.* (2000), por sua vez, relataram concentrações de fosfato muito superiores às registradas no presente estudo (4,7mg/L). Estima-se que apenas 23% do fósforo disponível na ração sejam incorporados em biomassa de camarões *L. vannamei* (Velasco *et al.* 1998). Assim, a decomposição do alimento não ingerido e das excretas dos animais contribui para o incremento das concentrações de fósforo do meio, sendo um dos principais fatores que acarretam na eutrofização do ambiente de cultivo (Peñaflorida 1999, Barak *et al.* 2003).

5.2. Comunidade microbiana presente nos ambientes de cultivo

De acordo com Schryver *et al.* (2008), nos cultivos super-intensivos sem renovação de água ocorre durante o ciclo de produção a formação dos denominados flocos microbianos. Estas estruturas são constituídas por diversos microrganismos, tais como bactérias, protozoários, metazoários, fungos, rotíferos, nematódeos e microalgas, os quais contribuem com a promoção de fonte dietética suplementar aos organismos cultivados e com a manutenção da qualidade de água, por meio da assimilação de compostos nitrogenados potencialmente tóxicos (Tacon 2001).

Nos ambientes de cultivo, a remoção da amônia pode ocorrer por meio das conversões amônia - nitrato, realizada pelas bactérias autotróficas, amônia - biomassa microbiana, realizada pelas bactérias heterotróficas e pela assimilação fotoautotrófica das microalgas (Ebeling *et al.* 2006). Segundo Hargreaves (1997), quando em pequenas concentrações de amônia no meio, as microalgas são mais eficientes na competição por esta substância do que as bactérias nitrificantes. Entretanto, a remoção da amônia do sistema pelas microalgas representa apenas um armazenamento temporário de nitrogênio em forma de proteína celular, visto que, eventualmente, as microalgas morrem e o nitrogênio orgânico presente em suas células sofre mineralização pelas bactérias heterotróficas e reciclagem para o sistema, novamente em forma de amônia (Hargreaves 2006).

Estudos demonstram a existência de competição por substratos entre bactérias e microalgas e a ocorrência de efeitos mutuamente inibitórios, de modo que ambas são capazes de produzir substâncias antagônicas aos seus crescimentos (Hargreaves 1997; 2006). Desta forma, pode-se sugerir que a maior abundância de microalgas observada na menor salinidade testada do presente estudo possa ter desfavorecido o desenvolvimento da comunidade bacteriana do sistema. Em consequência, esta menor formação de flocos microbianos foi refletida em menores concentrações de sólidos suspensos totais e concentrações mais elevadas de amônia.

De acordo com Ju *et al.* (2008), em ambientes de aquíicultura pode ocorrer o desenvolvimento de diversos tipos de microalgas, as quais representam importante fonte alimentar para o zooplâncton e permitem, deste modo, a transferência de seus nutrientes para níveis tróficos mais elevados (Brown *et al.* 1997). Em geral, as microalgas apresentam habilidade de síntese e acúmulo de quantidades significativas de ácidos graxos, entretanto, enquanto que nas espécies marinhas a predominância é de ω 3-PUFA

(EPA e DHA), nas espécies de água doce predominam os ácidos graxos saturados e monosaturados (Patil *et al.* 2007).

No presente estudo, as microalgas observadas nos ambientes de cultivo foram representadas por clorofíceas nas salinidades baixas e diatomáceas na salinidade mais elevada. Da mesma forma, Ju *et al.* (2008) verificaram a presença de comunidades microalgais predominantemente constituídas de clorofíceas nos flocos microbianos formados em salinidade 5‰ e de diatomáceas em salinidade 32‰. As microalgas clorofíceas apresentam rápido crescimento e capacidade de adaptação às baixas salinidades podendo, desta forma, tornarem-se facilmente predominantes em águas doces (Paerl *et al.* 2003). Entretanto, as clorofíceas demonstram menor contribuição nutricional em sistemas de cultivo de camarões, devido à sua ineficiente assimilação, tanto pelo zooplâncton quanto pelos animais cultivados (Boyd 1989). Desta forma, este pode ter sido um dos fatores que resultaram na tendência de piora dos parâmetros de crescimento com a diminuição da salinidade no presente estudo.

Brown *et al.* (1997) relatam, ainda, que enquanto as clorofíceas são deficientes em importantes nutrientes para a nutrição animal, tais como os ácidos graxos poliinsaturados essenciais 20:5 ($n - 3$) e 22:6 ($n - 3$), as diatomáceas são abundantes em ao menos um destes compostos. Todavia, ambas as microalgas apresentam concentrações relativamente elevadas de vitaminas, como riboflavina e ácido ascórbico (Brown *et al.* 1997). As diatomáceas possuem reduzidas quantidades de fibras, o que lhes confere digestão facilitada pelos camarões (Moss 2000). Ainda, este mesmo autor menciona que estas microalgas atuam como fonte suplementar dietética para camarões peneídeos, tanto no ambiente natural como em cultivos, contribuindo, deste modo, para a obtenção de melhores resultados de crescimento, conforme pôde ser observado na salinidade mais elevada testada do presente estudo.

Amplamente distribuídos em ambientes aquáticos naturais e de cultivo, os ciliados, desempenham importantes funções no fluxo energético dos ecossistemas, atuando tanto como predadores de algas, bactérias e fungos, quanto como fonte alimentar para metazoários (Nagano & Decamp 2004). Sua abundância e diversidade representam indicadores de qualidade de água e de dinâmica de ecossistemas (Decamp *et al.* 2007). Além disto, Decamp *et al.* (2001) mencionam que ciliados apresentam elevadas concentrações intracelulares de aminoácidos livres e, assim como os flagelados, representam fontes de ácidos graxos poliinsaturados e esteróis para os camarões.

No presente estudo, conforme verificado por Decamp *et al.* (2003), foi registrada maior abundância de ciliados nas menores salinidades, em relação à observada na maior salinidade avaliada. Pedrós-Alió *et al.* (2000) mencionam a tendência de redução na abundância e na diversidade de determinados microrganismos com a elevação da salinidade da água. A salinidade da água representa o mais importante fator de controle da densidade de ciliados e ocasiona, conforme o seu aumento, intensas reduções na abundância destes (Pedrós-Alió *et al.* 2000, Elloumi *et al.* 2006). Segundo Decamp *et al.* (2003), as variações na abundância de ciliados refletem o impacto da salinidade da água e as interações dinâmicas entre estes microrganismos e suas diversas funções dentro de sistemas de cultivo realizados sem renovação de água, o que também foi verificado neste estudo.

5.3. Composição centesimal dos flocos microbianos

O volume relativamente pequeno das unidades experimentais (163L) impossibilitou a coleta de material suficiente de cada repetição para realização das análises de composição centesimal dos flocos microbianos formados nas diferentes salinidades experimentais. Desta forma, foi necessário realizar *pool* das amostras provenientes de cada salinidade, o que impossibilitou a análise estatística dos dados. Todavia, informações importantes puderam ser verificadas.

Foi observada tendência de elevação do percentual de proteína bruta nos flocos microbianos, de acordo com a redução das salinidades experimentais. Resultados semelhantes foram relatados por Ju *et al.* (2008), os quais cultivando juvenis de *L. vannamei* em sistema com reduzida renovação de água em salinidades de 5, 18 e 32‰, verificaram que os flocos microbianos formados na menor salinidade, na qual existiu a predominância de microalgas clorofíceas, apresentaram maior teor protéico (41,9% PB), em relação aos flocos formados na maior salinidade (26,0% PB), cuja as microalgas predominantes eram diatomáceas.

Os percentuais de proteína bruta dos flocos microbianos formados nas diferentes salinidades avaliadas neste estudo encontram-se próximos aos obtidos por McIntosh *et al.* (2000), Tacon (2000) e Wasielesky *et al.* (2006), os quais reportaram valores de, respectivamente, 43,0, 33,4 e 31,0% PB, utilizando água marinha em sistemas de cultivo sem renovação. Ainda, Ju *et al.* (2008) verificaram percentuais similares de aminoácidos essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina,

fenilalanina, treonina, triptofano e valina), em flocos microbianos provenientes de cultivos realizados em salinidade 5 e 32‰ (52,7 e 53,1%, respectivamente). Estes valores, ao representarem aproximadamente metade do total de aminoácidos existentes nos flocos, sugerem que tais estruturas são capazes de atuar como potenciais fontes suplementares de aminoácidos essenciais para os camarões cultivados. Contudo, as quantidades de determinados aminoácidos essenciais, tais como, lisina, arginina e metionina foram limitantes nos flocos microbianos formados em ambas as salinidades. Os percentuais de arginina foram inferiores nos flocos provenientes do cultivo em maior salinidade (predominância de diatomáceas), todavia, os percentuais de metionina foram inferiores nos flocos provenientes do cultivo em menor salinidade (predominância de clorofíceas).

Assim como observado no presente estudo, Ju *et al.* (2008) verificaram mínima variação em relação aos percentuais de lipídios (1,2 - 2,3%), os quais apresentaram tendência de aumento com a redução da salinidade. Os valores de lipídios demonstrados neste estudo (2,1 - 3,6%) encontram-se abaixo dos obtidos por McIntosh *et al.* (2000) (12,5%) e acima dos verificados por Tacon (2000) e Wasielesky *et al.* (2006) (0,6 e 0,4%, respectivamente).

Chamberlain *et al.* (2001) mencionam que a composição das células microbianas, em flocos suspensos, apresenta ampla variação de acordo com as condições ambientais de cultivo e a presença de microrganismos específicos. Estes pesquisadores sugerem que a composição microbiana pode sofrer manipulações com o intuito de maximizar seu valor nutricional, sendo que, pela manutenção de uma relação C:N superior à 10:1 pode-se favorecer o acúmulo de lipídios em algas e fungos.

No presente estudo, o teor de cinzas dos flocos microbianos apresentou clara tendência de aumento com a elevação da salinidade (22,1 a 42,2%), o que também foi observado em pesquisa realizada por Ju *et al.* (2008), na qual os percentuais variaram de 18,3 a 40,7% (5 a 32‰, respectivamente). O maior percentual de cinzas, registrado na salinidade 25‰, encontra-se próximo ao verificado por Wasielesky *et al.* (2006) (44,8%) no cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema sem renovação de água e salinidade 31,6‰. Já os teores de cinzas observados nas salinidades inferiores são similares aos obtidos por McIntosh *et al.* (2000). Sugere-se que além da maior concentração de minerais na água, a presença das frústulas das diatomáceas observadas na salinidade 25‰ também pode ter contribuído com os maiores percentuais de cinzas nos flocos microbianos formados neste ambiente.

De acordo com Tacon (2000), os flocos microbianos são ricos em minerais, tais como, cálcio, sódio, potássio, magnésio e fósforo. No presente estudo, a tendência de redução na concentração de fosfato do meio de cultivo, verificada com o aumento da salinidade, sugere a provável maior incorporação deste composto pela comunidade microbiana e microalgas (Godoy *et al.* 2009, submetido), tendo em vista o aumento da densidade dos flocos microbianos com a elevação da salinidade, conforme indicam os resultados de SST.

Chamberlain *et al.* (2001) destacam que, embora os flocos microbianos possam representar importantes promotores de crescimento e de suplementação nutricional aos animais cultivados, não é recomendável a sua utilização como fonte única de nutrição.

5.4. Desempenho dos camarões

A espécie *L. vannamei* apresenta capacidade de sobrevivência e crescimento em cultivos realizados sob baixas salinidades, entretanto, concentrações adequadas de determinados íons podem ser necessárias (McGraw & Scarpa 2002). O desenvolvimento satisfatório e as funções osmorregulatórias normais destes animais estão intimamente relacionados às concentrações de íons bicarbonato, sulfato, cloreto, cálcio, magnésio, potássio e sódio na água de cultivo (Balbi *et al.* 2005, Roy *et al.* 2006b). Deste modo, o efeito de suplementações iônicas, na água de cultivo ou na dieta, sobre o desempenho de camarões marinhos cultivados em baixas salinidades vem sendo foco de diversas pesquisas (Davis *et al.* 2002, 2005, Cheng *et al.* 2005, 2006, Roy *et al.* 2006b, Green 2008).

Os estudos mencionados acima demonstram que em cultivos convencionais sob baixa salinidade a suplementação iônica da água ou dieta pode melhorar o desempenho produtivo de camarões marinhos. Entretanto, os cultivos intensivos sem renovação de água em meio aos flocos microbianos compreendem uma tecnologia bastante nova e poucas informações são encontradas na literatura abordando o aspecto salinidade nestes sistemas. Desta forma, no presente estudo optou-se pela não realização de qualquer suplementação, com o objetivo de adquirir informações iniciais básicas que indicassem, ou não, a necessidade de efetuar suplementações iônicas também nestes sistemas em baixas salinidades. Assim, a partir deste ponto, possibilidades para pesquisas futuras serão abertas, nas quais suplementações de diversos tipos e concentrações poderão ser avaliadas.

Segundo Davis *et al.* (2002), as taxas de sobrevivência de pós-larvas de *L. vannamei* também sofrem influência da interação entre a idade do animal e a salinidade da água, estando a capacidade fisiológica de osmorregulação dos camarões intimamente relacionada ao seu estágio de desenvolvimento (Van Wyk & Scarpa 1999). Castille & Lawrence (1981) mencionam que em determinado momento entre os estágios de pós-larva e juvenil, o *L. vannamei*, assim como os demais crustáceos decápodos, adquire maior tolerância às baixas salinidades.

Índices reduzidos de sobrevivência de *L. vannamei* na fase PL 10 cultivados em salinidade igual ou inferior à 2‰ foram registrados por Davis *et al.* (2002). Todavia, PL 15 e PL 20 demonstraram capacidade de sobrevivência em salinidade 1‰ no mesmo estudo, claramente indicando elevação da tolerância dos animais às baixas salinidades com o aumento da idade. O mesmo foi verificado por Laramore *et al.* (2001), os quais obtiveram 100% de sobrevivência de juvenis cultivados em salinidade 2‰, enquanto que índices variando entre apenas 14 e 29% foram obtidos para pós-larvas nesta mesma salinidade. No presente estudo, o início da aclimação às diferentes salinidades experimentais procedeu-se com *L. vannamei* em fase juvenil (PL 54) sugerindo, desta forma, a improbabilidade de que a sobrevivência dos animais tenha sido negativamente afetada pela interação entre a idade dos camarões e as baixas salinidades avaliadas.

Elevados índices de sobrevivência são freqüentemente reportados em diversos estudos realizados em sistemas de cultivo sem renovação de água em meio aos flocos microbianos (McAbee *et al.* 2003, Gómez-Jiménez *et al.* 2005, Wasielesky *et al.* 2006, Kuhn *et al.* 2008). Entretanto, nos cultivos realizados com renovações de água mínimas ou ausentes em combinação com baixas salinidades, os resultados de sobrevivência são muito variáveis e podem ser atribuídos à aumentada sensibilidade dos animais às alterações nos parâmetros de qualidade de água (González-Félix *et al.* 2007, Perez-Velazquez *et al.* 2008). As taxas de sobrevivência verificadas no presente estudo foram significativamente afetadas pelas salinidades testadas, observando-se relação direta entre a redução da salinidade e o aumento dos índices de mortalidade. Resultados semelhantes foram relatados por Laramore *et al.* (2001) com pós-larvas de *L. vannamei* (0,1g), os quais também registraram redução significativa da sobrevivência dos animais cultivados em salinidade 2‰, em comparação aos mantidos em 30‰ (20 e 80%, respectivamente), além de mortalidades totais nas salinidades menores que 2‰. Já em estudo realizado por Bray *et al.* (1994) com juvenis desta espécie, não foram verificadas diferenças significativas entre as taxas de sobrevivência obtidas nas salinidades 5 e

40‰. Decamp *et al.* (2003) também não observaram diferenças significativas entre as taxas de sobrevivência de juvenis de *L. vannamei* cultivados nas salinidades 9, 18 e 36‰.

O melhor resultado de sobrevivência alcançado neste estudo (97,5%), verificado na salinidade mais elevada testada, foi superior aos relatados por Bray *et al.* (1994) e Sowers *et al.* (2006) com juvenis de *L. vannamei* cultivados, respectivamente, em salinidades 25‰ (83%) e 20‰ (78%). A elevada sobrevivência obtida na salinidade 25‰ foi significativamente maior do que nas salinidades 4‰ (72,7%), 2‰ (22,5%) e 0‰ (mortalidade total aos 26 dias), o que deve estar provavelmente relacionado à proximidade desta salinidade ao ponto iso-osmótico (entre 24,7 e 26‰) reportado para a espécie (Castille & Lawrence 1981). De acordo com Chen & Lin (1998) o ponto iso-osmótico de um organismo aquático representa a salinidade ideal para a sobrevivência e o crescimento do animal, na qual as exigências metabólicas e osmorregulatórias são mínimas.

De maneira geral, no presente estudo houve melhora dos índices de crescimento e utilização alimentar dos camarões com o aumento da salinidade. Porém, apenas para alguns parâmetros foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos. Os pesos médios finais registrados aumentaram de acordo com a elevação das salinidades experimentais, tendo sido os valores observados na salinidade 25‰ significativamente superiores aos observados nas demais salinidades avaliadas. Da mesma forma, Decamp *et al.* (2003) verificaram que o aumento na salinidade de 9 para 36‰ ocasionou elevação significativa no peso final de juvenis de *L. vannamei* o que, segundo os autores, pode estar relacionado à composição mineral da água de cultivo. Sowers *et al.* (2006) igualmente observaram os maiores pesos médios finais em juvenis desta espécie cultivados em sistema com renovação de água e salinidade 20‰, em comparação aos demonstrados pelos animais mantidos em salinidade 2‰.

O ganho em peso apresentou a mesma tendência de aumento conforme a elevação das salinidades experimentais, variando entre 1,6 e 1,8g/camarão (2 e 25‰). Estes valores são superiores aos observados (0,9g) por Ferreira (2008) para juvenis de *L. vannamei* cultivados durante 35 dias em sistema sem renovação com água marinha. Tacon *et al.* (2002), em sistema de cultivo intensivo sem renovação com água marinha, registraram ganho em peso percentual de juvenis de *L. vannamei* variando entre 554 e 1098%, valores estes superiores aos obtidos por González-Félix *et al.* (2007) (343 a 457%) em cultivo de juvenis desta mesma espécie também sob sistema sem renovação

de água, porém em baixa salinidade (4,6‰). No presente estudo, os valores percentuais de ganho em peso de 679,2, 708,3 e 758,3% alcançados, respectivamente, nas salinidades 2, 4 e 25‰, foram muito superiores aos observados por González-Félix *et al.* (2007), embora inferiores ao melhor resultado obtido por Tacon *et al.* (2002).

Emerenciano *et al.* (2007), trabalhando com pós-larvas de *F. paulensis* e *Farfantepenaeus brasiliensis* e Wasielesky *et al.* (2006), com juvenis de *L. vannamei*, em sistema de cultivo sem renovação de água, verificaram que o ganho em peso e o peso final dos animais cultivados em meio aos flocos microbianos aumentam devido aos benefícios nutricionais proporcionados pela alta produtividade natural presente nestes ambientes. Esta contribuição da produtividade natural para o incremento dos índices de crescimento dos camarões produzidos em sistemas sem renovação de água tem sido freqüentemente verificada em diversos estudos (Moss & Pruder 1995, Moss 1995, Otoshi *et al.* 2001, Kuhn *et al.* 2008).

As taxas de crescimento específico dos camarões também apresentaram tendência de aumento com a elevação da salinidade (5,1, 5,2 e 5,3% em 2, 4 e 25‰, respectivamente), porém as diferenças entre os tratamentos não foram significativas. De acordo com Rosas *et al.* (2001), os camarões marinhos mantidos em baixa salinidade utilizam a proteína dietética como fonte de aminoácidos não apenas para o crescimento, mas também para a manutenção da pressão osmótica, o que pode ser refletido em menores taxas de crescimento. Neste sentido, alguns estudos demonstram que camarões marinhos cultivados em salinidades inferiores às de água marinha exibem maiores exigências protéicas (Shiau 1998, Rosas *et al.* 2001). Entretanto, Perez-Velazquez *et al.* (2008), cultivando juvenis de *L. vannamei* (0,3g) em sistema sem renovação de água sob baixa salinidade (4‰), não observaram diferenças significativas nas taxas de crescimento dos camarões alimentados com dietas contendo 35 e 40% PB ou 25 e 30% PB. Ainda, Perez-Velazquez *et al.* (2007) trabalhando com juvenis desta espécie sob diferentes salinidades (2, 35 e 50‰) e concentrações protéicas da dieta (25, 30, 35 e 40% PB), também não verificaram efeitos significativos da interação entre a salinidade da água e as concentrações protéicas sobre as taxas de crescimento dos camarões.

No presente estudo, a elevação da salinidade do meio de cultivo influenciou positivamente a biomassa final obtida, resultando em valor significativamente maior deste parâmetro (220,5g) na salinidade 25‰, seguido pela salinidade 4‰ (154,6g) e 2‰ (91,2g). Estes resultados são corroborados por Decamp *et al.* (2003), os quais também observaram incremento da biomassa de juvenis de *L. vannamei* de acordo com

o aumento da salinidade (9, 18, 36‰). Wasielesky *et al.* (2006), pela verificação de valores superiores de biomassa final de juvenis de *L. vannamei* cultivados em meio aos flocos microbianos, em comparação aos animais mantidos em águas claras, salientam os benefícios da produtividade natural existente em sistemas de cultivo sem renovação de água.

O consumo alimentar de camarões peneídeos sofre influência de alterações na salinidade do ambiente de cultivo (Vinod *et al.* 1996, Vita *et al.* 2006). No presente estudo, os valores médios de consumo alimentar registrados diferiram significativamente entre os tratamentos, aumentando de acordo com a elevação da salinidade, entretanto, as diferenças verificadas foram comparativamente mínimas. Já em estudo realizado com juvenis de *F. paulensis* mantidos durante 15 dias em uma ampla faixa de salinidade (2 - 36‰), não foram observados efeitos significativos sobre o consumo alimentar dos camarões em um período de 24 horas (Wasielesky *et al.* 2003). Todavia, no referido trabalho é ressaltada a possibilidade deste parâmetro ser afetado em situação de longa permanência dos animais nas salinidades testadas.

Nos últimos anos, diversos estudos vêm demonstrando a potencial atuação dos flocos microbianos como importantes fontes dietéticas suplementares no cultivo de camarões marinhos, como da espécie *L. vannamei* (McIntosh *et al.* 2000, Browdy *et al.* 2001, Tacon *et al.* 2002, Moss 2002, McAbee *et al.* 2003) indicando, inclusive, a possibilidade de redução da concentração protéica do alimento artificial (Wasielesky *et al.* 2006, Ballester *et al.* 2009, no prelo). De acordo com Burford *et al.* (2004) até 29% do alimento consumido por juvenis de *L. vannamei* pode ser proveniente dos flocos microbianos presentes em sistemas de cultivo super-intensivo sem renovação de água. Entretanto, Avnimelech (1999) destaca que o aproveitamento da proteína microbiana depende da capacidade do animal cultivado em capturar os flocos e utilizá-los eficientemente como fonte alimentar. Além disso, é importante o correto dimensionamento da aeração do sistema de cultivo, visando a constante ressuspensão do material particulado e disponibilização ao consumo pelos animais (Emerenciano *et al.* 2007).

No presente estudo, excelentes valores de conversão alimentar (inferiores a um) foram verificados em todos os tratamentos, não tendo sido detectada influência significativa das diferentes salinidades testadas. Estes bons resultados de conversão alimentar obtidos são, provavelmente, devidos à capacidade do *L. vannamei* em consumir os flocos microbianos, aproveitando-os como fonte de alimento suplementar,

conforme relatado por outros pesquisadores (Wasielesky *et al.* 2006, Kuhn *et al.* 2008, Ferreira 2008). Sowers *et al.* (2006) também não verificaram diferenças significativas entre as conversões alimentares de juvenis de *L. vannamei* (0,9g) cultivados nas salinidades 2 e 20‰, todavia os valores obtidos deste parâmetro (2,3 e 2,1, respectivamente) foram muito piores aos observados neste estudo. Em experimento realizado por Decamp *et al.* (2003), embora também não tenham diferido significativamente entre as salinidades avaliadas (9, 18 e 36‰), a variação dos valores de conversão alimentar dos juvenis *L. vannamei* (1,8g) foi muito maior, principalmente em relação a salinidade mais baixa testada (7,9, 1,8 e 1,6, respectivamente). Em contraste, Perez-Velazquez *et al.* (2007) relataram impacto significativo da salinidade da água sobre as taxas de conversão alimentar de juvenis de *L. vannamei*.

6. Conclusões

A grande maioria dos parâmetros de qualidade de água não sofreu efeito significativo da salinidade. Entretanto, foi verificada tendência de influência da salinidade do ambiente de cultivo na variedade de organismos da comunidade microbiana e na composição centesimal dos flocos microbianos. A sobrevivência e desempenho zootécnico dos juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema sem renovação de água foram positivamente afetados pelo aumento da salinidade e os melhores resultados obtidos na salinidade 25‰. Contudo, índices satisfatórios de produtividade também foram verificados na salinidade 4‰, sugerindo a viabilidade de realização do cultivo em baixa salinidade.

7. Referências bibliográficas

- AMINOT, A & M CHAUSSEPIED. 1983. Manuel des analyses chimiques em milieu marin. Brest: CNEXO. 395p.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis. Arlington: association of official analytical chemists, p. 1141.
- ARANEDA, M, EP PÉREZ & E GASCA-LEYVA. 2008. White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities: condition state based on length and weight. *Aquaculture*, 283: 13-18.
- ATWOOD, HL, SP YOUNG, JR TOMASSO & CL BROWDY. 2003. Survival and growth of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity and mixed-salt environments. *J. World Aquacult. Soc.*, 34: 518-523.
- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227-235.
- AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264: 140-147.
- BALBI, F, J ROSAS, A VELÁSQUEZ, T CABRERA & C MANEIRO. 2005. Aclimatación de postlarvas de diferentes edades y criaderos del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) a baja salinidad. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 40: 109-115.
- BALLESTER, ELC, PC ABREU, RO CAVALLI, M EMERENCIANO, L DE ABREU & W WASIELESKY. 2009. 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. *Aquacult. Nutr.*, 1-10. *In press*.
- BALLESTER, ELC. Influência do biofilme na sobrevivência e no crescimento de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em sistema de berçário no estuário da Lagoa dos Patos. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, 2004. 95 pp. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, 2004.
- BARAK, Y, E CYTRYN, I GELFAND, M KROM & J VAN RIJN. 2003. Phosphorus removal in a prototype recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 220: 313-326.
- BOYD, CE. 1989. Water quality management and aeration in shrimp farming. Fisheries and allied aquacultures department. Serie N° 2. Alabama Exp. Station. Auburn University, AL. February, p. 83.

BOYD, CE. 2001. Inland shrimp farming and the environment. *J. World Aquacult. Soc.*, 32: 10-12.

BOYD, CE. 2007. Nitrification important process in aquaculture. *The Advocate*. May/June: 64-66.

BRATVOLD, D & CL BROWDY. 2001. Effects of sand and vertical surfaces (AquamatsTM) on production, water quality and a microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195: 81-94.

BRAY, WA, AL LAWRENCE & JR LEUNG-TRUJILLO. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. *Aquaculture*, 122: 136-146.

BROWDY, C.L & SM MOSS. 2005. Shrimp culture in urban, superintensive closed systems. In: Costa Pierce, BA (Ed.), *Urban Aquaculture*. Blackwell Science, Oxford UK, p. 173-186.

BROWDY, CL, D BRATVOLD, AD STOKES & RP MCINTOSH. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, CL & DE Jory. (Eds.), *The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp culture*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, p. 20-34.

BROWN, JJ & EP GLENN. 1999. Reuse of highly saline aquaculture effluent to irrigate a potential forage halophyte *Suaeda esteroa*. *Aquacult. Eng.*, 20: 91-111.

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

BURFORD, MA, PJ THOMPSON, RH BAUMAN & DC PEARSON. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219: 393-411.

BURFORD, MA, PJ THOMPSON, RH BAUMAN & DC PEARSON. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp *Litopenaeus vannamei* nutrition in a high-intensive zero-exchange system. *Aquaculture*, 232: 525-537.

CASTILLE, FL & AL LAWRENCE. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 68: 75-80.

CHAMBERLAIN, G, Y AVNIMELECH, RP MCINTOSH & M VELASCO. 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N: composition and nutritional value of organic detritus. *The Advocate*, June: 22-24.

CHEN, JC & JN LIN. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture*, 164: 173-181.

CHEN, S, J LING & J BLANCHETON. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacult. Eng.*, 34: 179-197.

CHENG, KM, CQ HU, YN LIU, SX ZHENG & XJ QI. 2005. Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquacult. Nutr.*, 11: 385-393.

CHENG, KM, CQ HU, YN LIU, SX ZHENG & XJ QI. 2006. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. *Aquaculture*, 251: 472-483.

DAVIS, DA, CE BOYD, DB ROUSE & IP SAOUD. 2005. Effects of potassium, magnesium and age on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* post-larvae reared in inland low salinity well waters in west Alabama. *J. World Aquacult. Soc.*, 36: 416-419.

DAVIS, DA, IP SAOUD, WJ MCGRAW & DB ROUSE. 2002. Considerations for *Litopenaeus vannamei* reared in inland low salinity waters. Auburn University. Reprinted from VI International Symposium on Aquaculture Nutrition - Cancun, Quintana-Roo, Mexico, September: 3-6.

DECAMP, O, J CODY, L CONQUEST, G DELANOY & AGJ TACON. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water exchange culture systems. *Aquacult. Res.*, 34: 345-355.

DECAMP, O, L CONQUEST, J CODY, I FORSTER & AGJ TACON. 2007. Effect of shrimp stocking density on size-fractionated phytoplankton and ecological groups of ciliated protozoa within zero-water exchange shrimp culture systems. *J. World Aquacult. Soc.*, 38: 395-406.

DECAMP, O, S MOSS & N NAGANO. 2001. Live protozoa: suitable live food for larval fish and shrimp? *The Advocate*, October: 28-29.

DESCY, JP, HW HIGGINS, DJ MACKEY, JP HURLEY & TM FROST. 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *J. Phycol.*, 36: 274-286.

DINÇER, AR & F KARGI. 2001. Salt inhibition kinetics in nitrification of synthetic saline wastewater. *Enzyme Microb. Technol.*, 28: 661-665.

EBELING, JM, MB TIMMONS & JJ BISOGNI. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.

ELLOUMI, J, JF CARRIAS, H AYADI, T SIME-NGANDO, M BOUKHRIS & A BOUÏN. 2006. Composition and distribution of planktonic ciliates from ponds of different salinity in the solar saltwork of Sfax Tunisia. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 67: 21-29.

EMERENCIANO, MGC. Flocos microbianos: aspectos zootécnicos no cultivo do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* e *Farfantepenaeus brasiliensis*. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, 2007. 42 pp. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, 2007.

FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 2007. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura. Roma.

FERREIRA, LMMHM. Formação de flocos microbianos em cultivo do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* e do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, 2008. 57p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, 2008.

FLORES, M, F DÍAZ, R MEDINA, AD RE & A LICEA. 2007. Physiological, metabolic and haematological responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles fed diets supplemented with astaxanthin acclimated to low-salinity water. *Aquacult. Res.*, 38: 740-747.

FRELIER, PF, JK LOY, P VARNER, JA THOMPSON, AL LAWRENCE & WA BRAY. 1995. Management procedures for the treatment of necrotizing hepatopancreatitis in farmed shrimp. In: Swimming through troubled waters, proceedings of the special session on shrimp farming. (Eds.), Browdy CL & JS Hopkins. *J. World Aquacult. Soc.*, p. 240 - San Diego, CA.

GODOY, LC, C ODEBRECHT, TG MARTINS, EL BALLESTER & W WASIELESKY. 2009. The importance of diatoms and microbial flocs for white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the super-intensive culture. *Aquaculture*, 1-28. Submetido.

GÓMEZ-JIMÉNEZ, S, ML GONZÁLEZ-FÉLIX, M PEREZ-VELAZQUEZ, DA TRUJILLO VILLALBA, IR ESQUERRA-BRAUER & R BARRAZA-GUARDADO. 2005. Effect of dietary protein level on growth, survival and ammonia efflux rate of *Litopenaeus vannamei* (Boone) raised in a zero water exchange culture system. *Aquacult. Res.*, 36: 834-840.

GONZÁLEZ-FÉLIX, ML, S GÓMEZ-JIMÉNEZ, M PEREZ-VELAZQUEZ, DA DAVIS & JG VELAZCO-RAMEÑOS. 2007. Nitrogen budget for a low salinity, zero-

water exchange culture system: I. effect of dietary protein level on the performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquacult. Res.*, 38: 798-808.

GREEN, BW. 2008. Stocking strategies for production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in amended freshwater in inland ponds. *Aquacult. Res.*, 39: 10-17.

GROSS A, S ABUTBUL & D ZILBERG. 2004. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured in low-salinity brackish water. *J. World Aquacult. Soc.*, 35: 315-321.

HARGREAVES, JA. 1997. A simulation model of ammonia dynamics in commercial catfish ponds in the southeastern United States. *Aquacult. Eng.*, 16: 27-43.

HARGREAVES, JA. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacult. Eng.*, 34: 344-363.

HOPKINS, JS, PA SANDIFER & CL BROWDY. 1995. Effect of two feed protein levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive shrimp ponds operated without water exchange. *J. World Aquacult. Soc.*, 26: 93-97.

JEFFREY, SW & GF HUMPHREY. 1975. New espectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*. 167: 191-194.

JIANG, DH, AL LAWRENCE, WH NEIL, & H GONG. 2000. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 253: 193-209.

JORY, DE, TR CABRERA, DM DUGGER, D FEGAN, PG LEE, AL LAWRENCE, CJ JACKSON, RP MCINTOSH & J CASTAÑEDA. 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. In: CL Browdy and DE Jory. The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, USA, p. 104-152.

JU, ZY, I FORSTER, L CONQUEST, W DOMINY, WC KUO & FD HORGAN. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquacult. Res.*, 39: 118-133.

KUHN, DD, GD BOARDMAN, SR CRAIG, GJ FLICK & E MCLEAN. 2008. Use of microbial flocs generated from tilapia effluent as a nutritional supplement for shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in recirculating aquaculture systems. *J. World Aquacult. Soc.*, 39: 72-82.

LARAMORE, S, CR LARAMORE & J SCARPA. 2001. Effect of low salinity on growth and survival of postlarvae and juvenile *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.*, 32: 385-392.

LARS HAKANSON. 2006. The relationship between salinity, suspended particulate matter and water clarity in aquatic systems. *Ecol. Res.*, 21: 75-90.

LI, E, L CHEN, C ZENG, X CHEN, N YU, Q LAI & JG QIN. 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* at different salinities. *Aquaculture*, 265: 385-390.

LIN, YC & JC CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 109-119.

LIN, YC & JC CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201.

MCABEE, BJ, CL BROWDY, RJ RHODES & AD STOKES. 2003. Greenhouse raceway: considered for superintensive U.S. shrimp production. *The Advocate*. June: 40-43.

MCGRAW, WJ & J SCARPA. 2002. Determining ion concentrations for *Litopenaeus vannamei* culture in freshwater. *The Advocate*. 5: 36-38.

MCGRAW, WJ, DA DAVIS, D TEICHERT-CODDINGTON & DB ROUSE. 2002. Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity, endpoint and rate of salinity reduction. *J. World Aquacult. Soc.*, 33: 78-84.

MCINTOSH, D, TM SAMOCHA, ER JONES, AL LAWRENCE, DA MCKEE, S HOROWITZ & A HOROWITZ. 2000. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet in outdoor tank system and no water exchange. *Aquacult. Eng.*, 21: 215-227.

MCINTOSH, RP. 2000. Changing paradigms in shrimp farming: low protein feeds and feeding strategies. *The Advocate*, April: 44-50.

MCINTOSH, RP. 2001. Establishment of heterotrophic bacterial communities. *The Advocate*, February: 53-58.

MCNEIL, R. 2000. Zero exchange, aerobic, heterotrophic systems: key considerations. *The Advocate*, June: 72-76.

MONTAGNES, DJS, JA BERGES, PJ HARRISON & FJR TAYLOR. 1994. Estimating carbon, nitrogen, protein and chlorophyll *a* from cell volume in marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1044-1060.

MOSS, SM & GD PRUDER. 1995. Characterization of organic particles associated with rapid growth in juvenile white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone) reared under intensive culture conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 187: 175-191.

MOSS, SM, BJ ARGUE, CA OTOSHI, FRO CALDERON & AGJ TACON. 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In: Browdy, CL & Jory DE (Eds.), The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, USA, p. 1-19.

MOSS, SM. 1995. Production of growth-enhancing particles in a plastic-lined pond. *Aquaculture*, 132: 253-260.

MOSS, SM. 2000. Benefits of a microbially dominated intensive shrimp production system: a review of pond water studies at the Oceanic Institute. *The Advocate*, April: 53-55.

MOSS, SM. 2002. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: Lee CS & P O'Bryen. (Eds.), Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems. *World Aquaculture Society*, USA, p.1-18.

MOYA, M, AL LAWRENCE, CA COLLINS & TM SAMOCHA. 1999. Acclimation of *Penaeus vannamei* postlarvae to 2 ppt ground saline water in Sonora Desert. Arizona. *J. World Aquacult. Soc.*, Abstract 424: World Aquaculture' 99.

NAGANO, N & O DECAMP. 2004. Ingestion of a ciliated protozoa by first-feeding larval stage of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquacult. Res.*, 35: 516-518.

NAYLOR, RL, RJ GOLDBURG, H MOONEY, M BEVERIDGE, J CLAY, C FOLKE, N KAUTSKY, J LUBCHENCO, J PRIMAVERA & M WILLIAMS. 1998. Nature's subsidies to shrimp and salmon farming. *Science*, 282: 883-884.

NIJHOF, M & J BOVENDEUR. 1990. Fixed film nitrification characteristics in sea-water recirculation fish culture systems. *Aquaculture*, 87: 133-143.

OSTRENSKY A & WJ WASIELESKY. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante 1967). *Aquaculture*, 132: 339-347.

OTOSHI CA, AD MONTGOMERY, AM LOOK & SM MOSS. 2001. Effects of diet and water source on the nursery production of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.* 32: 243-249.

PAERL, HW, LM VALDES, JL PINCKNEY, MF PIEHLER, J DYBLE & PH MOISANDER. 2003. Phytoplankton photopigments as indicators of estuarine and coastal eutrophication. *BioScience*, 53: 953-964.

PATIL, V, T KÄLLQVIST, E OLSEN, G VOGT & HR GISLERØD. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquac. Int.*, 15: 1-9.

PEDRÓS-ALIÓ, C, JI CALDERON-PAZ, MH MACLEAN, G MEDINA, C MARRASÉ, JM GASOL & N GUIXA-BOIXEREU. 2000. The microbial food web along salinity gradients. *Microbiol. Ecol.*, 32: 143-155.

PEÑAFLORES, VD. 1999. Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juvenile shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 172: 281-289.

PEREZ-VELAZQUEZ, M, ML GONZÁLEZ-FÉLIX, F JAIMES-BUSTAMANTE, LR MARTÍNEZ-CÓRDOVA, DA TRUJILLO-VILLALBA & DA DAVIS. 2007. Investigation of the effects of salinity and dietary protein level on growth and survival of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.*, 38: 475-485.

PEREZ-VELAZQUEZ, M, ML GONZÁLEZ-FÉLIX, S GÓMEZ-JIMÉNEZ, DA DAVIS & N MIRAMONTES-HIGUERA. 2008. Nitrogen budget for a low-salinity, zero-water exchange culture system: II. evaluation of isonitrogenous feeding of various dietary protein levels to *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquacult. Res.*, 39: 995-1004.

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

RADCHENKO, IG & LV IL'YASH. 2005. Growth and photosynthetic activity of diatom *Thalassiosira weissflogii* at decreasing salinity. *Plant Physiol.*, 33: 242-247.

ROSAS, C, G CUZON, G GAXIOLA, YL PRIOL, C PASCUAL, J ROSSIGNYOL, F CONTRERAS, A SANCHEZ & AV WORMHOUDT. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 1-22.

ROY, LA, DA DAVIS & IP SAOUD. 2006a. Effects of lecithin and cholesterol supplementation to practical diets for *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters. *Aquaculture*, 257: 446-452.

ROY, LA, DA DAVIS, IP SAOUD & RP HENRY. 2007a. Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters. *Aquacult. Nutr.*, 13: 104-113.

ROY, LA, DA DAVIS, IP SAOUD & RP HENRY. 2007b. Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters. *Aquaculture*, 262: 461-469.

ROY, LA. Physiological and nutritional requirements for the culture of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in low salinity waters. Auburn: Auburn University, 2006b. 126p. Dissertation (Doctorate of Philosophy) - Auburn University, 2006b.

SAMOCHA, TM, A LAWRENCE, CR COLLINS, CR EMBERSON, JL HARVIN & PMV WYK. 2001. Development of integrated, environmentally sound, inland shrimp production technologies for *Litopenaeus vannamei*. In: Browdy, CL & DE Jory. (Eds.), The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, USA, p. 64-75.

SAMOCHA, TM, H GUAJARDO, AL LAWRENCE, FL CASTILLE, SPEED, M SPEED & DA MCKEE & KI PAGE. 1998. A simple stress test for *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 165: 233-242.

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

SANTOS, MHS. Alimentação do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante 1967) (Decapoda, Penaeidae) cultivado. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, 2003. 229 pp. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Universidade Federal do Rio Grande, 2003.

SAOUD, IP, DA DAVIS & DB ROUSE. 2003. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. *Aquaculture*, 217: 373-383.

SCHRYVER, PD, R CRAB, T DEFOIRDT, N BOON & W VERSTRAETE. 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277: 125-137.

SHIAU, SY. 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 164: 77-93.

SOWERS, AD, JR TOMASSO JR, CL BROWDY & HL ATWOOD. 2006. Production characteristics of *Litopenaeus vannamei* in low-salinity water augmented with mixed salts. *J. World Aquacult. Soc.*, 37: 214-217.

STRICKLAND, JDH & TR PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, p. 310.

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.

TACON, AGJ. 2000. Shrimp feeds and feeding regimes in zero-exchange outdoor tanks. *The Advocate*, April: 15-16.

TACON, AGJ. 2001. Minimizing environmental impacts of shrimp feeds. *The Advocate*, December: 34-35.

TALLAMY, CJ & SM MOSS. 2006. Varied microbes important to recirculating aquaculture systems. *The Advocate*, June: 38-39.

TSUZUKI, MY, RO CAVALLI & A BIANCHINI. 2000. The effects of temperature, age and acclimation to salinity on the survival of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae. *J. World Aquacult. Soc.*, 31: 459-468.

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

VAN WYK P & J SCARPA. 1999. Water quality and management. In: Van Wyk, P. *et al.* (Eds.). Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Florida department of agriculture and consumer services, Tallahassee, p. 128-138.

VELASCO, M, AL LAWRENCE & WH NEILL. 1998. Effects of dietary phosphorus level and inorganic source on survival and growth of *Penaeus vannamei* postlarvae in zero-water exchange culture tanks. *Aquat. Living Resour.* 11: 29-33.

VINATEA, L. 2004. Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura. Florianópolis, Santa Catarina. 231p.

VINOD, K, UG BHAT & B NEELAKANTAN. 1996. Effect of salinity on food intake, growth and conversion efficiencies of juvenile *Penaeus merguensis*. *Environ. Ecol.*, 14: 74-75.

VITA, G, S PEIXOTO, D LOPES, W WASIELESKY & A RUSSO. 2006. Crescimento, consumo alimentar e sobrevivência de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* em diferentes salinidades. Aquacultura 2006. Anais do congresso.

WASIELESKY, W, A BIANCHINI, CC SANCHEZ & LH POERSCH. 2003. The effect of temperature, salinity and nitrogen products on food consumption of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46: 135-141.

WASIELESKY, W, H ATWOOD, A STOKES & CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396-403.

WEIRICH, CR, A SEGARS, JV BRUCE & CL BROWDY. 2003. Development and implementation of biosecurity protocols and procedures at the Waddell Mariculture Center. In: Lee, CS, O'Bryen PJ. (Eds.). Biosecurity in aquaculture production systems: exclusion of pathogens and other undesirables. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA, USA, p. 139-156.

WEIRICH, CR, CL BROWDY, D BRATVOLD, BJ MCABEE & AD STOKES. 2002. Preliminary characterization of a prototype minimal exchange super-intensive shrimp production system. Proceedings of the IVth international conference on recirculating aquaculture. Virginia Tech University, Virginia, USA, p. 255-270.

WYBAN, J, WA WALSH & DM GODIN. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 138: 267-279.