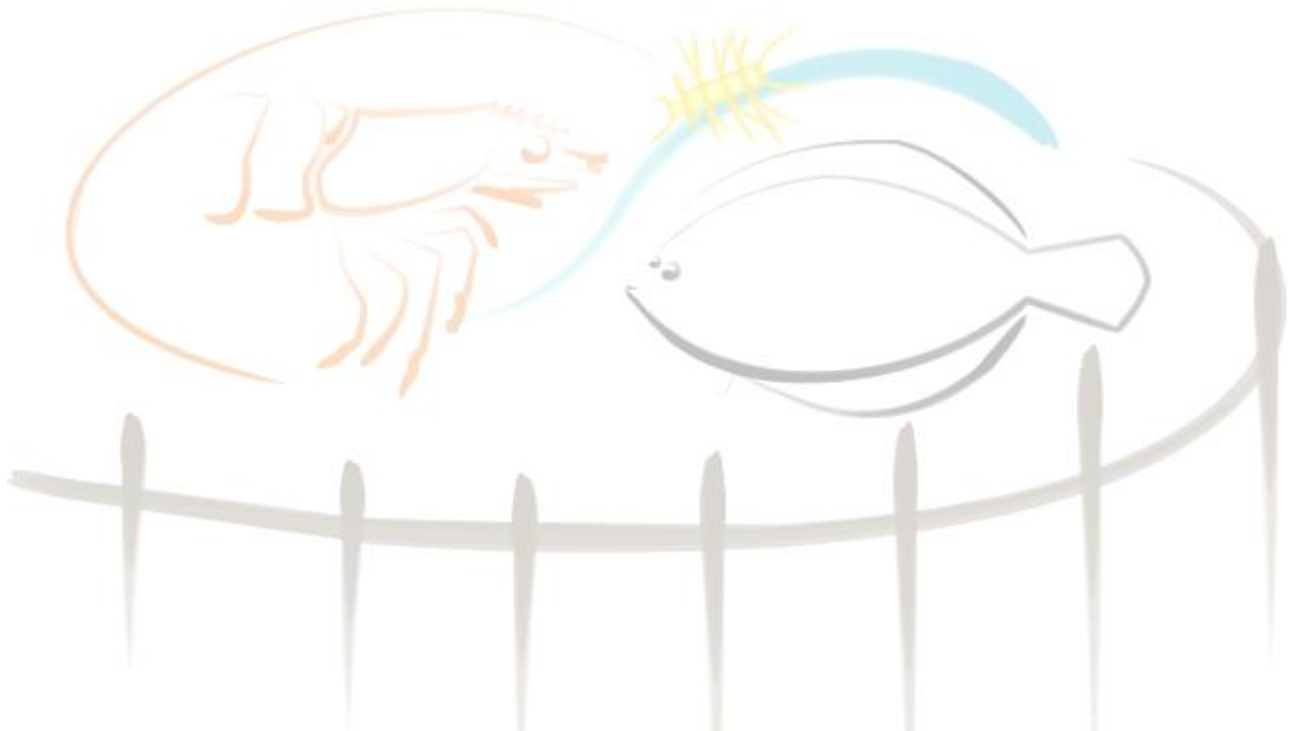




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



Influência da densidade de estocagem sobre o desempenho do camarão branco *Litopenaeus vannamei* durante a fase final de engorda em sistema super-intensivo

ADRIANA FERREIRA DA SILVA

FURG
RIO GRANDE, RS.
2009

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

Influência da densidade de estocagem sobre o desempenho do camarão branco *Litopenaeus vannamei* durante a fase final de engorda em sistema super-intensivo

Adriana Ferreira da Silva

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

Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo César Abreu

Rio Grande – RS – Brasil

Março, 2009

Índice

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Local do Experimento e origem dos animais.....	13
3.2. Condições de cultivo.....	13
3.2.1. Sistema experimental (microcosmos).....	13
3.2.2. Fertilização orgânica.....	14
3.2.3. Alimentação	14
3.3. Parâmetros de qualidade de água.....	15
3.4. Peso seco, clorofila <i>a</i> e caracterização da comunidade microbiana	16
3.5. Composição Proximal.....	17
3.6. Análise do conteúdo estomacal.....	17
3.7. Análises estatísticas	17
4. RESULTADOS	18
4.1. Parâmetros de qualidade de água.....	18
4.2. Desempenho dos camarões	19
4.3. Peso seco, clorofila α e caracterização dos microorganismos do biofilme.....	20
4.4. Matriz de flocos (caracterização dos flocos)	24
4.5. Conteúdo estomacal	26
5. DISCUSSÃO	28
5.1. Parâmetros físico-químicos da água de cultivo	28
5.2. Desempenho dos camarões	29
5.3. Substratos artificiais e biofilme	32
5.4. Composições físico-químicas dos flocos microbianos	33
5.5. Caracterizações da comunidade microbiana no biofilme, matriz de flocos e no conteúdo estomacal dos camarões	34
6. CONCLUSÕES	37
7. LITERATURA CITADA	38

“Um dia você aprende que não importa em quantos pedaços o seu coração foi partido, o mundo não pára, para que você o conserte. Aprende que verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias. E o que importa não é o que você tem na vida, mas quem você tem na vida. E que bons amigos são a família, que nos permitiram escolher. Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que pode ser. Aprende que não importa onde já chegou, mas aonde está indo, mas se você não sabe onde está indo qualquer lugar serve. Aprende que, ou você controla seus atos ou eles o controlarão, e que ser flexível não significa ser fraco ou não ter personalidade, pois não importa quão delicada e frágil seja uma situação, sempre existem dois lados. Aprende que heróis são pessoas que fizeram o que era necessário fazer, enfrentando as conseqüências. Aprende que paciência requer muita prática. Aprende que maturidade tem mais a ver com os tipos de experiência que se teve e o que você aprendeu com elas do que com quantos aniversários você celebrou. Aprende que há mais de seus pais em você do que você suponha. Aprende que o tempo não é algo que possa voltar, para trás. Portanto planeje seu jardim e decore sua alma ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprende que realmente pode suportar, que realmente é forte e que pode ir muito mais longe, depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida. Nossas dádivas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar se não fosse o medo de tentar”

WILLIAN SHAKESPEARE (Um dia você aprende)

DEDICATÓRIA

Á

Deus

Por estar presente em minha vida

Aos

Meus pais Mauro e Edina

Que são a minha maior força e tudo na minha vida

Aos

Meus irmãos Aline e Marcelo

Pela amizade, amor e incentivo

E aos

Meus amigos queridos que sempre estiveram presente em todos os momentos...

DEDICO

Agradecimentos

Á Deus, pelo dom da vida;

Á Universidade Federal de Rio Grande pela oportunidade do ensino gratuito;

Ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky (Mano), pelos ensinamentos preciosos repassados, pela confiança depositada, companheirismo e grande amizade;

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Abreu, pela co-orientação, pelos ensinamentos preciosos repassados e pela confiança depositada;

Ao Dr. Eduardo Ballester, pelos grandes conselhos, sugestões e principalmente confiança e amizade;

Ao Prof. Dr. Luis Poersh (Mineiro), pela amizade, confiança depositada y por la ayuda con el español, muchas gracias Mineiro;

Aos funcionários da Estação Marinha de Aquicultura (EMA/FURG). Seu Hermes, Getúlio, Zezinho, Pita, Lina Mara, Marcelo Cornelet e Sandro pelas experiências compartilhadas;

Em especial as grandes amigas: Gabi (pupila), Sabrina (nega), Cris, Emeline, Léa e Ju pela lealdade, paciência, amizade, felicidade, rizadas, choros, carinho e dedicação durante esses anos de amizade;

Com muito carinho ao meu amigo Leandro Cesar de Godoy, pelos longos anos de convivência, compreensão e carinho. Hoje irmãos por afinidade , sempre ...

Com muita satisfação aos amigos: André , Vita, Luiza Dy, Grazielle, Carol Canary, Diogo, Lu, Paula, Vivi, Cintia, Plínio, Manuel, Charles, Diana, Kotoko, Mari, Kássio, Rafael (Jack), Marcio (chicletes), Okamoto, pelos momentos felizes, amizade e companheirismo;

Aos colegas de pós-graduação: Diogo, Paula, Vivi, Cintia, Plínio, Manuel, Charles, Diana, Kotoko, Kássio, Rafael (Jack), Mateus, Marcio, Geraldo, João, Lise Maria, Shei, Ricardo, Emeline, Cris, Sabrina, Dariano e Gusta;

Á Eduardo Izeppi pelos bons momentos que passamos juntos;

Ás pessoas que me ajudaram na realização desse trabalho : Gabi, Carol, Lilian, Eduardo Ballester, Dariano;

Ao Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos;

À Capes pela concessão da bolsa;

À minha família que representa tudo em minha vida.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da densidade de estocagem sobre o crescimento e sobrevivência de sub-adultos de camarões *Litopenaeus vannamei*, cultivado em um sistema super-intensivo sem renovação de água com presença de flocos microbianos. Para tanto, em uma estufa fechada (“greenhouse”) foi montado um sistema contendo 12 tanques (denominados microcosmos) onde foram cultivados durante 45 dias juvenis de *L. vannamei* com peso médio inicial de $11,96 \pm 1,14$ g. Os camarões foram estocados nas densidades de 150, 300, 450 e 600 camarões m^{-2} com 3 réplicas por tratamento. Nos tanques experimentais foram colocados substratos artificiais para o crescimento do biofilme. O suprimento de ar e circulação da água ocorreu através de um soprador de 4,5 CV, a água era bombeada para as unidades experimentais, numa vazão de 6,6 L/min por unidade experimental, o que equivaleu a 48 recirculações do volume total de água por dia. A saída de água era por gravidade, através de uma calha que a direcionava até um tanque (matriz de flocos) em sistema “raceway”. Na matriz de flocos ocorria, há dois meses, um cultivo super-intensivo sem renovação de água, de *L. vannamei* na densidade de estocagem de 300 camarões m^{-2} . O material em suspensão (flocos microbianos) foi coletado para análise de composição proximal. Foi analisado o crescimento dos camarões através de biometrias e no final os camarões foram contados para verificar as sobrevivências nas diferentes densidades. O conteúdo estomacal dos camarões nos diferentes tratamentos foi analisado ao final do experimento. Os parâmetros de qualidade de água da matriz de flocos foram monitorados diariamente. Os principais microrganismos presentes no biofilme que se formou nos substratos artificiais e no tanque matriz foram identificados e quantificados, assim como foi quantificada a clorofila *a* e o peso seco. Na análise dos microrganismos verificou-se principalmente uma preferência dos camarões pelo consumo de rotíferos, ciliados e flagelados. Foi observada uma relação negativa entre o aumento da densidade de estocagem de camarões e a sobrevivência e crescimento destes. Os resultados evidenciam que a densidade de estocagem recomendada para o cultivo de *L. vannamei* fase final de engorda no sistema proposto deve ser entre 300 e 450 camarões m^{-2} .

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of stocking density on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* subadults reared in a super-intensive system without water exchange in the presence of microbial flocs. Thus, in an enclosed greenhouse raceway shrimp culture system was installed a system containing 12 tanks (called microcosms) in which were reared, during 45 days, *L. vannamei* juveniles with initial mean weight of 11.96 ± 1.14 g. The shrimps were stocked at densities of 150, 300, 450 and 600 m⁻² with three replicates each treatment. In the experimental tanks were placed artificial substrates for the biofilm growth. Air supply and water recirculation occurred through a 4.5 HP blower. Water was pumped into the experimental units in a flow of 6.6L/min/experimental unit, the equivalent of 48 recirculations from the water total volume/day. The water output was by gravity, through a pipeline to return to a 70 m³ raceway (flocs matrix). In the flocs matrix took place, a *L. vannamei* super-intensive culture without water exchange, in the stocking density of 300 shrimps m⁻² during two months. The suspended matter (microbial flocs) was collected for proximal composition analysis. It was analyzed the shrimps growth through biometrics and, at the end, the shrimps were counted to verify the survival in the different stocking densities. The shrimps stomach content in the different treatments was analyzed at the end of experiment. The water quality parameters of the flocs matrix were daily monitored. The main microorganisms present in the biofilm that formed on the artificial substrates and in the matrix tank were identified and quantified, as well as, they were quantified chlorophyll *a* and dry weight. In the microorganisms analysis it was verified mainly a preference of shrimps by rotifers, ciliates and flagellates consumption. It was observed a negative relationship between the increase of shrimps stocking density and their growth and survival. The results indicate that the recommended stocking density for the *L. vannamei* reared at proposed system should be between 300 and 450 shrimps m⁻².

1. INTRODUÇÃO

A aqüicultura é possivelmente o setor de produção de alimentos que apresenta o crescimento mais acelerado entre os outros setores de produção de alimentos de origem animal. Esta atividade é responsável por 43% da produção mundial de pescado para consumo humano (FAO 2007). Atualmente, devido ao grande esforço de pesca sobre os estoques pesqueiros, a pesca extrativa está em seu grau máximo de exploração. E desde a década de 70 o crescimento do setor é de apenas 1,2% ao ano, enquanto que o setor da aqüicultura cresce em média 8,9% ao ano. Dos setores da aqüicultura, a carcinocultura tem apresentado um crescimento exponencial na última década, devido ao seu alto valor econômico (FAO 2007). No Brasil, este crescimento também vem sendo observado. A produção brasileira de pescado no ano de 2006 foi de um milhão de toneladas e apresentou um crescimento superior a 4% se comparado a 2005. O total arrecadado superou os R\$ 3 bilhões (IBAMA 2006).

Apesar dos benefícios, esta atividade vem sofrendo severas críticas por ser considerada uma atividade potencialmente danosa ao meio ambiente. Entre as principais acusações estão a ocupação de sistemas costeiros alagados, a destruição dos manguezais, alteração de fluxos hidrológicos em estuários, introdução de espécies exóticas, poluição química e orgânica, e a disseminação de enfermidades (Boyd 2003, Naylor *et al.* 2000).

Desta forma, a necessidade de criar alternativas para a produção de alimentos de origem animal com menor impacto ambiental surgiu como um novo conceito para o desenvolvimento de uma aqüicultura responsável. Assim, a aplicação de sistemas de cultivo com zero ou mínima troca de água apresentam vantagens. Essas vantagens são: redução do uso de água, diminuição da emissão de efluentes, minimizando o risco de introdução e disseminação de doenças, conseqüentemente atenuando danos ambientais, além de incrementar a produção (Hopkins *et al.* 1995, Browdy *et al.* 2001).

Diversas fazendas de camarões continuamente utilizam estratégias para reduzir os custos operacionais e aumentar a produção em um esforço para maximizar a rentabilidade. Uma abordagem comum é o de promover a produtividade natural do viveiro, a fim de fornecer recursos para uma suplementação alimentar das espécies-alvo. Anderson *et al.* (1987) relataram que 53-77% do crescimento de juvenis de *Litopenaeus*

vannamei, criados em viveiros de terra é devido à assimilação da biota natural. Epp (2002) estimaram que mais de 31% do nitrogênio assimilado por *Litopenaeus vannamei* foi obtido da produção natural. Otoshi *et al.* (2006) relataram que 70-80% do ganho de peso do *Litopenaeus vannamei* criados em condições de laboratório foi atribuído ao consumo de flocos bacterianos.

No entanto, a desvantagem deste tipo de sistema está nos altos custos de construção e de operação que são, geralmente, compensados pelo aumento da densidade de estocagem dos camarões (Decamp *et al.* 2007). O incremento das densidades de estocagem em níveis super-intensivos têm sido explorados para maximizar a produção por unidade de área. Porém, o manejo da produção torna-se intenso e rigoroso, quando comparado aos sistemas convencionais, principalmente com relação ao monitoramento e controle da concentração de oxigênio dissolvido na água. A demanda desse parâmetro é extremamente elevada devido á alta densidade de estocagem dos camarões e principalmente, pela comunidade microbiana presente no sistema (Otoshi *et al.* 2001).

A densidade de estocagem apresenta grande influência sobre a produção dos camarões em cativeiro (Jackson & Wang 1998). Várias pesquisas indicam existir uma relação inversa entre a densidade e desempenho dos camarões na aquicultura (Williams *et al.* 1996, Moss & Moss 2004, Otoshi *et al.* 2007). Camarões estocados em altas densidades geralmente crescem menos e apresentam menor sobrevivência do que camarões estocados em baixas densidades. Esta redução do crescimento dos camarões em altas densidades é resultado do aumento da competição por alimento e espaço e também por eventos de canibalismo (Preto *et al.* 2005 , Krummenauer *et al.* 2006, Arnold *et al.* 2006).

A principal causa desta relação inversa entre densidade de estocagem e desempenho ainda é indefinida, devido à dificuldade de separar os efeitos do comportamento dos camarões e da qualidade da água nas diferentes densidades de estocagem (Moss & Moss 2004). O aumento da carga orgânica pode comprometer a qualidade da água e resultar em desempenho menor do camarão, especialmente em sistemas de recirculação. Além disso, o comportamento competitivo ou antagônico (pressão de predação) dos camarões pode proporcionar em menor crescimento e sobrevivência (Otoshi *et al.* 2007).

Altas taxas de densidades, também influenciam diretamente a qualidade da água devido ao excesso de carga orgânica gerado pela excreção dos animais do cultivo. Devido a isso, algumas estratégias estão sendo desenvolvidas, entre elas está a implantação de substratos artificiais verticais nos sistemas de cultivo para a formação de biofilme. O biofilme é uma matriz orgânica, colonizada por microrganismos que se estabelece sobre qualquer superfície submersa (Thompson *et al.* 2002). Segundo Thompson *et al.* (2002) em um estudo sobre a eficiência do biofilme na manutenção da qualidade de água em tanques de cultivo, a diminuição da concentração de amônia, está relacionada, principalmente, à absorção deste elemento pelas microalgas e cianobactérias presentes no biofilme. Além do que o biofilme formado nos substratos pode servir como fonte suplementar de alimento para os camarões (Thompson *et al.* 2002, Moss & Moss 2004, Ballester *et al.* 2007).

Vários trabalhos abordam o cultivo de camarões na fase de larvicultura e berçário (Wang & Leima 2000, Zelaya *et al.* 2007, Green 2008), assim como o uso de substratos artificiais nestas fases (Thompson *et al.* 2002, Moss & Moss 2004, Ballester *et al.* 2007). No entanto, não estão disponíveis informações sobre estas mesmas contribuições para o camarão sub-adulto (acima de 12g). Isso acontece pelo fato da maioria dos pesquisadores iniciarem os experimentos com a estocagem de camarões menores.

Existe um nicho de mercado diferenciado para camarões maiores, porém existem poucos estudos referentes a este assunto. Por exemplo, a CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo) ponto de referência na venda de pescados no estado de São Paulo, chega a vender o quilo de camarões grandes pelo dobro do preço de camarões pequenos. Todavia, pouco se sabe sobre o cultivo de camarões na fase final de engorda, (sub-adultos, acima de 12g) com substratos artificiais em sistema sem renovação de água.

2. OBJETIVOS

Avaliar a influência da densidade de estocagem sobre o desempenho do *L. vannamei* cultivado em sistema super-intensivo, isolando o efeito da qualidade de água.

2.1. Objetivos específicos

- ✓ Analisar a sobrevivência e crescimento de *L. vannamei* na fase final de engorda nas diferentes densidades de estocagem em sistema sem renovação de água;
- ✓ Caracterizar a composição e a abundância dos diferentes grupos de microrganismos presentes no biofilme formado nos substratos artificiais e nos flocos microbianos do tanque matriz;
- ✓ Caracterizar a composição e a abundância dos diferentes grupos de microrganismos presentes no conteúdo estomacal de *L. vannamei*.

3. Material e Métodos

3.1. Local do Experimento e origem dos animais

O experimento foi conduzido na Estação Marinha de Aquacultura Prof. Marcos Alberto Marchiori (EMA), do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS.

Pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* da linhagem *Speed Line* foram obtidas da empresa Aquatec Industrial Pecuária LTDA (Rio Grande do Norte). Ao chegarem na EMA as PLs foram transferidas para o setor de berçário onde permaneceram por um mês até serem estocadas em um cultivo super-intensivo de camarões com sistemas de bio-flocos. Os camarões foram cultivados em uma densidade de 300 camarões/m² durante o período de dois meses até atingirem peso médio de aproximadamente 12 gramas. Os animais usados no estudo (11,96±1,14g) foram transferidos para as unidades experimentais (figura 2), onde permaneceram por um dia em período de aclimação.

3.2. Condições de cultivo

3.2.1. Sistema experimental (microcosmos)

O experimento foi conduzido em uma estufa fechada “greenhouse”. Nesta estufa estava sendo conduzido o cultivo super-intensivo de *L. vannamei* (tanque matriz figura 1). Este cultivo foi realizado sem renovação de água, na densidade de 300 camarões/m². O tanque continha substratos artificiais verticais (100% da área de fundo) para aumentar a área de superfície para desenvolvimento de biofilme e nitrificação (Ballester *et al.* 2007).

Ao lado do tanque matriz foi montado um sistema de recirculação de água contendo 12 tanques (microcosmos) com área de fundo de 0,5 m² e capacidade de 200 litros úteis (figura 2). O suprimento de ar foi feito através de um soprador (“blower”) de 4,5 CV, e a água foi bombeada do tanque matriz para as unidades experimentais por meio de uma bomba submersa em uma vazão de 6,6 L/min por tanque, o que equivale a 48 recirculações da água por dia. A saída de água ocorreu por gravidade, em uma calha, instalada na saída dos tanques, que redirecionava a água até o tanque matriz.

Em cada microcosmo foi adicionado substratos artificial na posição vertical (tela de polietileno com abertura de malha de 1,0 mm) com superfície equivalente a 50% da área de fundo do tanque. Os substratos artificiais foram colocados no tanque matriz 15

dias antes da estocagem nos microcosmos, propiciando assim uma pré-fixação do biofilme (Ballester *et al.* (2003). Os tanques foram cobertos com tela de nylon para evitar escapes.

Nos tanques, foram distribuídos os 4 tratamentos, com três repetições cada, com as densidades de 150, 300, 450 e 600 camarões/m² denominados respectivamente de T150, T300, T450 e T600.

3.2.2. Fertilização orgânica

No tanque matriz foi realizada fertilização orgânica através da adição de farelo de trigo e melaço de cana-de-açúcar. Esta fertilização tinha o objetivo de aumentar a relação C:N. Para a adição do melaço foi utilizado um cálculo baseado nos trabalhos de Ebeling *et al.* (2006) e Avnimelech (1999), no qual foi determinado que 6 g de carbono são necessários para converter 1 g de NAT (nitrogênio amoniacal total) em biomassa bacteriana.

3.2.3. Alimentação

Durante o experimento os camarões foram alimentados três vezes ao dia (08:00, 12:00 e 18:00 h) com ração comercial extrusada 38 % de PB (Guabi[®]). A taxa de arraçoamento inicial foi igual a 2,6% da biomassa total de camarões do tanque (Jory *et al.* 2001) sendo esta taxa posteriormente ajustada de acordo com o consumo dos camarões. A ração foi fornecida em bandejas de alimentação de acordo com a metodologia descrita por Wasielesky *et al.* (2006a). A cada 15 dias, 30 camarões foram coletados aleatoriamente de cada unidade experimental e pesados individualmente em balança de precisão de 0,01g. Depois de pesados, os camarões retornaram para seus respectivos microcosmos.

O fator de conversão alimentar foi determinado baseado no ganho de peso, sobrevivência, consumo alimentar, perdas por lixiviação e teor de umidade inicial da ração. No final do experimento os camarões remanescentes em cada unidade experimental foram contados para determinar as taxas de sobrevivência e calcular a biomassa.



Figura 1 – Tanque matriz de flocos

Figura 2 – Unidades experimentais

Foto: Adriana Ferreira

3.3. Parâmetros de qualidade de água

Foram monitorados diariamente, nos períodos da manhã e da tarde, as variáveis de temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e transparência do tanque matriz de flocos. A temperatura foi aferida por meio de um termômetro de mercúrio. Para a salinidade, utilizou-se um refratômetro óptico (Atago).

Nas medidas de pH, foi usado o pHmetro (modelo DMpH-1, Digimed). Para o oxigênio dissolvido e transparência foram utilizados o oxímetro (modelo Handylab OXI/SET, Schott) e disco de secchi respectivamente.

A adição de aproximadamente 40g de HIDROPh⁺® (carbonato de sódio)/m⁻³ foi implementada no tanque matriz quando registrados valores de pH inferiores a 7 e valores de alcalinidade inferiores a 100 mg CaCO₃.

As concentrações de amônia (N-NH₃ + NH₄⁺), (UNESCO, 1983) foram analisadas em dias alternados. Já para os valores de nitrito (N-NO₂), nitrato (N-NO₃), fosfato (P-PO₄), alcalinidade (Strickland & Parsons, 1972) foram analisados a cada sete dias. Este mesmo intervalo foi mantido para a análise de clorofila *a*, sólidos suspensos totais (Strickland & Parsons 1972) e volume do floco ml/L (VF) cone InHoff, (Eaton *et al.* 1995 adaptado por Avnimelech 2007).

3.4. Peso seco, clorofila *a* e caracterização da comunidade microbiana

A cada quinze dias, foram realizadas amostragens de dois pedaços de 2 x 2 cm do substrato artificial de cada unidade experimental (microcosmo), coletados junto a superfície e no fundo para que fosse feita a determinação das concentrações de clorofila *a*, peso seco do biofilme e identificação e quantificação dos grupos de organismos presentes.

O peso seco foi determinado por meio de secagem em estufa a 60 °C, de pedaços de tela com biofilme por aproximadamente 24 horas, até alcançar peso constante, (AOAC 2000). O peso seco do biofilme foi obtido pela subtração do peso final da tela com biofilme, menos o peso inicial da tela sem biofilme. Para avaliar os níveis de clorofila *a* do biofilme foram amostrados fragmentos (2 x 2 cm) de tela dos dois estratos (superfície e fundo). Estes foram colocados em 10 ml de acetona 90% (Merck® PA) e armazenados por 24 horas no escuro, a -12 °C. Após esse período, as concentrações de clorofila *a* foram determinadas em um fluorímetro (Turner D700) calibrado com clorofila *a* pura (Sigma®). Os resultados (ml/L) foram convertidos de acordo com a área do substrato.

Para a contagem de flagelados, diatomáceas, cianobactérias filamentosas, nematódeos e rotíferos foram retirados fragmentos (2 x 2 cm) de tela dos estratos da superfície e do fundo. As amostras foram fixadas em solução de formol 4 %. Para retirar e homogeneizar o biofilme aderido aos fragmentos das panagens, as amostras foram sonificadas utilizando um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Homogenizer 4710 Series, ColeParmer Instrument Co.) a uma amplitude de 20 khz, três vezes por 10 a 15 segundos, intercalando tempo igual de descanso para evitar o aquecimento da amostra, (Thompson *et al.* 2002).

Para caracterização dos grupos e contagem de microrganismos, subamostras que variaram de 0,5 a 2 ml foram levadas à câmara de sedimentação, na qual permaneceram por no mínimo 2 horas para posterior contagem. Nesse processo foi utilizado um microscópio invertido Zeiss Axiovert equipado com contraste de fase (Utermöhl, 1958). Na contagem dos microrganismos, foram computados 30 campos por câmara, escolhidos aleatoriamente.

Na matriz de flocos foram coletadas amostras de água (50 ml) semanalmente. Para cada amostra foram determinadas, peso seco, clorofila *a* e abundância dos grupos

de microrganismos. O peso seco foi determinado por diferença do peso de filtros de fibra de vidro antes e após a filtração do material em suspensão (Strickland & Parsons, 1972) e a concentração de clorofila *a* foi determinada de acordo com Welschmeyer (1994).

Com relação à enumeração de microrganismos amostras da água foram fixadas em formol (4%) tamponado com borax e depositados em frasco âmbar, para posterior análise. Alíquotas dessas amostras foram colocadas em câmaras de sedimentação de 2,1 ml (Thronsen, 1978). As análises das contagens de microrganismos também seguem a mesma metodologia utilizada para o biofilme.

3.5. Composição Proximal

A cada 15 dias foram coletadas amostras do material floculado do tanque matriz, para posterior análise da composição proximal. Essas amostras foram obtidas a partir da filtragem da água da matriz de flocos em malha de 50 µm. As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal – LNA da Universidade Federal de Pelotas – UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul, segundo os protocolos da AOAC (2000).

3.6. Análise do conteúdo estomacal

Com o objetivo de determinar a seletividade do camarão por determinados itens encontrados no biofilme (superfície e fundo) e matriz de flocos, foram feitas coletas do proventrículo dos camarões nos diferentes tratamentos a cada quinze dias. Depois da remoção do proventrículo o conteúdo estomacal foi removido e fixado em formalina a 2%. A contagem dos microrganismos do conteúdo estomacal segue a mesma metodologia descrita acima para o biofilme.

3.7. Análises estatísticas

Depois de constatada a homocedasticidade das variâncias e a normalidade dos dados de desempenho dos camarões (biomassa final, ganho de peso, crescimento, conversão alimentar), concentração de clorofila *a*, peso seco e contagem de microrganismos nos diferentes tratamentos, foi aplicada análise de variância (ANOVA, $\alpha = 0,05$) para verificar se existiam diferenças significativas entre as médias dos resultados. Sendo registradas diferenças entre as médias dos diferentes tratamentos

foi aplicado o Teste de Tukey na análise *a posteriori* para a visualização das diferenças entre os tratamentos (Sokal & Rohlf, 1969), O “*software*” utilizado foi Statistica 6.0.

A análise de correlação foi feita considerando os microorganismos do conteúdo estomacal e os microorganismos do biofilme (superfície e fundo) e matriz de flocos. Para tanto foi utilizado à análise de correlação a fim de verificar se a quantidade de microorganismos presentes no conteúdo estomacal estava relacionada com a abundância de microorganismos no biofilme (superfície e fundo) e/ou matriz de flocos. Para essa análise, utilizou-se o teste de Correlação de Pearson, coeficiente de Pearson *r*.

4. Resultados

4.1. Parâmetros de qualidade de água

Os valores médios (\pm DP), valores mínimos e máximos dos parâmetros de qualidade de água do tanque matriz são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Médias (\pm DP) valores mínimos e máximos dos parâmetros de qualidade do tanque matriz durante o período experimental

Parâmetros	Médias (\pm DP)	Mínimo	Máximo
Temperatura ($^{\circ}$ C)	28,62 \pm 0,99	26	32
Salinidade	31,37 \pm 0,93	30	33
OD (mg L ⁻¹)	5,00 \pm 0,51	4,20	6,60
pH	6,93 \pm 0,35	5,99	7,41
Secchi (cm)	12,53 \pm 1,80	10	15
NAT (mg L ⁻¹)	0,06 \pm 0,01	0,04	0,18
N- NO ₂ (mg L ⁻¹)	0,56 \pm 0,24	0,18	0,93
N- NO ₃ (mg L ⁻¹)	17,25 \pm 3,30	14,0	21,0
P-PO ₄ (mg L ⁻¹)	0,03 \pm 0,01	0,01	0,03
Alcalinidade (mg L ⁻¹ CaCO ₃)	76,85 \pm 21,51	50,0	110,0
SST (mg L ⁻¹)	259 \pm 90,0	127,0	357
VF (ml L ⁻¹)	19,14 \pm 5,9	13,0	29,0
Chl α (μ g L ⁻¹)	140,69 \pm 50,0	46,3	201,5

OD= oxigênio dissolvido, NAT= nitrogênio amoniacal total, N- NO₂= nitrito, N- NO₃=nitrato, P-PO₄= fosfato, SST= sólidos suspensos totais, VF= volume do floco, Chl α =clorofila α

4.2. Desempenho dos camarões

O incremento da densidade de estocagem ocasionou uma redução significativa no peso médio final dos camarões ($p < 0,05$) (Tabela 2). As progressões do crescimento em peso estão expressas na figura 3. A sobrevivência foi semelhante entre os tratamentos T150 e T300 (99,1 e 97,55%), as quais foram superiores aos tratamentos T450 e T600 (75,1 e 49,33%), diferindo significativamente. Em relação a TCA (Taxa de Conversão Alimentar), não houve diferença significativa entre os tratamentos T300 e T450 ($p > 0,05$). Observou-se uma conversão mais baixa no tratamento T150 enquanto que o tratamento T600 apresentou a conversão mais alta, sendo os dois tratamentos diferentes entre si e diferentes dos tratamentos T300 e T450. O crescimento semanal foi maior para todos os tratamentos a partir do 15º dia experimental, diferindo ao longo do tempo. A biomassa final no tratamento T450 ($5,1 \pm 0,40 \text{ kg m}^{-2}$) apresentou o maior valor em relação aos outros tratamentos, sendo diferente estatisticamente, ($p < 0,05$). A densidade final dos camarões após os 45 dias experimentais foi diferente significativamente apenas para o tratamento T150 quando comparado com os demais.

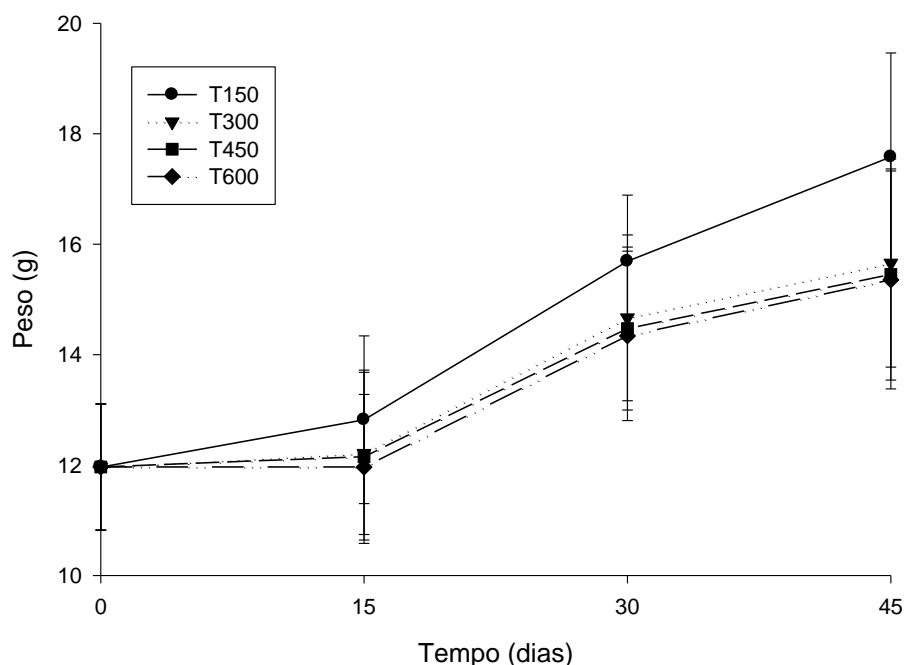


Figura 3. Crescimento em peso (g) ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos em sistema super-intensivo

Tabela 2. Parâmetros zootécnicos: peso médio final, taxa de sobrevivência, fator de conversão alimentar (TCA), crescimento semanal, biomassa final e densidade final dos camarões *L. vannamei* nos diferentes tratamentos em sistema super-intensivo

Tratamentos	Peso final (g)	Sobrevivência (%)	TCA	Cresc. Sem (g/sem)	Biom. final (kg m ⁻²)	Densidade final Camarões m ⁻²
T150	17,58 ± 1,88 ^a	99,1 ± 1,15 ^a	1,54 ± 0,07 ^a	0,93±0,03 ^a	2,6 ± 0,30 ^a	148,7±1,15 ^a
T300	15,65 ± 1,89 ^b	97,55 ± 4,04 ^a	1,66 ± 0,04 ^b	0,62±0,05 ^b	4,5 ± 0,35 ^b	292,8±4,04 ^b
T450	15,45 ± 1,91 ^b	75,1 ± 15,70 ^b	1,72 ± 0,03 ^b	0,58±0,07 ^b	5,1 ± 0,40 ^c	337,9±15,70 ^b
T600	15,35 ± 1,97 ^b	49,33 ± 21,0 ^c	2,12 ± 0,03 ^c	0,57±0,10 ^b	4,5 ± 0,45 ^b	295,8±21,0 ^b

Os dados são médias ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente (p>0,05).

4.3. Peso seco, clorofila *a* e caracterização dos microorganismos do biofilme

O peso seco do biofilme (estrato superfície) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, durante todo o período experimental (Figura 4). Em relação ao peso seco do biofilme (estrato fundo). Foram encontradas diferenças significativas apenas no último dia experimental, entre o T300 com os demais tratamentos.

Para a concentração de Chl *a* no estrato da superfície não foi detectada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos durante todo o período experimental. Não houve diferença significativa (p>0,05) na concentração de Chl *a* entre os tratamentos no estrato do fundo, porém a concentração de Chl *a* variou com o tempo nos tratamentos T300 e T450.

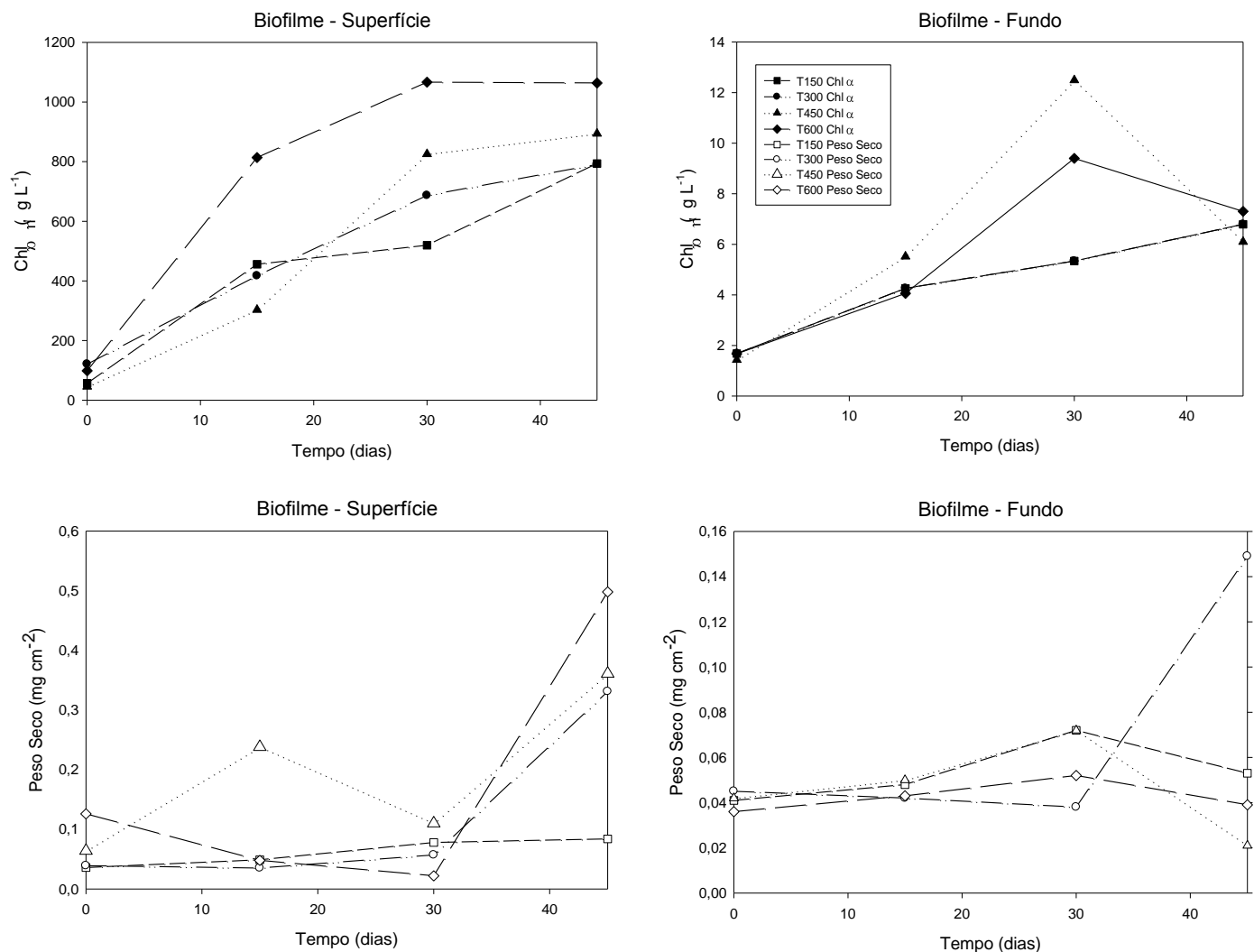


Figura 4. Clorofila α e peso seco (Superfície e Fundo) do biofilme nas diferentes densidades de estocagem ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* em sistema super-intensivo

Com relação aos microorganismos, os ciliados, flagelados e diatomáceas penadas foram os mais abundantes no biofilme (Figura 5). Além desses, foram encontrados em menor quantidade diatomáceas cêntricas, rotíferos, nematódeos e cianobactérias filamentosas. No 15º dia os ciliados do tratamento T150 estrato do fundo do biofilme foi diferente significativamente dos demais tratamentos. Já no estrato da superfície, os ciliados do tratamento T450 apresentaram diferenças significativas em relação aos demais tratamentos.

Os flagelados do tratamento T450 estrato do fundo do biofilme diferiu dos demais tratamentos no segundo e terceiro dia amostral (15ª e 30ª dia), já no estrato da superfície, não houve diferenças entre os tratamentos durante todo o período experimental. As diatomáceas penadas do fundo foram mais abundantes comparadas

com as da superfície. No estrato do fundo o tratamento T450 diferiu dos demais tratamentos no segundo dia amostral. No estrato da superfície não houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os tempos experimentais (Figura 5).

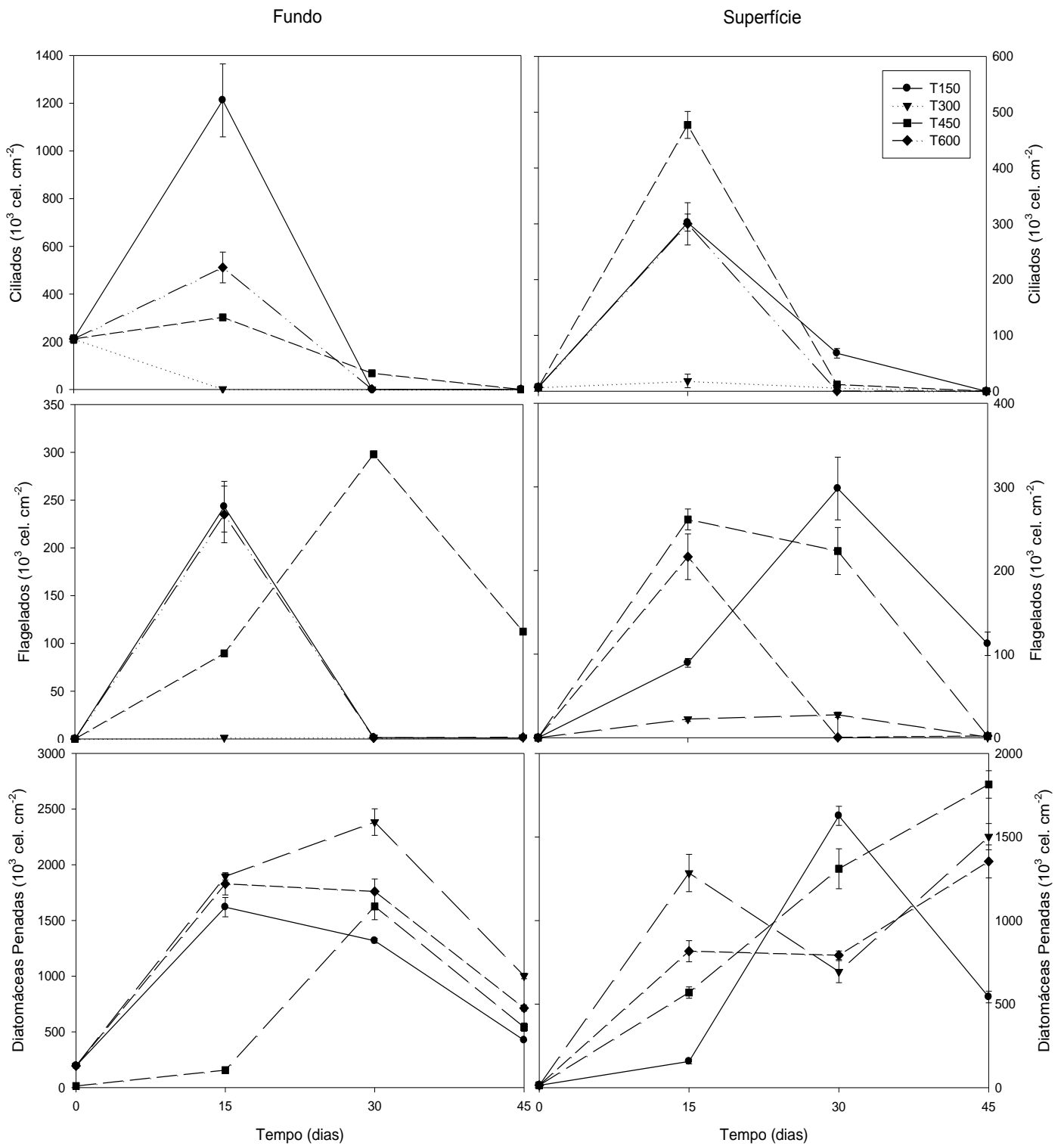


Figura 5. Abundância de ciliados, flagelados e diatomáceas penadas (Fundo e Superfície) do biofilme ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* nos diferentes tratamentos em sistema super-intensivo

4.4. Matriz de flocos (caracterização dos flocos)

Os valores médios da composição proximal dos flocos podem ser vistos na Tabela 3. O conteúdo de lipídeos (extrato etéreo) no início do experimento foi alto comparado com os outros períodos de coleta. Já para o valor de ENN (extrativo não nitrogenado) podemos observar que houve um decréscimo no último dia. O conteúdo de proteína bruta (PB) foi constante em todos os tempos amostrais. A análise revelou altos valores de cinzas no início do experimento com um pequeno decréscimo nos primeiros quinze dias experimentais e um aumento no final do período experimental. Para o valor de fibra bruta o comportamento foi oposto, iniciando com baixos níveis, um leve aumento nos primeiros quinze dias e um decréscimo no final do experimento.

Tabela 3. Percentual (%) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), extrativo não nitrogenado (ENN), fibra bruta (FB) e cinzas da matriz de flocos

Tempo (dias)	PB (%)	EE (%)	ENN*(%)	FB (%)	Cinzas (%)
0	23,9	7,15	22,16	10,76	36,03
15	25,29	3,77	25,81	21,95	23,18
30	23,71	2,29	24,03	6,51	43,46
45	23,8	2,48	10,16	8,05	55,51

*Estimado por diferença [100 – (PB + EE + FB + Cinzas)]

Os valores médios (\pm erro padrão) dos microrganismos encontrados na matriz de flocos estão apresentados na tabela 4. Os ciliados, flagelados e diatomáceas penadas foram dominantes durante todo o período experimental, sendo que o flagelado foi o mais abundante entre os três. Pode-se notar que o número de flagelados foi significativamente diferente ($p > 0,05$) dos demais microrganismos no último dia amostral, apresentando um pico (Figura 6).

Tabela 4. Médias (\pm erro padrão) dos microorganismos encontrados na matriz de flocos ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* em sistema super-intensivo

Abundância de Microorganismos	Tempo (dias)			
	0	15	30	45
Ciliados 10^4 organismos/ml	7,76 \pm 0,25	54,98 \pm 0,64	9,20 \pm 0,19	3,61 \pm 0,25
Rotíferos 10^4 organismos/ml	3,25 \pm 0,10	1,81 \pm 0,15	2,17 \pm 0,10	10,65 \pm 0,60
Diatomáceas Penadas 10^4 cel/ml	9,57 \pm 0,25	4,51 \pm 0,15	8,12 \pm 0,10	4,33 \pm 0,10
Diatomáceas Cêntricas 10^4 cel/ml	2,57 \pm 0,15	ND	ND	1,62 \pm 0,54
Flagelados 10^4 organismos/ml	6,50 \pm 0,19	35,02 \pm 0,45	18,60 \pm 0,40	110,68 \pm 7,68
Amebóides 10^4 organismos/ml	5,40 \pm 0,20	ND	ND	3,40 \pm 0,15

ND= não detectado

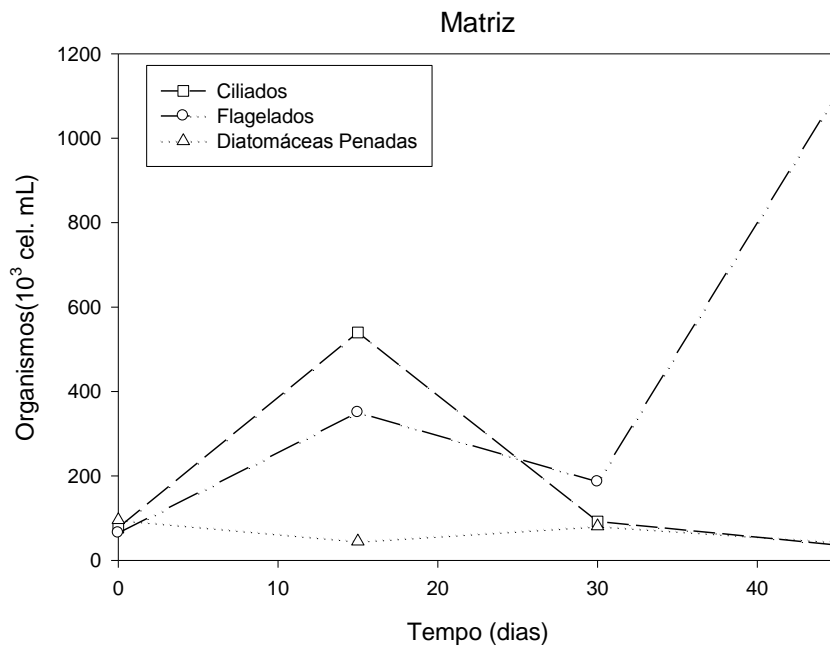


Figura 6- Abundância de ciliados, flagelados e diatomáceas penadas da matriz de flocos ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* em sistema super-intensivo

4.5. Conteúdo estomacal

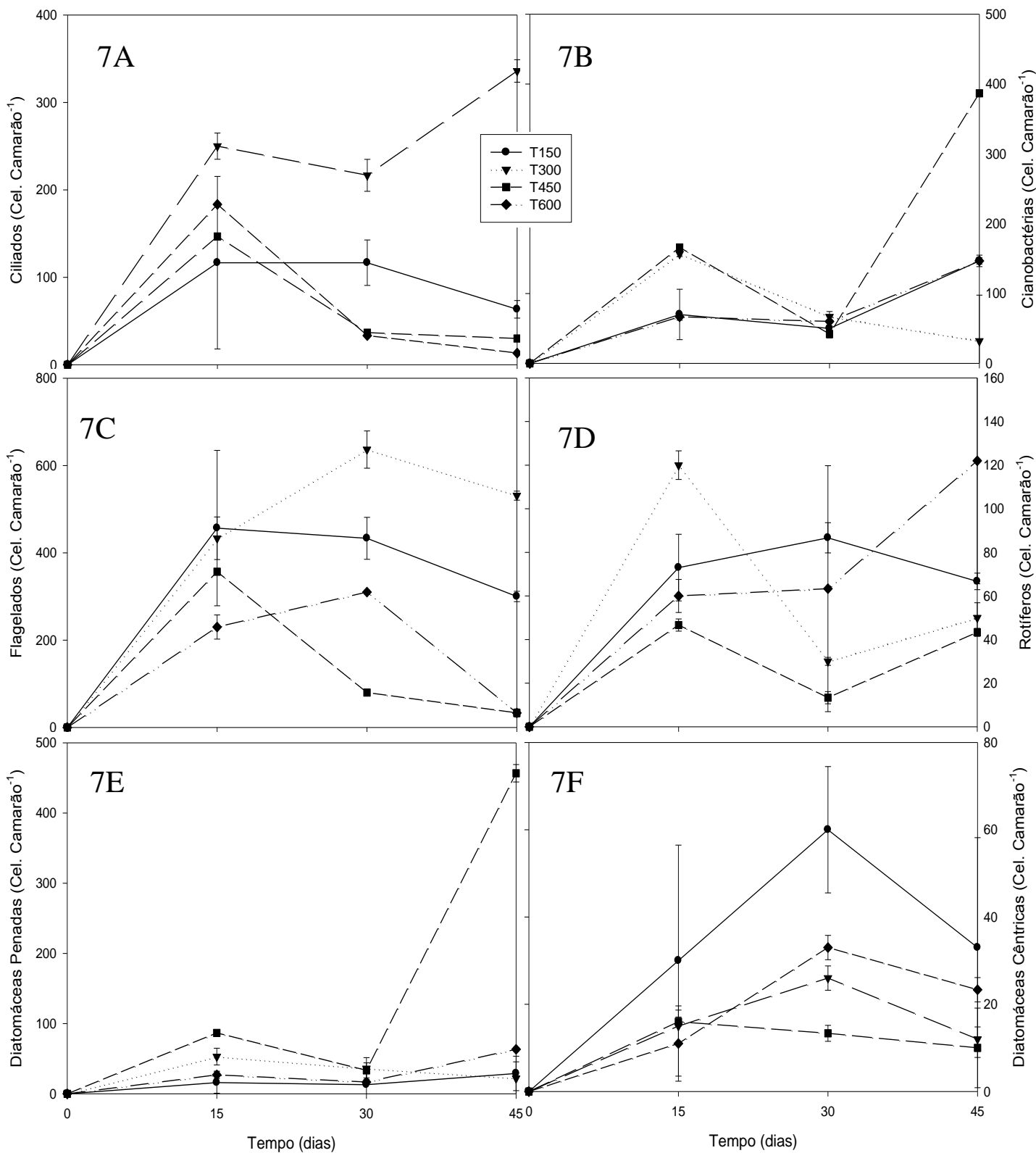
A tabela 5 ilustra as correlações entre os microrganismos do conteúdo estomacal com os microrganismos presentes no biofilme (fundo e superfície) e matriz de flocos, a figura 7 apresenta os microrganismos presentes no conteúdo estomacal dos camarões nos diferentes tratamentos ao longo do tempo.

Foi observado por meio da análise de correlação que os ciliados do fundo e superfície apresentaram uma correlação positiva, alta e significativa com os ciliados encontrados no conteúdo estomacal, o mesmo aconteceu para os ciliados da matriz. Os rotíferos apresentaram correlação positiva tanto no biofilme (superfície e fundo) quanto na matriz de flocos, porém no biofilme (superfície) a correlação foi alta e significativa. A correlação entre as diatomáceas penadas do biofilme (superfície e fundo) foram positivas, porém baixas, já a correlação com as diatomáceas penadas da matriz foi negativa. As diatomáceas cêntricas apresentaram correlação baixa no biofilme e correlação negativa na matriz de flocos. Em relação aos flagelados pode-se observar que no biofilme (fundo) houve uma correlação positiva, alta e significativa. As cianobactérias apresentaram correlação positiva e alta na superfície do biofilme, já no fundo a correlação foi positiva, porém baixa. Não foram encontradas cianobactérias na matriz de flocos.

Tabela 5. Correlação de Pearson (coeficiente de Pearson, r) entre as quantidades de microrganismos do conteúdo estomacal com os microrganismos presentes no biofilme (fundo e superfície) e na matriz de flocos na fase final de engorda de *L. vannamei* em sistema super-intensivo

Microorganismos do conteúdo estomacal	Biofilme		Matriz de Flocos
	Superfície	Fundo	
Ciliados	0,77	0,59	0,71
Rotíferos	0,85	0,09	0,39
Diatomáceas Penadas	0,13	0,44	- 0,55
Diatomáceas Cêntricas	0,02	0,33	- 0,47
Flagelados	0,52	0,18	- 0,16
Cianobactérias filamentosas	0,52	0,03	ND

ND- não detectado



Figuras 7 - Abundância de ciliados (7A), cianobactérias filamentosas (7B), flagelados (7C), rotíferos (7D), diatomáceas penadas (7E) e diatomáceas cêntricas (7F) do conteúdo estomacal nos diferentes tratamentos ao longo do tempo na fase final de engorda de *L. vannamei* em sistema super-intensivo

5. Discussão

5.1. Parâmetros físico-químicos da água de cultivo

Durante o período experimental os valores médios de temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, mantiveram-se dentro da faixa ideal para o bom desenvolvimento da espécie. Já os resultados de pH ($6,93 \pm 0,31$) e alcalinidade ($76,85 \pm 21,51$ mg/L), em alguns momentos estiveram abaixo do ótimo para espécie. Os valores ótimos de pH e alcalinidade para o melhor crescimento do *L. vannamei* encontram-se na faixa de 7-8,3 e ≥ 100 mg/L, respectivamente (Van Wyk & Scarpa, 1999).

As mudanças no pH determinam a estabilidade dos flocos presente em viveiros (Mikkelsen *et al.* 1996). No presente estudo, durante os primeiros quinze dias experimentais, a taxa de crescimento dos camarões foi menor em relação aos outros períodos (figura 3). Provavelmente os baixos valores de pH observados durante este período possam ter influenciado neste resultado. Entretanto, após aplicação do HIDROPh+® (carbonato de sódio) os valores mantiveram-se dentro da faixa ótima para a espécie estudada. Wasielesky *et al.* (2006b) estudando o efeito do pH em meio aos flocos microbianos, observaram que níveis de pH abaixo de 7 diminuiram o crescimento do *L. vannamei*.

Baixos valores de pH em sistemas de bio-flocos podem ser decorrentes da respiração dos microrganismos e/ou da elevada densidade de camarões no sistema de cultivo (Wasielesky *et al.* 2006a). Decamp *et al.* (2007) estudando diferentes densidades de estocagem observaram que o aumento das densidades refletiram na queda do pH ao longo do cultivo de *L. vannamei*. Isto acontece devido à maior entrada de alimento no sistema, associada com o rápido acúmulo do material em suspensão e metabólitos.

Os níveis de alcalinidade também estiveram abaixo dos indicados para a espécie ($76,85 \pm 21,51$ mg/L). A alcalinidade deve ser mantida acima de 100 mg/L de CaCO₃ para minimizar flutuações de pH. Isso provavelmente ocorreu devido ao intenso processo de decomposição e respiração resultada da liberação de CO₂ que por hidrólise origina ácido carbônico e íons de hidrogênio (Van Wyk & Scarpa 1999). Além disso os camarões incorporam CaCO₃ na carapaça durante o seu desenvolvimento removendo este composto da água.

As concentrações médias de nitrogênio amoniacal total NAT ($0,11\pm 0,05$), nitrito NO_2 ($0,56\pm 0,24$), nitrato NO_3 ($17,25\pm 3,30$) também estão dentro dos limites aceitos para o cultivo do *L. vannamei*. (Lin & Chen 2001, 2003). Portanto acredita-se que estes parâmetros não limitaram o crescimento e a sobrevivência dos camarões cultivados.

Os valores de clorofila *a* encontrados na matriz de flocos oscilaram entre 46,3 e 201,5 $\mu\text{g/L}$, valores estes inferiores aos encontrados por Godoy (2008) no qual observou valor médio de clorofila *a* (343,30 $\mu\text{g/L}$). O autor afirma que o grande número de cianobactérias presentes no meio aos flocos microbianos contribuiu para este maior valor, porém no estudo em questão não foi observado este microorganismo na matriz de flocos. Em relação aos SST, Samocha *et al.* 2007 recomendam valores abaixo de 500 mg/L para que seja mantida uma densidade aceitável de flocos microbianos. No presente estudo, como pode ser observado na tabela 1, o valor de SST encontra-se de acordo com o recomendado.

5.2. Desempenho dos camarões

Diversos estudos indicam existir uma relação inversa entre a densidade de estocagem e o desempenho zootécnico do camarão em aquicultura (Williams *et al.* 1996, Wasielesky *et al.* 2001, Moss & Moss 2004, Krummenauer *et al.* 2006, Preto *et al.* 2005, Otoshi *et al.* 2007). Moss & Moss (2004), trabalhando com diferentes densidades de estocagem para cultivo de *L. vannamei* na fase de berçário com uso de substratos artificiais afirmam que a principal causa desta relação negativa ainda é desconhecida. Isto acontece principalmente devido a dificuldade de separar os efeitos do comportamento do camarão, da relativa qualidade de água, condições de fundo de viveiro e disponibilidade de alimento. Os autores ainda citam que mesmo se estas condições forem mantidas o comportamento antagônico do camarão ainda pode suprimir o crescimento.

Otoshi *et al.* (2007) na tentativa de separar estes efeitos utilizando altas densidades de estocagem em sistema de recirculação, também verificaram esta relação inversa entre densidade de estocagem, crescimento e sobrevivência dos camarões. Os autores fizeram dois estudos, primeiramente utilizando uma baixa densidade de estocagem (200 camarões/ m^2) e outra alta (400 camarões/ m^2) na tentativa de verificar se existia uma relação inversa, e um segundo experimento, onde foram separados os

efeitos da qualidade de água sobre a relativa densidade de estocagem, separando fisicamente os camarões através de uma tela de polietileno, utilizando densidades de estocagem de 100 e 600 camarões/m² em água de qualidade de 200 e 400 camarões/m².

Desta forma observou-se que na menor densidade (200 camarões/m²), a sobrevivência foi de 80,9±2,94% enquanto que na maior densidade (400 camarões/m²) obteve-se 73,3±1,03%. Os dados de biomassa final encontrados foram de 3,6±0,23 e 5,1±0,13 Kg/m² para as densidades de 200 e 400 camarões/m² respectivamente, com camarões estocados com aproximadamente 3g. Estes resultados foram semelhantes aos do presente estudo, exceto para o ganho de peso final que foi superior no trabalho mencionado (22,4 ± 0,92 para 200 camarões/m² e 17,1 ± 0,28 para 400 camarões/m²). Provavelmente a estocagem dos camarões com maior peso inicial e o menor tempo de cultivo possa ter influenciado neste resultado inferior.

Para o segundo estudo realizado por Otoshi *et al.* (2007), foi observado que nas menores densidades 100/200 e 100/400 (i.e 100 camarões/m² cultivados em água de 200 e 400 camarões/m²) os camarões cresceram mais comparados com as densidades maiores de 600/200 e 600/400 (i.e 600 camarões/m² cultivados em água de 200 e 400 camarões/m²). Os autores ainda afirmam que os parâmetros de qualidade de água foram monitorados rotineiramente em todos os tratamentos e que não apresentaram diferenças. No presente trabalho assim como no trabalho citado, os resultados demonstram que as altas densidades utilizadas também impactaram negativamente o crescimento dos camarões, mesmo tendo sido mantida a mesma qualidade de água para todos os tratamentos.

Os resultados do presente estudo indicam que, assim como na fase de larvicultura e berçário, também na fase final de engorda em meio heterotrófico o crescimento e a sobrevivência dos camarões *L. vannamei* é dependente da densidade.

McAbee *et al.* (2003) utilizando densidades iniciais de estocagem de 300 camarões/m² obtiveram uma biomassa final de 3 kg/m² e sobrevivência de 70% na fase de engorda. Os melhores resultados para estes parâmetros encontrados no presente estudo na densidade de 300 camarões/m² (4,5 kg/m² e 97,55%) biomassa final e sobrevivência, respectivamente, provavelmente foram devido ao uso dos substratos artificiais. Isto se deve por estes provirem uma maior área relativa, melhorando a qualidade de água e também por complementar a dieta dos camarões.

Otoshi *et al.* (2008) reportam produção de 10,3 kg/ m² com camarões estocados na densidade inicial de 828 camarões/m² e densidade final de 562 camarões/m² em sistema heterotrófico, sendo este até o momento densidade recorde já reportado. Entretanto este estudo foi realizado com o uso de altos recursos tecnológicos como oxigênio injetável, filtros biológicos e alimento específico para camarões em sistema bio-flocos o que provavelmente contribuíram para este resultado.

As maiores densidades testadas no presente estudo T450 e T600 apresentaram biomassa final de 5,1 e 4,5 kg/m² e sobrevivência de 75,11 e 49,33%, respectivamente. Observando os dados de densidade final (tabela 2) podemos concluir que, exceto no T150, nos demais tratamentos as densidades chegaram a um valor entre 292,8 – 337,9 camarões/m².

O crescimento semanal variou entre os tratamentos testados, sendo observada uma relação inversa entre densidade de estocagem e crescimento semanal (tabela 2). No 30º dia experimental foram observadas diferenças ao longo do tempo para todos os tratamentos. Os valores baixos de pH no início do experimento, como já mencionado, provavelmente causaram este menor crescimento dos camarões. McAbee *et al.* (2003) utilizando densidades de estocagem de 300 camarões/m² obtiveram crescimento de 1,44 gramas por semana. No presente estudo o tratamento T300 apresentou média final de 0,62 ± 0,05g/semana. No 30º dia experimental foi observada média de 1,23± 0,09g para este mesmo tratamento. Provavelmente, devido ao baixo crescimento registrado nos primeiros dias de cultivo a taxa de crescimento média final foi afetada.

Sabe-se que a espécie *L. vannamei* utiliza os flocos microbianos como fonte de alimento suplementar o que melhora a utilização do alimento e reduz a taxa de conversão alimentar (FCA) (Burford *et al.* 2003). As taxas de conversão alimentar mais eficientes registradas para os tratamentos T150, T300 e T450 estão provavelmente associadas com a disponibilidade da produtividade natural do biofilme e da matriz de flocos. O tratamento T600 apresentou uma conversão de 2,12± 0,03g, este alto valor se deve a maior quantidade de ração oferecida e ao baixo valor de sobrevivência registrada.

5.3. Substratos artificiais e biofilme

Diversas estratégias têm sido utilizadas para mitigar os efeitos das altas densidades de estocagem, dentre elas o uso de substratos artificiais para formação do biofilme. Thompson *et al.* (2002), em um estudo sobre a eficiência do biofilme para a manutenção da qualidade de água em tanques de cultivo, demonstraram que a diminuição da concentração de amônia está relacionada, principalmente, à absorção deste elemento pelas microalgas e cianobactérias presentes no biofilme. O substrato artificial também pode servir para aumentar a área disponível para distribuição espacial dos camarões, evitando assim o canibalismo causado pela falta de espaço e por competição por alimento (Ballester *et al.* 2007, Arnold *et al.* 2006).

Em seu trabalho com diferentes substratos artificiais Bratvold & Browdy (2001), levantaram a hipótese de que o uso dos substratos teria efeito sobre o aumento da superfície dos tanques de cultivo, (redução da densidade relativa) evitando o estresse dos camarões e colaborando para uma maior produção. Outra vantagem do uso dos substratos é seu importante papel como fonte de alimento para os camarões. (Thompson *et al.* 2002, Moss & Moss 2004). Moss & Moss 2004 relatam que com uso de substratos artificiais foi possível incrementar o crescimento e melhorar a conversão alimentar dos camarões cultivados. No presente estudo os valores de TCA (taxa de conversão alimentar) estimados (camarões acima de 12g) revelam que os camarões provavelmente se alimentaram do biofilme. Estes dados foram confirmados através da análise do conteúdo estomacal que revelou a preferência do camarão por alguns itens encontrados no biofilme. Cabe salientar que não houve um tratamento controle (sem substrato), o que poderia fortalecer este resultado.

As análises de peso seco do biofilme, da contagem dos microrganismos do biofilme e posteriormente da contagem dos microrganismos do conteúdo estomacal revelaram que os camarões “pastaram” sobre o biofilme. No tratamento T450 o estrato de fundo do biofilme apresentou um menor valor de peso seco em relação aos demais tratamentos, demonstrando que os camarões deste tratamento provavelmente utilizaram o biofilme como fonte de alimento com maior intensidade, o que pode explicar os maiores resultados de biomassa final encontrados para os camarões deste tratamento.

Os valores altos de clorofila *a* do biofilme, encontrados no presente estudo indicam a grande abundância da comunidade de microalgas, o que foi confirmado com a

contagem dos microrganismos. Thompson *et al.* (2002), sugeriram que o grau de maturidade do biofilme pode ser medido pela concentração de clorofila *a*. Segundo os autores o biofilme pode ser considerado maduro quando apresenta uma concentração de $5\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de clorofila *a*. No presente estudo a concentração de clorofila *a*, exceto do primeiro dia experimental, manteve-se em valores superiores aos relatados, mostrando que o biofilme estava maduro (figura 4).

Durante os 45 dias experimentais a concentração de clorofila *a* em todos os tratamentos nos dois estratos tenderam a aumentar (figura 4). De acordo com Keshavanath *et al.* (2001), a presença de peixes se alimentando de biofilme causou o incremento da concentração de clorofila *a*. O fato dos peixes se alimentarem do biofilme fez com que fosse aberto espaço no substrato, permitindo o constante aumento da biomassa das microalgas. As altas concentrações de clorofila *a* observadas neste trabalho confirmam essa teoria, pois nas maiores densidades de estocagem foram encontradas as maiores concentrações de clorofila *a*.

5.4. Composições físico-químicas dos flocos microbianos

Em sistemas intensivos sem renovação de água, os microrganismos colonizam detritos orgânicos formando os flocos microbianos e estes complementam a dieta dos camarões reduzindo custos com alimentação (Wasielesky *et al.* 2006a). No presente estudo, além da ração oferecida, o camarão utilizou como fonte de alimento o biofilme e/ou floco microbiano. O valor nutricional dos flocos já foi estudado por diversos pesquisadores (McIntosh *et al.* 2000, Tacon *et al.* 2002, Wasielesky *et al.* 2006a, Ju *et al.* 2008).

No presente trabalho o percentual de lipídeo dos flocos ao longo dos quarenta e cinco dias experimentais foram muito superiores aos valores registrados por Wasielesky *et al.* (2006a) e Tacon *et al.* (2002), e mais próximos dos valores encontrado por Ju *et al.* (2008). Chamberlain *et al.* (2001) argumentaram que a composição de células microbianas em flocos suspensos varia muito dependendo dos microrganismos específicos e das condições sob as quais estes estão crescendo. Este mesmo autor sugere que, em certo grau, esta biota que habita os flocos pode ser manipulada.

D'Abramo *et al.* (1997) recomendam níveis de 30-57% de proteína, 20% de carboidratos e ao redor de 10% de lipídeos em dietas para camarões, o mesmo autor

ressalta que não somente a quantidade de proteína é importante, mas a sua qualidade e digestibilidade por parte do organismo cultivado. Os níveis de proteína dos flocos do estudo em questão mantiveram-se pouco abaixo do encontrado por McIntosh *et al.* (2000) Tacon *et al.* (2002), Wasielesky *et al.* (2006a) e Ju *et al.* (2008). Entretanto os flocos foram apenas um complemento utilizado pelos camarões e mesmo com valores menores de proteína nos flocos os camarões obtiveram bom desempenho. Além disso, os flocos são alimentos naturais ricos em vitaminas, proteínas facilmente digestíveis, enzimas e apresentam uma atratividade pelos camarões. O percentual de cinzas do presente estudo foi considerado elevado, variando de (23,18 a 55,51), assim como nos trabalhos de Wasielesky *et al.* (2006a) e Ju *et al.* (2008) , (44,85%) e (18,3 a 40,7%) respectivamente.

5.5. Caracterizações da comunidade microbiana no biofilme, matriz de flocos e no conteúdo estomacal dos camarões

As contagens dos microrganismos realizadas neste trabalho mostraram uma variedade e abundância dos mesmos. Os microrganismos encontrados em maior abundância foram ciliados, flagelados e diatomáceas penadas.

Decamp *et al.* (2007), trabalhando com diferentes densidades de estocagem sobre o fracionamento do fitoplâncton e ciliados, observaram que o número de ciliados variou de acordo com o tempo e o tratamento, este mesmo padrão foi observada neste trabalho (Figuras 5 e 6). Os ciliados apresentam um importante papel na dieta de larvas de camarões (Thompson *et al.* 1999). Segundo Decamp & Nagano (2001), os ciliados e flagelados são fontes de ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs), esteróides e contém uma alta concentração intracelular de aminoácidos livres. Os valores de lipídeos total, acima daqueles encontrados na literatura, sugerem que no presente trabalho, os ciliados e flagelados possam ter influência na obtenção deste resultado.

No presente trabalho foi encontrada grande quantidade de diatomáceas no biofilme em todos os tratamentos. As diatomáceas assim como ciliados e flagelados são ricas em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) e também apresentam valor energético semelhante aos de alimentos de origem animal, como copépodes e poliquetas (O'Brien 1994).

A análise do conteúdo estomacal revelou a presença de ciliados, flagelados, diatomáceas penadas, diatomáceas cêntricas, rotíferos e cianobactérias filamentosas. Foi observada uma preferência por ciliados, rotíferos e flagelados do biofilme bem como ciliados da matriz de flocos (Figura 5 e Tabela 4). Não foram encontrados nematódeos no conteúdo estomacal dos camarões, provavelmente, o chamado “efeito moinho”, (organismos triturados) tenha dificultado a visualização ao microscópio. (Schwamborn & Criaes, 2000). O nematódeo apresenta uma maior relação energia/proteína, e possui capacidade de síntese de ácidos graxos de cadeia longa enriquecendo a qualidade dos agregados microbianos, (apud Ballester *et al.* 2007).

As diatomáceas encontradas no conteúdo estomacal apresentaram correlação baixa no biofilme e negativa na matriz de flocos. Mostrando que neste estudo os *L. vannamei* não foram seletivos para este organismo. Ballester *et al.* (2007) trabalhando com cultivo de *Farfantepenaeus paulensis* com e sem o uso de substratos artificiais, demonstraram que os mesmos foram seletivos para as diatomáceas cêntricas. Preto *et al.* (2005) estudando o efeito da densidade de estocagem sobre o biofilme e o desempenho do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* observaram a mesma seletividade por diatomáceas cêntricas. Provavelmente esta diferença esteja relacionada aos hábitos alimentares diferenciados de *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis*.

No presente estudo, o fato dos camarões ingerirem preferencialmente os rotíferos (tabela 5) fez com que aumentasse a densidade de sua presa natural (diatomáceas) propiciando assim um aumento do número de diatomáceas no biofilme. Burford *et al.* 2003, também observaram a pastagem do fitoplâncton por rotíferos e ciliados.

Na composição do biofilme e nos flocos do tanque matriz foram encontrados organismos que fazem parte da dieta preferencial dos camarões peneídeos. Esta preferência pode variar em termos de disponibilidade e do hábito alimentar de cada espécie (Nunes *et al.* 1997). Thompson *et al.* (1999) demonstraram a importância de microrganismos, particularmente ciliados e flagelados, na dieta de larvas de camarões *F. paulensis*.

Uma análise realizada por Silva *et al.* (2008) sobre a composição nutricional do biofilme, revelou que os microrganismos que contribuíram para as maiores concentrações de lipídio foram os flagelados, nematódeos e cianobactérias filamentosas,

já os que mais contribuíram para concentrações de proteína foram nematódeos e diatomáceas cêntricas. No presente estudo podemos observar que estes elementos estão presentes no biofilme analisado, e que provavelmente contribuíram para a dieta dos camarões.

Os resultados do presente estudo demonstraram que camarões *L. vannamei* na fase final de engorda, foram seletivos por rotíferos, flagelados do biofilme e ciliados do biofilme e dos flocos, demonstrando que os microorganismos são importantes fontes de alimento não somente nas fases iniciais de produção bem como na fase final de engorda dos camarões.

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstram que a sobrevivência e o crescimento de *L. vannamei* na fase final de engorda (acima de 12g) foram afetados com o aumento da densidade de estocagem mesmo tendo sido mantida qualidade de água semelhante para todos os tratamentos avaliados, confirmando que o efeito da densidade de estocagem sobre crescimento e sobrevivência é um efeito comportamental.

Foi observado por meio dos valores de peso seco do biofilme e análise do conteúdo estomacal que os camarões “pastaram” sobre o biofilme o que demonstra a importância do biofilme como suplemento alimentar para camarões mesmo quando o cultivo é realizado em meio a flocos microbianos ricos em microorganismos;

A análise de correlação evidenciou uma preferência dos camarões *L. vannamei* por rotíferos, flagelados do biofilme e ciliados biofilme/ flocos;

Os resultados evidenciam que a densidade de estocagem recomendada para o cultivo de *L. vannamei* fase final de engorda no sistema proposto deve ser entre 300 e 450 camarões/m².

7. LITERATURA CITADA

- ANDERSON, RK, PL PARKER, & A LAWRENCE. (1987). A $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Litopenaeus vannamei* in a pond growout system. *Journal World Aquaculture Society*, 18: 148-156.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16ed. Patricia Cunniff (editora), Washington, DC.
- ARNOLD, SJ, MJ SELLARS, PJ CROCOS & GJ COMAN, 2006. An evaluation of stocking density on the intensive production of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*). *Aquaculture*, 256: 174-179.
- 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.
- BALLESTER, ELC, WJR WASIELESKY, RO CAVALLI, MHS SANTOS & PC ABREU, 2003. Influência do biofilme no crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em sistemas de berçário. *Atlântica*, Rio Grande, 25:117-122.
- BALLESTER, ELC, W WASIELESKY, RO CAVALLI & PC ABREU. 2007. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. *Aquaculture*, 269: 355-362.
- BOYD, CE. 2003 Guidelines for aquaculture effluent management at the farm- level. *Aquaculture*, 226: 101-112.

- BRATVOLD, D & CL BROWDY. 2001. Effects of sand and vertical surfaces (Aquamats™) on production, water quality and a microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195: 81-94.
- 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, Aquaculture. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, USA. p. 20-34.
- 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.
- CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo) Disponível em http://www.ceagesp.gov.br/cotacoes/?grupo=6&data=03%2F02%2F2009&consultar=Consultar&grupo_nome=Pescado. Acesso em 26/01/2009.
- CHAMBERLAIN, G, Y AVNIMELECH, RP MCINTOSH & M VELASCO. 2001. Advantages of Aerated Microbial Reuse Systems with balanced C:N, II: Composition and nutritional value of organic detritus. *Global Aquaculture Advocate*, June.
- D'ABRAMO, LR, DE CONKLIN & DM AKIYAMA. 1997. Crustacean Nutrition, World Aquaculture Society. 587p.
- DECAMP, OE & N NAGANO. 2001. Live Protozoa: Suitable live food for larval fish and shrimp? *Global Aquaculture Advocate*. October, 28-29.
- DECAMP, OE, L CONQUEST, J CODY & I FORSTER. 2007. Effect of shrimp stocking density on size-fractionated phytoplankton and ecological groups of ciliated protozoa within zero-water exchange shrimp culture systems. *Journal World Aquaculture Society* 38: 395-406.

- EATON, AD, LS CLESERCI & AE GREENBERG. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 10th edition. Amer. Public. Health Assoc. (APHA), Washington D.C.
- EPP, MA. 2002. Stable isotopes in shrimp aquaculture. *Journal World Aquaculture Society*. 33: 18–19.
- EBELING, JM, MB TIMMONS, & JJ BISOGNI, 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.
- FAO. 2007. The state of World Fisheries and Aquaculture. Disponível em : <http://www.fao.org>. Acesso em : 26/01/2009
- GREEN, B.W, 2008. Stocking strategies for production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in amended freshwater in inland ponds. *Aquaculture Research*, 39: 10-17.
- GODOY, LC. 2008. Desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em meio de diatomáceas e flocos microbianos com mínima troca de água. Dissertação Mestrado, Programa de pós-graduação em Aquicultura. Universidade Federal do Rio Grande, 62p.
- HOPKINS, JS, PA SANDIFER & CL BROWDY. 1995. Effects of two feed protein levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive shrimp ponds operated without water exchange. *Journal World Aquaculture Society*, 26: 93-97.
- IBAMA, 2006. Instituto Brasileiro do Meio ambiente e dos Recursos Naturais. Disponível em : <http://www.ibama.gov.br>. Acesso em 26/01/2009.
- JACKSON, CJ & YG WANG. 1998. Modelling growth rate of *Penaeus monodon* Fabricius in intensively managed ponds: effects of temperature, pond age and stocking density. *Aquaculture Research* 29: 27–36.

- JORY, DE. 2001. Feed management practices for a healthy pond environment. In: BROWDY CL, JORY DE (Eds.). *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 118-143.
- JU, ZY, I FORSTER, L CONQUEST, W DOMINY, WC KUO & FD HORGEN. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research.*, 39: 118-133.
- KESHAVANATH, P, B GANADHAR, TJ RAMESH, JM van ROOIJ, MCM BEVERIDGE, DJ BAIRD, MCJ VERDEGEM & AA van DAM. 2001. Use of artificial substrates to enhance production of freshwater herbivorous fish in pond culture. *Aquaculture Research*, 32: 189-197.
- KRUMMENAUER, D, WJ WASIELESKY, RO CAVALLI, S PEIXOTO & PR ZOGBI. 2006. Viabilidade do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Crustácea: Decapoda) em gaiolas sob diferentes densidades durante o outono no sul do Brasil. *Ciência Rural*, 36: 252-257.
- LIN, Y & J CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 109-119.
- LIN, Y & J CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201.
- MCABEE, BJ, CL BROWDY, RJ RHODES, & AD STOKES. 2003. The use of greenhouse enclosed raceway systems for the superintensive production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the United States. *Global Aquaculture. Advocate*, 6 :(4) 40-43.
- MCINTOSH, BJ, TM SAMOCHA, ER JONES, AL LAWRENCE, DA MCKEE & S HOROWITZ & A HOROWITZ. 2000. The effect of a bacterial supplement on the high-

density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering.*, 21: 215-227.

MIKKELSEN, LH, AK GOTFREDSEN, ML AGERBAEK, PH NIELSEN & K KEIDING
1996. Effects of colloidal stability on clarification and dewatering of activated sludge. *Water Science Technology*, 3: 449-457.

MOSS, K.K. & SM MOSS. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.*, 35: 536-542.

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

NUNES, AJP, TCV GESTEIRA & S GODDARD. 1997. Food ingestion and assimilation by the Southern Brown shrimp *Penaeus Subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture*, 149:121-136.

O' BRIEN, CJ.1994. Ontogenetic changes in the diet of juvenile brown tiger prawns *Penaeus esculentus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 112:195-200.

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 Aquaculture Society*, 32: 243-249.

OTOSHI, CA, LR TANG, DV DAGDABAN, CM HOLL, CM TALLAMY, DR MOSS, SM ARCE & SM MOSS. 2006. Super intensive growout of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Recent advances at the oceanic institute. In: proceeding of the 6th International conference Recirculating Aquaculture p.1-5. Virginia Tech University, Blacksburg.

- OTOSHI, CA, SS NAGUWA, FC FALESCH & SM MOSS. 2007. Shrimp behavior may affect culture performance at super intensive stocking densities, March/Abril 2007.
- OTOSHI, CA, SS NAGUWA, FC FALESCH, EA MCCROREY, TR HANSON & SM MOSS, 2008. Comercial-scale production of pacific white shrimp *Penaeus Litopenaeus vannamei* in a biosecure, super-intensive, recirculating aquaculture system. In: Abstracts of Aquaculture America 2008, February 9-12. Lake Buena Vista Florida, USA.
- PRETO, A, RO CAVALLI, T PISSETI, PC ABREU & JrW WASIELESKY. 2005. Efeito da densidade de estocagem sobre o biofilme e o desempenho de pós-larvas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivado em gaiolas. *Ciência Rural*, 35:1417-1423.
- 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.
- SILVA, CF, ELC BALLESTER, J MONSERRAT, L GERACITANO, WJr WASIELESKY & PC ABREU. 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. *Aquaculture Nutrition*, doi:10.1111/j.1365-2095.2007.00556.x.
- SCHWAMBORN, R. & MM CRIALES. 2000. Feeding strategy and daily diet of juvenile pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum*) in a South Florida seagrass bed. *Mar. Biol.* 137: 139–147.
- SOKAL, RR & FJ ROHLF. 1969. Biometry. Principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman & Co, 776p.
- STRICKLAND, JDH & TR PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p.

- TACON, AGJ, JJ CODY, LD CONQUEST, S DIVAKARAN, IP FORSTER & OE DECAMP. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutrition.*, 8: 121-137.
- THOMPSON, FL, PC ABREU & RO CAVALLI. 1999. The use of microorganisms for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203: 263-278.
- THOMPSON, FL, PC ABREU, W WASIELESKY. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203: 263-278.
- THRONDSSEN, J. 1978. Preservation and storage. In: SOURNIA, A. *Phytoplankton Manual*. Paris Unesco, Chap. 4: 69-74.
- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton methodik. *Int. Ver. Theor. Angew. Limnol*, 9: 1-38.
- VANWYK, P & J SCARPA. 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., *et al.* (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p. 128–138.
- WANG, J.K & LEIMAN, J. 2000. Optimizing multi-stage shrimp production systems. *Aquacultural Engineering* 22: 243–254.
- WASIELESKY, WJr, LH POERSCH, L JENSEN & A BIANCHINI. 2001. Effect of stocking density on growth of pen reared pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Crustacea, Penaeidae) In *Náuplius*, 9;163-167.

- WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006a. Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396-403.
- WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, R KEGL, J BRUCE, A STOKES & CL BROWDY. 2006b. Efeito do ph na sobrevivência e crescimento do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em cultivos superintensivos. *Aquaciência 2006. Anais do congresso*.
- WELSCHMEYER, NA. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1985-1992.
- WILLIAMS, AS, DA, DAVIS, CR ARNOLD. 1996. Density-dependent growth and survival of *Penaeus Setiferus* an *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system. *J. World Aquaculture Society*, 27:107-112.
- ZELAYA,O, DB ROUSE , DA DAVIS 2007. Growout of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, stocked into production ponds at three different ages. *Journal of the World Aquaculture Society*, March.