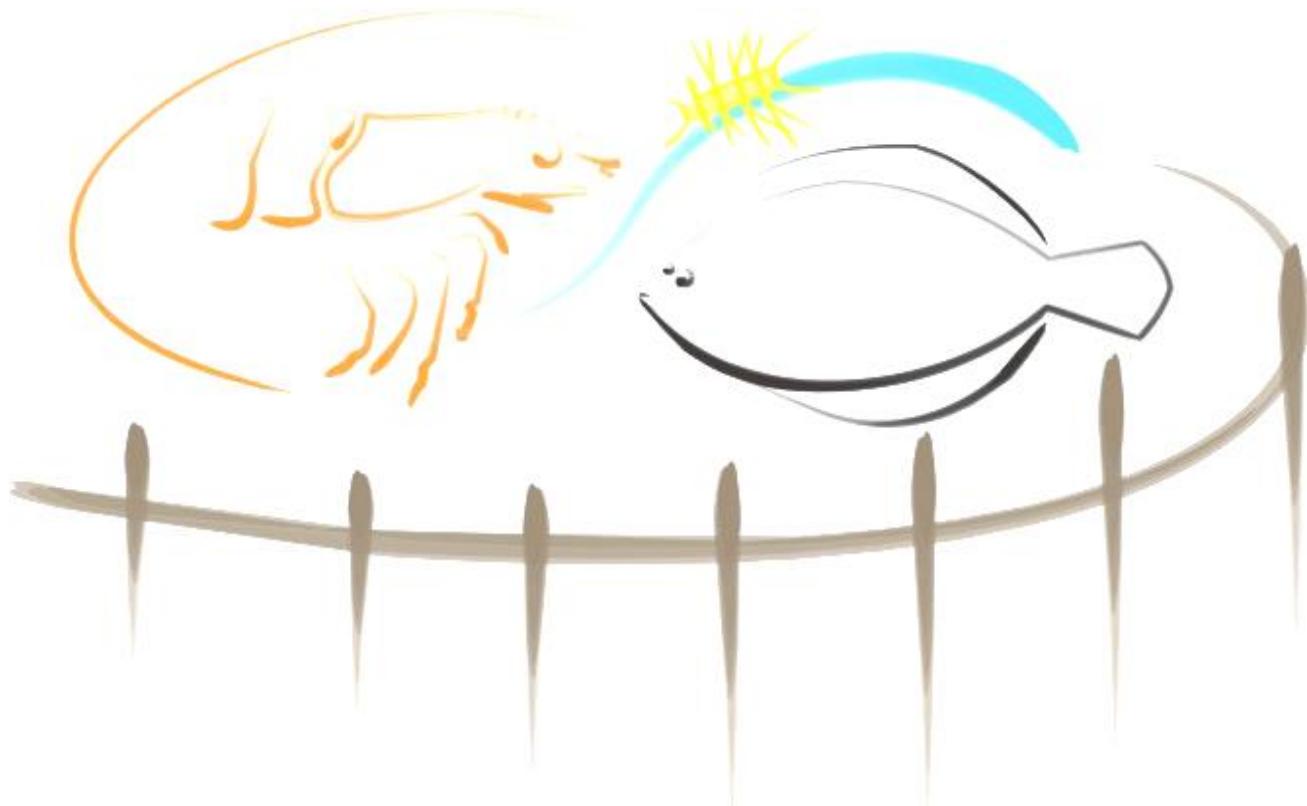


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**Efeito dos Parâmetros Químicos e Físico-Biológicos da Água Sobre o
Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão *Litopenaeus vannamei*
Cultivados em Sistema de Água Clara e Bioflocos**

PAULA FRAGA MAICÁ

Rio Grande / RS

2015

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

Efeito dos Parâmetros Químicos e Físico-Biológicos da Água Sobre o
Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão *Litopenaeus vannamei*
Cultivados em Sistema de Água Clara e Bioflocos

PAULA FRAGA MAICÁ

Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr.

Co-Orientador: Prof. Dr. Kleber Campos Miranda Filho

Tese apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Doutora em Aquicultura, no Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura, da
Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande / RS
Setembro 2015

Índice

Dedicatória	vi
Agradecimentos	vii
Resumo Geral	08
General Abstract	10
Introdução Geral	12
Referências	17
Objetivos	21
Objetivo geral	21
Objetivos específicos	21
Capítulo I - “Effect of Ammonia and Nitrite on Food Consumption of Juvenile Shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (Crustacea, Decapoda) Reared in Clear Water and Biofloc System”	22
Abstract	23
Resumo	24
Introduction	25
Materials and Methods	28
Location	28
Biological material	28
Acclimation	28
Experimental protocol	29
Water physical and chemical variables	30
Shrimp performance parameters	30
Statistical analyses	32
Results	32
Water physical and chemical variables	32
Shrimp performance parameters	35
Ammonia concentration	35
Nitrite concentration	37
Discussion	39
Water physical and chemical variables	39
Shrimp performance parameters	40
Ammonia concentration	40
Nitrite concentration	42

Culture system	44
Conclusions	47
Acknowledgements	47
References	48
Capítulo II - “Efeito da Alcalinidade sobre o Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> (Crustacea, Decapoda) Cultivados em Sistema de Água Clara e Bioflocos”	62
Resumo	63
Introdução	64
Materiais e Métodos	65
Local	65
Material biológico	66
Aclimatação	66
Protocolo experimental	67
Variáveis físicas e químicas da água	68
Parâmetros de desempenho dos camarões	68
Análises estatísticas	69
Resultados	70
Variáveis físicas e químicas da água	70
Parâmetros de desempenho dos camarões	72
Discussão	74
Variáveis físicas e químicas da água	74
Parâmetros de desempenho dos camarões	75
Concentração de alcalinidade	75
Sistema de cultivo	76
Conclusões	78
Agradecimentos	78
Referências	79
Capítulo III - “Efeito dos Sólidos Suspensos sobre o Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> (Crustacea, Decapoda) Cultivados em Sistema de Bioflocos”	86
Resumo	87
Introdução	88
Materiais e Métodos	90
Local	90

Material biológico	90
Aclimatação	90
Protocolo experimental	91
Variáveis físicas e químicas da água	92
Parâmetros de desempenho dos camarões	93
Análises estatísticas	94
Resultados	94
Variáveis físicas e químicas da água	94
Parâmetros de desempenho dos camarões	96
Discussão	98
Variáveis físicas e químicas da água	98
Parâmetros de desempenho dos camarões	99
Conclusões	102
Agradecimentos	102
Referências	102
Conclusões Gerais	109

Aos meus pais, Gentil Severo Maicá e Eloísa Fraga Maicá...

Dedico

Agradecimentos

*Àos Profs. Dr. Wilson Wasielesky Jr. e Dr. Kleber Campos Miranda Filho,
agradeço pela orientação e co-orientação
e pela constante disposição e incentivo, durante todo curso.*

*À Prof. Dr. Cintia Nakayama,
e ao Dr. Bruno de Campos, Dr. Dariano Krummenauer e Dr. Geraldo Fóes,
agradeço pelo aceite de participação da banca examinadora.*

*A todos os colegas da Estação Marinha de Aquacultura:
do alojamento, do Projeto Biodiesel de Microalgas e do Projeto Camarão,
agradeço pela convivência e contribuição para a realização desse trabalho.*

*À CAPES,
agradeço pelo auxílio financeiro.*

*Ao César Augusto,
agradeço por todo companheirismo, ao longo destes anos...*

*Aos meus amados pais, Gentil e Eloísa,
agradeço pela incansável dedicação da vida inteira...
por sempre me apoiarem e encorajarem e por me amarem incondicionalmente...*

Muito obrigada!

Resumo Geral

A amônia e o nitrito, caso em elevada concentração na água de cultivo, podem afetar diversos parâmetros de desempenho e fisiológicos dos camarões peneídeos. A amônia e o nitrito tendem a se acumular e atingir níveis elevados, em sistemas de cultivo sem renovação de água; a alcalinidade, contudo, tende a reduzir, nesses sistemas de cultivo. Nos sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, compõem-se os bioflocos ou sólidos suspensos, os quais tendem a se acumular e atingir concentrações elevadas. Os bioflocos atuam na manutenção do nível de nitrogenados e representam uma fonte de suplementação nutricional para os camarões. Todavia, a presença de sólidos suspensos, em quantidade excessiva, na água de cultivo é capaz de causar efeito negativo, tanto sobre a qualidade de água, quanto sobre o desempenho dos camarões. O presente estudo objetivou avaliar o efeito da amônia, do nitrito, da alcalinidade e dos sólidos suspensos sobre o consumo alimentar e demais parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em água contendo bioflocos e água filtrada, clorada e decolorada (água clara). Para tanto, durante 3 dias, camarões de $4,50 \pm 0,27$ g, $4,98 \pm 0,36$ g, $4,06 \pm 0,34$ g e $3,20 \pm 0,22$ g foram mantidos em recipientes de 3 L (1 animal/recipiente), respectivamente sob as concentrações Controle, 4, 8 e 12 mg/L de amônia, Controle, 6, 20 e 60 mg/L de nitrito, Controle, 50, 100 e 200 mg/L de alcalinidade e Água Clara, 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de sólidos suspensos, com 5 repetições cada, em bioflocos e água clara. A temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, amônia, nitrito, nitrato, alcalinidade e sólidos suspensos foram avaliados diariamente. O consumo alimentar, mensurado em um período de 1 hora, foi verificado uma vez ao dia e o ganho em peso, taxas de crescimento específico e conversão alimentar e sobrevivência foram avaliados ao final dos experimentos. Nos estudos da amônia e do nitrito, verifica-se que o consumo alimentar dos camarões não é afetado entre os níveis de nitrito e nos sistemas de água clara e bioflocos (0,10, 0,07, 0,08 e 0,06 g ração/camarão/hora e 0,10, 0,10, 0,09 e 0,09 g ração/camarão/hora, respectivamente); já na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos é afetado positivamente (0,12 g ração/camarão/hora). O ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nos menores níveis de nitrito, Controle e 6 mg/L, no sistema de bioflocos, e na menor concentração de amônia, Controle, também no sistema de bioflocos, onde apresentam os melhores resultados. A

taxa de conversão alimentar não é afetada entre os níveis de nitrito e nos sistemas de água clara e bioflocos; contudo, na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos, é afetada positivamente. E a sobrevivência é afetada negativamente na maior concentração de nitrito, 60 mg/L, no sistema de água clara; todavia, entre os níveis de amônia e nos sistemas de água clara e bioflocos, não é afetada. Já no estudo da alcalinidade, observa-se que o consumo alimentar dos animais não é afetado entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos (0,06, 0,05, 0,06 e 0,07 g ração/camarão/hora e 0,08, 0,07, 0,07 e 0,09 g ração/camarão/hora, respectivamente). O ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nas maiores concentrações de alcalinidade, Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos, onde demonstram os melhores resultados. E a sobrevivência, assim como o consumo alimentar, não é afetada entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. E, por fim, no estudo dos sólidos suspensos, se verifica que o consumo alimentar dos camarões é afetado negativamente na maior concentração, 1500 mg/L de bioflocos (0,01 g ração/camarão/hora). E o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a sobrevivência, também são afetados negativamente no maior nível, 1500 mg/L de sólidos suspensos, onde apresentam os piores resultados. Assim, embora alguns parâmetros de desempenho dos animais não tenham sido afetados nos estudos realizados, a possibilidade de exposição à níveis inadequados dos parâmetros químicos e físico-biológicos da água, por longos períodos de tempo, pode afetar negativamente os camarões. Dessa forma, se ressalta a importância da manutenção da qualidade de água em condições apropriadas à espécie cultivada, independentemente do sistema de cultivo adotado, para que o seu melhor desempenho possa ser demonstrado.

Palavras-chave: nitrogenados, carbonato de cálcio, SST, alimentação, camarão branco do Pacífico, flocos microbianos

General Abstract

Ammonia and nitrite, if in high concentration in the culture water, can affect several performance and physiological parameters of penaeid shrimp. Ammonia and nitrite tend to accumulate and reach high levels, in the culture systems with no water exchange; alkalinity, however, tends to decrease, in these culture systems. In superintensive culture systems with no water exchange, are formed the biofloc or suspended solids, which tend to accumulate and reach high concentrations. Biofloc acts in the maintenance of nitrogenous level and represents a supplementary nutritional source for the shrimp. However, the presence of suspended solids, in excessive quantity, in the culture water is able to cause negative effect on both water quality and shrimp performance. The present study aimed to evaluate the effect of the ammonia, nitrite, alkalinity and suspended solids on the food consumption and others performance parameters of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared in water containing biofloc and filtered, chlorinated and dechlorinated water (clear water). For this purpose, during 3 days, shrimp of 4.50 ± 0.27 g, 4.98 ± 0.36 g, 4.06 ± 0.34 g and 3.20 ± 0.22 g were maintained in containers of 3 L (1 animal/container), respectively under the concentrations Control, 4, 8 and 12 mg L⁻¹ of ammonia, Control, 6, 20 and 60 mg L⁻¹ of nitrite, Control, 50, 100 and 200 mg L⁻¹ of alkalinity and Clear Water, 325, 750, 1000 and 1500 mg L⁻¹ of suspended solids, with 5 replicates each, in biofloc and clear water. The temperature, dissolved oxygen, salinity, pH, ammonia, nitrite, nitrate, alkalinity and suspended solids were daily evaluated. The food consumption, measured in a period of 1 hour, was verified once a day and the weight gain, specific growth and feed conversion rates and survival were evaluated at the end of the experiments. In the studies of ammonia and nitrite, it is verified that food consumption of the shrimp is not affected among nitrite levels and in clear water and biofloc systems (0.10, 0.07, 0.08 and 0.06 g ration/shrimp/hour and 0.10, 0.10, 0.09 and 0.09 g ration/shrimp/hour, respectively); but in the lowest concentration of ammonia, Control, in biofloc system is positively affected (0.12 g ration/shrimp/hour). Weight gain and specific growth rate are positively affected in the lowest levels of nitrite, Control and 6 mg L⁻¹, in biofloc system, and in the lowest concentration of ammonia, Control, also in biofloc system, in which they present the best results. Feed conversion rate is not affected among nitrite levels and in clear water and biofloc systems; but in the lowest concentration of

ammonia, Control, in biofloc system is positively affected. And survival is negatively affected in the highest concentration of nitrite, 60 mg L^{-1} , in clear water system; but among ammonia levels and in clear water and biofloc systems is not affected. In the study of alkalinity, it is observed that the food consumption of the animals is not affected among the alkalinity levels and in the clear water and biofloc systems (0.06, 0.05, 0.06 and 0.07 g ration/shrimp/hour and 0.08, 0.07, 0.07 and 0.09 g ration/shrimp/hour, respectively). The weight gain and specific growth rate are positively affected in the highest alkalinity concentrations, Control and 200 mg L^{-1} , in the biofloc system, in which they demonstrate the best results. And the survival, as well as the food consumption, is not affected among the alkalinity levels and in the clear water and biofloc systems. And, finally, in the study of suspended solids, it is verified that the food consumption of the shrimp is negatively affected in the highest concentration, 1500 mg L^{-1} of biofloc (0.01 g ration/shrimp/hour). And the weight gain, specific growth rate and survival are negatively affected, also, in the highest level, 1500 mg L^{-1} of suspended solids, in which they present the worst results. Thus, although some performance parameters of the animals have not been affected in the performed studies, the possibility of exposure to inadequate levels of the water chemical and physical-biological parameters, for long time periods, can negatively affect shrimp. So, is highlighted the importance of water quality maintenance in appropriate conditions to the reared species, independently of culture system adopted, for its best performance can be demonstrated.

Keywords: nitrogenous, calcium carbonate, TSS, feeding, Pacific white shrimp, microbial flocs

Introdução Geral

De acordo com a FAO (2014), a produção mundial de aquicultura continua a crescer, ao longo das últimas décadas, tendo apresentado taxa de crescimento de 8,6% ao ano, entre 1980 e 2012. A produção mundial de aquicultura mais do que duplicou: de 32 milhões de toneladas, em 2000, para 66 milhões de toneladas, em 2012. Os maiores produtores mundiais de aquicultura são a Ásia, Américas e Europa, tendo contribuído com 58, 3 e 2 milhões de toneladas, respectivamente, da produção de 66 milhões de toneladas demonstrada em 2012. Desse total de 66 milhões de toneladas, os animais mais produzidos foram os peixes, representando 43 milhões de toneladas, seguidos dos moluscos, 15 milhões de toneladas e crustáceos, 6 milhões de toneladas. Tendo sido, ainda, no referido 2012, os maiores produtores de crustáceos, a China, contribuído com 3 milhões de toneladas, Tailândia, 623 mil toneladas e Vietnã, 513 mil toneladas (FAO 2014).

Em um cultivo de camarões, a manutenção da alimentação é um fator de extrema importância a ser considerado, visto que, por exemplo, a alimentação pode representar até 60% dos custos de produção nos cultivos de peneídeos (Tacon *et al.* 2002) e conforme o seu modo de gerenciamento, pode afetar o crescimento, taxa de conversão alimentar e sobrevivência dos animais (Nunes & Parsons 1998, Cuzon *et al.* 2004). Da adequada manutenção da alimentação fazem parte ações, como, a consideração do efeito dos parâmetros bióticos e abióticos, no cálculo da quantidade de ração a ser ofertada (Jory *et al.* 2001). Sabe-se que, tanto os parâmetros bióticos, quanto abióticos afetam o consumo alimentar do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Jory *et al.* 2001).

O aparelho alimentar dos camarões compõe-se, externamente, pelos apêndicescefalotoráxicos antenas, antênulas, mandíbulas e maxilas (boca) e maxilípedes e, internamente, pelo esôfago, estômago, hepatopâncreas (glândula digestiva), intestino e ânus (Barbieri & Ostrensky 2001, NRC 2011) (Figura I). Os apêndicescefalotoráxicos atuam na detecção, captura e manipulação do alimento (Barbieri & Ostrensky 2001, NRC 2011). Já, o estômago apresenta duas cavidades: a câmara cardíaca e a câmara pilórica, nas quais o alimento é triturado e suas partículas são separadas e destinadas de acordo com o tamanho, respectivamente (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). E, o

hepatopâncreas atua na síntese e secreção de enzimas digestivas, bem como, na absorção e armazenamento de nutrientes (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011).

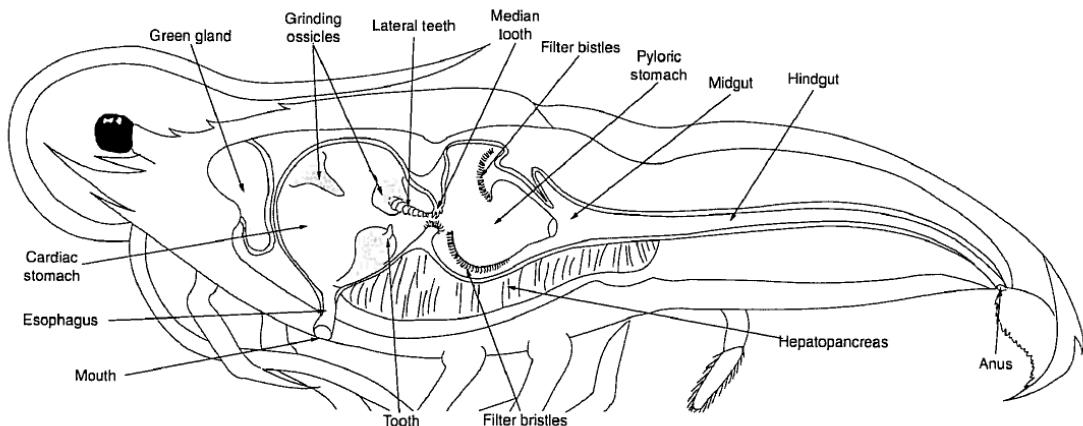


FIGURE 3-4 Anatomy of the digestive tract of shrimp.
Illustration courtesy of Victoria Blondin, University of Guelph, Ontario.

Figura I. Anatomia do trato digestivo de camarões (Fonte: National Research Council of the National Academies - NRC. 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp).

A digestão alimentar envolve a conversão de nutrientes, como, as proteínas, os lipídios e os carboidratos, os quais exibem tamanhos grandes (*e.g.* macromoléculas), à tamanhos pequenos, capazes de permear as paredes dos tecidos digestivos e se difundir no sangue dos animais (Pillay & Kutty 2005). Assim, proteínas são convertidas à aminoácidos; lipídios, à gliceróis e ácidos graxos; e carboidratos, à açúcares simples, por meio da atividade de enzimas digestivas, como, por exemplo, as pepsinas e tripsinas; as lipases; e as amilases e dextrinases, respectivamente (Pillay & Kutty 2005). As proteínas constituem a matéria-prima para a formação do exoesqueleto, músculos, órgãos e sangue dos camarões (Barbieri & Ostrensky 2002, Pillay & Kutty 2005). Peneídeos, em geral, apresentam percentuais de exigência em proteínas entre 20 e 60% (Pillay & Kutty 2005), sendo de 30% o percentual exigido pelo *L. vannamei* (Barbieri & Ostrensky 2002, Pillay & Kutty 2005). Em relação aos aminoácidos, aqueles cuja suplementação à dieta é estritamente necessária (*e.g.* essenciais) são a arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). Os lipídios representam uma fonte de energia importante para os animais, além de atuarem na síntese dos tecidos e membranas

celulares e na absorção e utilização das vitaminas lipossolúveis (Barbieri & Ostrensky 2002, Pillay & Kutty 2005). Camarões marinhos, em geral, demonstram percentuais de exigência em lipídios entre 1 e 7% (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). Quanto aos ácidos graxos, aqueles considerados essenciais são o linolênico (18:2 (*n*-3)), linoléico (18:2 (*n*-6)), eicosapentaenóico (20:5 (*n*-3)) e docosahexaenóico (22:6 (*n*-3)) (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). Já, os carboidratos representam a fonte de energia mais barata da dieta, além de serem os precursores de substâncias, como, os ácidos nucléicos, aminoácidos não-essenciais e quitina (Barbieri & Ostrensky 2002, Pillay & Kutty 2005). Os açúcares mais importantes para camarões marinhos são a frutose, galactose, glicose, maltose e sacarose (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). Além dos nutrientes citados, as vitaminas atuam na manutenção das funções metabólicas e fisiológicas dos animais (Pillay & Kutty 2005). As vitaminas consideradas essenciais para camarões marinhos são os ácidos ascórbico, fólico e pantotênico, a biotina, cianocobalamina, colina, inositol, niacina, pirodoxina, riboflavina e tiamina e as vitaminas A, D, E e K (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011). E, por fim, os minerais atuam na formação do exoesqueleto, assim como, na respiração, digestão e osmorregulação dos animais (Pillay & Kutty 2005). Os minerais mais importantes para camarões marinhos são o cálcio e fósforo (Barbieri & Ostrensky 2002, NRC 2011).

Esses nutrientes proteínas, lipídios, carboidratos, bem como, vitaminas podem ser obtidos, por meio do consumo, tanto de alimento artificial, quanto do alimento natural presente no ambiente de cultivo. Camarões peneídeos exibem hábito alimentar omnívoro, herbívoros e/ou carnívoros, dependendo da espécie e estágio de desenvolvimento, além da disponibilidade de alimento natural na água, consumindo, desde microorganismos, como, bactérias, fitoplâncton e zooplâncton, até organismos bentônicos e detritos de matéria animal e vegetal (Pillay & Kutty 2005). O desenvolvimento do alimento natural pode ser estimulado no ambiente de cultivo, por meio da adição de fertilizantes orgânicos (*e.g.* melaço, dejeto de aves, suínos, bovinos e equinos) ou químicos (*e.g.* superfosfato, cloreto de potássio, metafosfato de cálcio, nitrato e sulfato de amônio) que apresentem em sua composição, basicamente, elementos, como, o fósforo, potássio, carbono e nitrogênio (Pillay & Kutty 2005, Samocha *et al.* 2007).

Com níveis expressos em equivalentes do composto carbonato de cálcio, a alcalinidade representa a concentração das bases capazes de neutralizar os ácidos presentes na água de cultivo, sendo as principais bases responsáveis pelo seu nível, os carbonatos e os bicarbonatos (Furtado *et al.* 2011). A alcalinidade é um fator importante em um sistema de cultivo, pois sua capacidade *buffering* (*e.g.* de manter o equilíbrio ácido ↔ base) contribui com a redução na variação do pH ao longo do dia (Wyk & Scarpa 1999). E, ainda, a alcalinidade representa uma preocupação, em sistemas de cultivo sem renovação de água, nos quais tende a diminuir (McIntosh 2001, Ray *et al.* 2010a, Vinatea *et al.* 2010, Furtado *et al.* 2011), devido ao seu consumo, principalmente, pelas bactérias nitrificantes e pelas heterotróficas (Ebeling *et al.* 2006).

E, frequentemente presente na água de cultivo de camarões, o composto nitrogenado amônia é originado, principalmente, da sua excreção, advinda do catabolismo de proteínas, pelos animais (Campbell 1973, Regnault 1987), assim como, da decomposição de alimento não consumido e fezes dos camarões (Lin & Chen 2001); já, o nitrito, origina-se da oxidação de amônia, pelas bactérias nitrificantes, bem como, da redução de nitrato, pelas bactérias desnitrificantes (Lin & Chen 2003, Sowers *et al.* 2004). Tanto a amônia, como o nitrito, caso em elevado nível na água de cultivo, podem afetar o consumo alimentar (Friis-Espericueta *et al.* 2000, Wasielesky *et al.* 2003), dentre vários outros parâmetros de desempenho e fisiológicos dos camarões peneídeos. A presença de amônia, assim como, de nitrito representa uma preocupação, em sistemas de cultivo sem renovação de água, nos quais esses compostos nitrogenados tendem a se acumular e atingir concentrações elevadas (Chen *et al.* 1986, 1988, Chen & Chen 1992, Sowers *et al.* 2004).

As bactérias nitrificantes e as heterotróficas atuam na manutenção do nível de nitrogenados nos sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água (Ebeling *et al.* 2006, Hargreaves 2006). Fitoplâncton, zooplâncton e detritos, em conjunto com essas bactérias, compõem os bioflocos ou sólidos suspensos (Burford *et al.* 2003, Avnimelech 2007, De Schryver *et al.* 2008, Ray *et al.* 2010b), os quais representam uma fonte de suplementação nutricional para os camarões (Avnimelech 2007, Krummenauer *et al.* 2011).

Contudo, a presença de bioflocos, em quantidade excessiva, na água de cultivo é capaz de ocasionar efeito negativo, tanto sobre a qualidade de água (Ray *et al.* 2010a),

quanto sobre o desempenho dos camarões (Schveitzer *et al.* 2013). Os sólidos suspensos representam uma preocupação, em sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, nos quais tendem a se acumular e atingir níveis elevados, devido ao contínuo *input* de matéria orgânica e à elevada taxa de crescimento das bactérias heterotróficas (Van Wyk 2006, Gaona *et al.* 2011).

Em função da mínima ou ausente renovação de água, os sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água são considerados ambientalmente amigáveis (Hopkins *et al.* 1995, Ray *et al.* 2011). Nesses sistemas de cultivo, devido, também, às elevadas densidades de estocagem comumente utilizadas, elevadas taxas de produtividade são obtidas (Wasielesky *et al.* 2006). Em cultivo nos sistemas superintensivos sem renovação de água, o *L. vannamei* apresenta ótimo desempenho (Cuzon *et al.* 2004, Wasielesky *et al.* 2006) e, além disso, é a espécie mais cultivada em várias partes do mundo (FAO 2012).

Dessa forma, diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da amônia, do nitrito, da alcalinidade e dos sólidos suspensos sobre o consumo alimentar e os demais parâmetros de desempenho, ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de conversão alimentar e sobrevivência, de *L. vannamei* cultivado em água contendo bioflocos (proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água) e em água clara (filtrada, clorada e declorada).

Referências

- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264: 140-147.
- Barbieri, R. C. & Ostrensky, A. 2001. **Camarões Marinhos - Reprodução, Maturação e Larvicultura**. Minas Gerais, Brazil, 255 p.
- Barbieri, R. C. & Ostrensky, A. 2002. **Camarões Marinhos - Engorda**. Minas Gerais, Brazil, 370 p.
- Burford, M. A., Thompson, J. P., McIntosh, P. R., Banuman, H. R. & Pearson, C. D. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high intensity, zero exchange shrimp pond in Belize. **Aquaculture**, 219: 393-411.
- Campbell, J. W. 1973. Nitrogen excretion. **Indian Journal of Comparative Animal Physiology**, 279-316.
- Chen, J. C. & Chen, S. F. 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 101C: 453-458.
- Chen, J. C., Chin, T. C. & Lee, C. K. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp (*Penaeus monodon*). **The First Asian Forum - Asian Fisheries Society**, Phillipines, 657-662.
- Chen, J. C., Liu, P. C. & Lin, Y. T. 1988. Superintensive culture of red-tailed shrimp *Penaeus penicillatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 19: 127-131.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. & Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, 235: 513-551.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. & Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277: 125-137.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B. & Bisogni, J. J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257: 346-358.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2012 (Ed.). **The State of World Fisheries and Aquaculture** - World Wide Web electronic publication, accessible at <http://www.fao.org/fishery/en>. (Accessed 04/29/2013).

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2014 (Ed.). **The State of World Fisheries and Aquaculture** - World Wide Web electronic publication, accessible at <http://www.fao.org/fishery/en>. (Accessed 02/04/2015).
- Frias-Espericueta, M. G., Harfush-Melendez, M. & Páez-Osuna, F. 2000. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 65: 98-103.
- Furtado, P. S., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. **Aquaculture**, 321: 130-135.
- Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., Krummenauer, D., Fóes, G. K. & Wasielesky Jr, W. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. **International Journal of Recirculating Aquaculture**, 12: 54-73.
- Hargreaves, J. A. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, 34: 344-363.
- Hopkins, S. J., Sandifer, P. A., DeVoe, R. M., Holland, F. A., Browdy, C. L. & Stokes, A. D. 1995. Environmental impacts of shrimp farming with special reference to the situation in the continental United States. **Estuaries**, 18 (1A): 25-42.
- Jory, D. E., Cabrera, T. R., Dugger, D. M., Fegan, D., Lee, P. G., Lawrence, A. L., Jackson, C. J., McIntosh, R. P. & Castañeda, J. 2001. A global review of shrimp feed management: Status and perspectives. **The New Wave - Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture**, Aquaculture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 104-152.
- Krummenauer, D., Cavalli, R. O., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42: 726-733.
- Lin, Y. C. & Chen, J. C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 259: 109-119.

- Lin, Y-C. & Chen, J-C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, 224: 193-201.
- McIntosh, B. J. 2001. Changing paradigms in shrimp farming. Establishment of heterotrophic bacterial communities. **Global Aquaculture Advocate**, february: 53-58.
- National Research Council of the National Academies (NRC). 2011. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, DC, 392 p.
- Nunes, A. J. P. & Parsons, G. J. 1998. Food handling efficiency and particle size selectivity by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* fed a dry pelleted feed. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, 31: 193-213.
- Pillay, T. V. R. & Kutty, M. N. 2005. **Aquaculture - Principles and Practices**. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom, 624 p.
- Ray, A. J., Dillon, K. S. & Lotz, J. M. 2011. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. **Aquacultural Engineering**, 45: 127-136.
- Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L. & Leffler, J. W. 2010a. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299: 89-98.
- Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A. & Browdy, C. L. 2010b. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310: 130-138.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater water crustacea. **Biological Reviews**, 62: 1-24.
- Samocha, T. M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A.-M., Burger, J. M., Almeida, R. V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A. & Brock, D. L. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, 36: 184-191.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Costódio, P. F. S., Santo, C. M. E., Arana, L. V., Seiffert, W. Q. & Andreatta, E. R. 2013. Effect of different biofloc levels on microbial

- activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, 56: 59-70.
- Sowers, A., Young, S. P., Isely, J. J., Browdy, C. L. & Tomasso, J. R. 2004. Nitrite toxicity to *Litopenaeus vannamei* in water containing low concentrations of sea salt or mixed salts. **Journal of the World Aquaculture Society**, 35: december-4.
- Tacon, A. J. G., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P. & Decamp, O. E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, 8: 121-137.
- Van Wyk, P. 2006. Production of *L. vannamei* in recirculating aquaculture systems. Pp. 38-47. In: Rakestraw, T. T., Douglas, L. S., Marsh, L., Granata, L., Correa, A. & Flick, G. J. (Eds.). **Management and design considerations**. Proceedings of the 6th International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, VA.
- Vinatea, L., Gálvez, A. O., Browdy, C. L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B. L., Lawson, A., Shuler, A. & Leffler, J. W. 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering**, 42: 17-24.
- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A. & Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258: 396-403.
- Wasielesky Jr, W., Bianchini, A., Sanchez, C. C. & Poersch, L. H. 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.
- Wyk, P. V. & Scarpa, J. 1999. Water quality and management. Pp. 128-138. In: Wyk, P. V. et al. (Eds.). **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee.

Objetivos

Objetivo Geral

Avaliar o efeito dos parâmetros químicos e físico-biológicos da água sobre o desempenho zootécnico de juvenis de *L. vannamei* cultivados em água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água (contendo bioflocos) e em água filtrada, clorada e declorada (clara).

Objetivos Específicos

- Avaliar o consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* cultivados sob diferentes concentrações de amônia, nitrito, alcalinidade e sólidos suspensos, em sistema de bioflocos e água clara.
- Avaliar o efeito da amônia, nitrito, alcalinidade e sólidos suspensos sobre os demais parâmetros de desempenho, ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de conversão alimentar e sobrevivência, de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos e água clara.

Capítulo I

“Effect of Ammonia and Nitrite on Food Consumption of Juvenile Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Reared in Clear Water and Biofloc System”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Átila Clívea da Silva Martins¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Federal University of Rio Grande - Marine Station of Aquaculture - Rua do Hotel, 02 -
Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brazil / E-mail:
paulaquacultura@gmail.com

²Federal University of Minas Gerais - Laboratory of Aquaculture - Avenida Antônio
Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brazil

Artigo submetido à Revista: Pan-American Journal of Aquatic Sciences

**Effect of Ammonia and Nitrite on Food Consumption of Juvenile
Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Reared
in Clear Water and Biofloc System**

“Effect of ammonia and nitrite on *L. vannamei* in biofloc”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Átila Clívea da Silva Martins¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Federal University of Rio Grande - Marine Station of Aquaculture - Rua do Hotel, 02 - Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brazil / E-mail: paulaquacultura@gmail.com

²Federal University of Minas Gerais - Laboratory of Aquaculture - Avenida Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brazil

Abstract

Ammonia and nitrite can affect several performance and physiological parameters of the penaeid shrimp. Ammonia and nitrite tend to accumulate and reach high concentrations in the culture systems with no water exchange. In superintensive culture systems with no water exchange, are formed the named biofloc. Biofloc not only contributes to maintaining the culture water quality, but also acts as a supplementary nutritional source for the shrimp. The present study aimed to evaluate the effect of ammonia and nitrite on the food consumption and others performance parameters of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared in water containing biofloc and clear water. For this purpose, during 3 days, shrimp of 4.50 ± 0.27 g and 4.98 ± 0.36 g were maintained in containers of 3 L (1 animal/container), respectively under the concentrations Control, 4, 8 and 12 mg L⁻¹ of ammonia and Control, 6, 20 and 60 mg L⁻¹ of nitrite, with 5 replicates each, in biofloc and clear water. The temperature, dissolved oxygen, salinity, pH, suspended solids, ammonia and nitrite were daily evaluated. The food consumption, measured in a period of 1 hour, was verified once a day and the weight gain, specific growth and feed conversion rates and survival were evaluated at the end of the experiment. In this study, it is verified that food consumption of the shrimp is not affected among nitrite levels and in clear water and biofloc systems (0.10, 0.07, 0.08

and 0.06 g ration/shrimp/hour and 0.10, 0.10, 0.09 and 0.09 g ration/shrimp/hour, respectively); but in the lowest concentration of ammonia, Control, in biofloc system is positively affected (0.12 g ration/shrimp/hour). Weight gain and specific growth rate are positively affected in the lowest levels of nitrite, Control and 6 mg L⁻¹, in biofloc system, and in the lowest concentration of ammonia, Control, also in biofloc system, in which they present the best results. Feed conversion rate is not affected among nitrite levels and in clear water and biofloc systems; but in the lowest concentration of ammonia, Control, in biofloc system is positively affected. And survival is negatively affected in the highest concentration of nitrite, 60 mg L⁻¹, in clear water system; but among ammonia levels and in clear water and biofloc systems is not affected. However, considering the possibility that animals are exposed to inadequate ammonia or nitrite concentrations, for long time periods, thus, negatively affecting them, is emphasized the importance of water quality maintenance (e.g. nitrogen compounds levels) in appropriate conditions to the reared species, for their best performance can be exhibited.

Keywords: feeding, Pacific white shrimp, nitrogenous, biofloc technology

**Efeito da Amônia e do Nitrito sobre o Consumo Alimentar de Juvenis
de Camarão *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Cultivados
em Sistema de Água Clara e Bioflocos**

Resumo

A amônia e o nitrito podem afetar diversos parâmetros de desempenho e fisiológicos dos camarões peneídeos. A amônia e o nitrito tendem a se acumular e atingir concentrações elevadas, em sistemas de cultivo sem renovação de água. Nos sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, se formam os denominados bioflocos. Os bioflocos, não apenas contribuem com a manutenção da qualidade da água de cultivo, mas também atuam como uma fonte de suplementação nutricional para os camarões. O presente estudo objetivou avaliar o efeito da amônia e do nitrito sobre o consumo alimentar e demais parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em água contendo bioflocos e água clara. Para tanto, durante 3 dias, camarões de $4,50 \pm 0,27$ g e $4,98 \pm 0,36$ g foram mantidos em recipientes de 3 L (1

animal/recipiente), respectivamente sob as concentrações Controle, 4, 8 e 12 mg/L de amônia e Controle, 6, 20 e 60 mg/L de nitrito, com 5 repetições cada, em bioflocos e água clara. A temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, sólidos suspensos, amônia e nitrito foram avaliados diariamente. O consumo alimentar, mensurado em um período de 1 hora, foi verificado uma vez ao dia e o ganho em peso, taxas de crescimento específico e conversão alimentar e sobrevivência foram avaliados ao final do experimento. Nesse estudo, verifica-se que o consumo alimentar dos camarões não é afetado entre os níveis de nitrito e nos sistemas de água clara e bioflocos (0,10, 0,07, 0,08 e 0,06 g ração/camarão/hora e 0,10, 0,10, 0,09 e 0,09 g ração/camarão/hora, respectivamente); já na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos é afetado positivamente (0,12 g ração/camarão/hora). O ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nos menores níveis de nitrito, Controle e 6 mg/L, no sistema de bioflocos, e na menor concentração de amônia, Controle, também no sistema de bioflocos, onde apresentam os melhores resultados. A taxa de conversão alimentar não é afetada entre os níveis de nitrito e nos sistemas de água clara e bioflocos; contudo, na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos, é afetada positivamente. E a sobrevivência é afetada negativamente na maior concentração de nitrito, 60 mg/L, no sistema de água clara; já entre os níveis de amônia e nos sistemas de água clara e bioflocos não é afetada. Todavia, considerando a possibilidade de que os animais sejam expostos à concentrações de amônia ou nitrito inadequadas, por longos períodos de tempo, dessa forma, podendo afetá-los negativamente, fica enfatizada a importância da manutenção da qualidade de água (*e.g.* níveis de compostos nitrogenados) em condições apropriadas à espécie cultivada, para que seu melhor desempenho possa ser exibido.

Palavras-chave: alimentação, camarão branco do Pacífico, nitrogenados, BFT

Introduction

Feeding is one of the most important factors to be managed in a shrimp farming system, because, for example, it can represents up to 60% of the production costs in penaeid cultures (Tacon *et al.* 2002). A feeding managed in a properly way involves actions which go, since the adequate selection, receiving, handling and storage of feed

(Jory 1995), to the consideration of biotic and abiotic factors effect on the farming system in adjusting the amount of offered feed (Jory *et al.* 2001). Several studies verified that the food consumption of the penaeid shrimp *Litopenaeus vannamei* is affected by both biotic factors, such as: animals size (Gamboa-Delgado *et al.* 2003, Moss & Moss 2006), age (Jory *et al.* 2001), sex (Moss & Moss 2006), species (Clifford 1998) and molting (Molina *et al.* 2000) and abiotic factors, such as: artificial feed quality (Argüello-Guevara & Molina-Poveda 2013), feed supply frequency (Pontes *et al.* 2008), natural food availability (Jory *et al.* 2001), environment luminosity (Pontes & Arruda 2005a, b), water temperature (Wyban *et al.* 1995), dissolved oxygen, salinity, pH (Jory *et al.* 2001), presence / concentration of toxins (*e.g.* mycotoxins) (Tapia-Salazar *et al.* 2012), pesticides (*e.g.* insecticides) (García-de la Parra *et al.* 2006), heavy metals (Wu & Chen 2005) and nitrogen compounds (Friás-Espericueta *et al.* 2000) in the farming water. The ammonia, which is a nitrogen compound often present in shrimp farming water, mainly originates from the animals excretion, by the protein catabolism (Campbell 1973, Regnault 1987), and from the degradation of unconsumed feed and shrimp feces (Lin & Chen 2001). Ammonia is available in two forms: ionized ($\text{N}-\text{NH}_4^+$) and unionized ($\text{N}-\text{NH}_3$) (Armstrong *et al.* 1978). Due to the small size of its molecules and its neutral charge (Schuler *et al.* 2010) and high lipid solubility (Chen & Kou 1993), the unionized form is able to easily permeate the cell membranes (*e.g.* lipid bilayers) of gills and diffuse into the animals blood (Schuler *et al.* 2010), thus being more toxic (Allan *et al.* 1990). If in high levels in farming water, ammonia can affect the food consumption (Friás-Espericueta *et al.* 2000), growth (Colt & Armstrong 1981, Chen 1990), molting (Chen & Lin 1992a), metabolism (Alcaraz *et al.* 1999), ammonia excretion (Chen & Cheng 1993, Chen & Lin 1995), gill tissues (Rebelo *et al.* 2000, Romano & Zeng 2007), dissolved oxygen consumption (Chen & Lai 1992, Chen & Nan 1993), osmoregulation (Lin *et al.* 1993), immunity (Le Moullac & Haffner 2000, Jiang *et al.* 2004) and survival (Chen *et al.* 1990) of the shrimp. On the other hand, the nitrite, nitrogen compound also often present in shrimp farming water, is derived from the oxidation of ammonia by nitrifying bacteria and from the reduction of nitrate by denitrifying bacteria (Lin & Chen 2003, Sowers *et al.* 2004). Nitrite presents in two forms: ionized (NO_2^-) and acid (HNO_2) (Romano & Zeng 2013). The acid form is able to easily permeate the cell membranes of gills and diffuse into the animals blood, so is

more toxic (Romano & Zeng 2013). In high concentrations in farming water, nitrite can affect the food consumption (Wasielesky *et al.* 2003), growth, molting (Chen & Chen 1992a), excretion (Cheng & Chen 1998), gill tissues (Romano & Zeng 2009), dissolved oxygen consumption (Cheng & Chen 1998), osmoregulation (Chen & Lee 1997), immunity (Cheng *et al.* 2002) and survival (Chen & Lei 1990) of the shrimp. Ammonia and nitrite tend to accumulate and reach high levels in culture systems with no water exchange (Chen *et al.* 1986, 1988, Chen & Chen 1992a, Sowers *et al.* 2004). In the superintensive culture systems with no water exchange, the nitrogen compounds level is maintained mainly by two bacteria groups: the chemoautotrophic nitrifying and the heterotrophic (Ebeling *et al.* 2006, Hargreaves 2006). The chemoautotrophic nitrifying bacteria, under constant and intense aeration, oxidize ammonia into nitrite and nitrite into nitrate (Avnimelech 2006, Ray *et al.* 2010a). The heterotrophic bacteria, under a carbon:nitrogen ratio (C:N) from 10 to 20:1, assimilate ammonia, thus forming bacterial protein (Hargreaves 2006, Asaduzzaman *et al.* 2008, Ballester *et al.* 2010). These bacteria, together with other microorganisms, such as phytoplankton and zooplankton, besides detritus, form the named microbial aggregates or, more recently, biofloc (Burford *et al.* 2003, Avnimelech 2007, De Schryver *et al.* 2008, Ray *et al.* 2010a). The biofloc not only contributes to maintaining the culture water quality (Burford 1997, Tacon *et al.* 2002, Crab *et al.* 2007), but also represents an additional food (Hargreaves 2013), acting as a supplementary nutritional source for the animals (Avnimelech 2007, Krummenauer *et al.* 2011). This permits the use of feeds with lower percentages of protein (*e.g.* fishmeal) (Kuhn *et al.* 2009, 2010) and promotes the improvement of shrimp zootechnical parameters (Moss & Pruder 1995, Epp *et al.* 2002, Arnold *et al.* 2009, Megahed 2010, Krummenauer *et al.* 2014). In the superintensive culture systems with no water exchange, high productivity rates are obtained, due to, also, the high stocking densities typically used (Wasielesky *et al.* 2006). These culture systems are considered environmentally friendly, because of the minimal or no water exchange, which prevents the pollution of waters adjacent to the culture and the diseases transmission between the reared and wild animals (Hopkins *et al.* 1995, Ray *et al.* 2011). Additionally, due to the possibility to operate in enclosed locations, such as greenhouses, the culture can occurs throughout the year, even in subtropical and temperate regions (Browdy & Moss 2005, Wasielesky *et al.* 2006). The *L. vannamei*

exhibits excellent performance in rearing in the superintensive systems with no water exchange (Cuzon *et al.* 2004, Wasielesky *et al.* 2006) and is the most frequently reared species worldwide (FAO 2012). Thus, the present study aimed to evaluate the effect of ammonia and nitrite on the food consumption and the other performance parameters, weight gain, specific growth rate, feed conversion rate and survival, of *L. vannamei* reared in water containing biofloc (from a superintensive culture with no water exchange) and in clear water (filtered, chlorinated and dechlorinated water).

Materials and Methods

Location

The experiments were conducted at the Laboratory of Shrimp Farming - Marine Station of Aquaculture "Prof. Marcos Alberto Marchiori" of the Federal University of Rio Grande, located in Cassino Beach, Rio Grande, RS, Brazil (32°11'S, 52°10'W).

Biological Material

Post-larvae (PL) *L. vannamei* shrimp at the PL 10 stage, were acquired from the "Aquatec" commercial laboratory - Marine Shrimp Hatchery, located in Canguaretama, RN, Brazil. Post-larvae were kept at the Hatchery Sector, in fiber tanks, with seawater renewed every 2 days (28°C and 30‰), with feeding comprising commercial feed (40 crude protein - Guabi) and *Artemia* sp. nauplii for 40 days. Next, the animals were transferred to wooden tanks (35 m²) coated with high-density polyethylene geomembrane and covered by an agricultural greenhouse, with water from a superintensive farming with no water exchange (29°C and 30‰) and feeding comprising commercial feed (PotiMar/38 crude protein - Active - Guabi) for 29 more days. After this period, the shrimp, which were already at the juvenile stage, were then relocated to acclimation tanks under the experimental conditions.

Acclimation

Before the onset of each experiment, which were performed one subsequently to the other, the animals were acclimated to the experimental conditions for 4 days. For this purpose, in a room with a 12 h photoperiod, two polyethylene tanks (163-L working volume) were filled: one with filtered through cuno (5 µm) and sand filter, chlorinated

(15 mL sodium hypochlorite/1,000 L water) and dechlorinated seawater (1 mg ascorbic acid/1,000 L water) (29°C and 35‰) (Clear Water, named CW system) and another with water from a superintensive farming with no water exchange, containing suspended solids (28°C and 37‰, 0.31 mg L⁻¹ ammonia and 0.26 mg L⁻¹ nitrite, 414 mg L⁻¹ total suspended solids) (Biofloc, named BF system). Each tank was stocked with 135 shrimp. The tank water was constantly aerated using air diffusers coupled to silicone hoses supplied by a 4 HP radial air compressor, and 50% of the tank water in the CW system was renewed daily. The animals were fed commercial feed (PotiMar/38 crude protein - Active - Guabi) two times daily (9:00 am and 3:00 pm) according to Jory *et al.* (2001) (initial rate of 3.3% of biomass), by trays; however, an excess of more 50% of food was offered compared to the amount recommended by the authors, to ensure full satiety of the shrimp. On the subsequent day, the unconsumed feed was removed from the trays to maintain a good water quality. The animals were kept under the described conditions for 3 days. Finally, to complete the acclimation period, the shrimp were acclimated to the experimental conditions for 1 more day. However, for this acclimation step, at the same aforementioned room, 40 polyethylene containers (3-L working volume) were filled: 20 with Clear Water - the CW system (28°C and 34‰) and another 20 with Biofloc - the BF system (27°C and 36‰, 0.11 mg L⁻¹ ammonia and 0.22 mg L⁻¹ nitrite, 420 mg L⁻¹ total suspended solids), for each experiment of ammonia and nitrite. One animal (4.50 ± 0.27 g, for the ammonia experiment and 4.98 ± 0.36 g, for the nitrite experiment) was randomly transferred to each container. The shrimp feeding and the water of the containers, regarding aeration, were maintained similarly to in the first acclimation step.

Experimental Protocol

After the end of acclimation period, the animals were kept in the same containers (40 polyethylene units, with a 3-L working volume, for each experiment of ammonia and nitrite) and media (CW system and BF system) used for the final acclimation step and were farmed for an experimental period of 3 days. For the ammonia experiment, aliquots of an ammonium chloride solution were added to each group of containers, 20 in the CW system and 20 in the BF system, to obtain different and preset ammonia levels. Thus, based on the safety level of 3.95 mg L⁻¹, in salinity of

35‰, indicated by Lin & Chen (2001), 4, 8 and 12 mg L⁻¹ of ammonia (in the form of total ammonia nitrogen, TAN or N-NH₃ + N-NH₄⁺) and a Control level (without ammonium chloride added) were employed, with 5 replicates each, totaling 40 experimental units. And for the nitrite experiment, aliquots of a sodium nitrite solution were added to the other groups of containers (20 in CW system and 20 in BF system) to obtain different and determined nitrite levels. So, considering the safety level of 25.7 mg L⁻¹, in salinity of 35‰, suggested by Lin & Chen (2003), 6, 20 and 60 mg L⁻¹ nitrite levels (in the form of N-NO₂⁻) and a Control (without sodium nitrite added) were used, with 5 replicates each, also totaling 40 experimental units. The water in the containers was constantly aerated, similarly to in the first acclimation step, and the ammonia and nitrite levels were adjusted daily via water exchange and/or additional aliquots of respective solutions. The shrimp were fed the same feed used in the first acclimation step, by trays, two times daily (1:00 pm and 3:00 pm), according to Jory *et al.* (2001) (initial rate of 3.3% of biomass); however, an excess of more 50% of food was offered compared to the amount recommended by the researchers to ensure sufficient feed provision to fully satiate the animals.

Water Physical and Chemical Variables

The temperature and dissolved oxygen in the experimental media were measured using an Oxi 315i - WTW / USA oximeter, two times daily (9:00 am and 3:00 pm). The salinity and pH were measured using a Salt Refractometer w/ATC - Sper Scientific / USA and pHmeter S20 SevenEasyTM - Mettler Toledo / USA, respectively, once daily (9:00 am). The total suspended solids were evaluated once daily using the Volatilization Gravimetric method, according to Strickland & Parsons (1972). The ammonia and nitrite levels were measured using the Indophenol Blue and Griess Reaction methods, according to UNESCO (1983) and Aminot & Chaussepied (1983), respectively, at the same frequency (once daily).

Shrimp Performance Parameters

Food consumption by the shrimp was measured using the Food Deprivation and Provision method, adapted from Soares *et al.* (2005). Thus, the animals were: (1°) deprived of feed, from 5:00 pm of the current day until 1:00 pm of the following day -

totaling 20 h of deprivation - to allow the stomach emptying and presumably stimulate the appetite of the animals; (2°) fed, at 1:00 pm; (3°) ration was removed, at 2:00 pm - totaling 1 h of food provision - to measure the amount of feed effectively consumed by the shrimp, through the amount of unconsumed food; and (4°) fed, from 3:00 pm until 5:00 pm - totaling 2 h of food provision - to ensure that the animals are fully satiated before the onset of the following deprivation period. The unconsumed food was placed in aluminium crucibles, dried until constant weight using an oven (1.1 - Odontobrás / Brazil) (60°C) and thus weighed using an analytical balance (ED - Sartorius / USA), once daily. If it was observed the presence of exuviae, the ration removed from the respective container was not considered to the evaluation of the food consumption.

Food consumption was evaluated using the following equation:

$$FC = \{[FP_{NM}^* - (FRC_{NM}^* - C_{NM}^*)] - L\} - SS$$

where FC = food consumption (g), FP_{NM} = feed provided (g), FRC_{NM} = feed removed and crucible (g), C_{NM} = crucible (g), L = leaching (1.5%), SS = suspended solids possibly present in the unconsumed food of the containers in the BF system (6%) and $_{NM}^*$ = no moisture (8%).

The weight gain, specific growth rate, feed conversion rate, and survival were determined using the following formulas at the end of experiments:

$$WG = W_E - W_O$$

where WG = weight gain (g), W_E = shrimp weight at the end of experiment (g), and W_O = shrimp weight at the onset of experiment (g);

$$SGR = [(lnW_E - lnW_O) \times 100] / ED$$

where SGR = specific growth rate (% day⁻¹), lnW_E = Napierian logarithm of the animal weight (g) at the end of experiment, lnW_O = Napierian logarithm of the animal weight (g) at the onset of experiment, and ED = number of experimental days;

$$FCR = FC / WG$$

where FCR = feed conversion rate, FC = feed consumed (g), and WG = weight gain (g); and

$$S = (L_E / L_O) \times 100$$

where S = survival (%), L_E = number of live shrimp at the end of experiment and L_O = number of live shrimp at the onset of experiment.

Statistical Analyses

Before performing the statistical analyses, the animal performance parameters, specific growth rate and survival, expressed as percentages, were arcsine square-root transformed. Thus, all of the water physical and chemical variables and shrimp performance parameters values were subjected to normality (Kolmogorov-Smirnov) and homoscedasticity (Levene) tests, for which they were transformed if did not meet the assumptions of normality and homoscedasticity. Finally, the values were subjected to Factorial analysis of variance, ANOVA, and the means were compared by Tukey HSD test when significant differences were detected (Zar 1996). The statistical analyses were performed using the STATISTICA 7.0 software.

Results

Water Physical and Chemical Variables

The water physical and chemical variables exhibited significant differences among treatments in the studies of ammonia and nitrite ($p<0.05$) (Tabs. I and II).

Table I. Water physical and chemical variables of the *Litopenaeus vannamei* juveniles culture under different ammonia levels (mg L⁻¹ of N-NH₃ + N-NH₄⁺) in clear water and biofloc systems^{1,2}.

	<i>T*</i> morning (°C)	<i>T</i> afternoon (°C)	<i>DO*</i> morning (mg L ⁻¹)	<i>DO</i> afternoon (mg L ⁻¹)	Salinity (‰)	<i>pH</i>	Nitrite (mg L ⁻¹)	TSS* (mg L ⁻¹)
Clear Water								
Control	27.14 ± 0.49 ^{ab}	28.14 ± 0.33 ^{bc}	6.25 ± 0.22 ^b	5.88 ± 0.22 ^b	34.00 ± 0.00 ^c	8.33 ± 0.07 ^a	0.05 ± 0.02 ^c	-
4	27.18 ± 0.42 ^{ab}	28.58 ± 0.35 ^a	6.28 ± 0.22 ^{ab}	5.81 ± 0.31 ^{bc}	33.80 ± 0.41 ^c	8.33 ± 0.08 ^a	0.05 ± 0.02 ^c	-
8	27.07 ± 0.62 ^{ab}	28.45 ± 0.38 ^{ab}	6.27 ± 0.12 ^b	5.75 ± 0.34 ^{bc}	33.80 ± 0.41 ^c	8.16 ± 0.56 ^a	0.05 ± 0.03 ^c	-
12	27.45 ± 0.72 ^a	28.58 ± 0.29 ^a	6.27 ± 0.29 ^b	5.57 ± 0.35 ^c	34.00 ± 0.00 ^c	8.27 ± 0.07 ^a	0.06 ± 0.02 ^c	-
Biofloc								
Control	26.13 ± 0.50 ^c	27.86 ± 0.34 ^{cd}	6.52 ± 0.17 ^a	6.22 ± 0.18 ^a	35.00 ± 0.00 ^a	8.05 ± 0.12 ^a	0.10 ± 0.13 ^c	362.55 ± 67.87 ^b
4	26.41 ± 0.42 ^c	27.90 ± 0.37 ^{cd}	6.40 ± 0.16 ^{ab}	6.29 ± 0.10 ^a	34.93 ± 0.26 ^{ab}	7.68 ± 0.25 ^b	1.71 ± 0.69 ^b	431.00 ± 76.21 ^{ab}
8	26.65 ± 0.68 ^{bc}	27.62 ± 0.36 ^d	6.52 ± 0.27 ^a	6.33 ± 0.17 ^a	34.53 ± 0.52 ^b	7.53 ± 0.40 ^b	1.97 ± 0.47 ^b	439.33 ± 63.92 ^{ab}
12	26.38 ± 0.43 ^c	27.87 ± 0.39 ^{cd}	6.43 ± 0.19 ^{ab}	6.27 ± 0.10 ^a	34.67 ± 0.62 ^{ab}	7.49 ± 0.43 ^b	2.43 ± 0.62 ^a	444.80 ± 51.37 ^a

*T = temperature, DO = dissolved oxygen and TSS = total suspended solids.

¹Means ± standard deviations of five replicates.

²Different superscript letters in the columns indicate significant differences (p<0.05).

•Corresponding to Control, 4, 8 and 12: 1.32 ± 0.35, 4.85 ± 0.44, 8.81 ± 1.23 and 12.38 ± 1.58 mg L⁻¹, for clear water system and 0.22 ± 0.22, 3.40 ± 0.80, 7.85 ± 1.18 and 10.26 ± 0.94 mg L⁻¹, for biofloc system, respectively.

▪Also, corresponding to Control, 4, 8 and 12, the ammonia levels in gas form (N-NH₃): 0.11, 0.42, 0.52 and 0.94 mg L⁻¹, for clear water system and 0.01, 0.04, 0.11 and 0.20 mg L⁻¹, for biofloc system, respectively.

Table II. Water physical and chemical variables of the *Litopenaeus vannamei* juveniles culture under different nitrite concentrations (mg L^{-1} of N- NO_2^-) in clear water and biofloc systems^{1,2}.

	<i>T*</i> morning (°C)	<i>T</i> afternoon (°C)	<i>DO*</i> morning (mg L^{-1})	<i>DO</i> afternoon (mg L^{-1})	Salinity (%)	<i>pH</i>	Ammonia (mg L^{-1})	TSS* (mg L^{-1})
Clear Water								
Control**	$28.63 \pm 0.12^{\text{a}}$	$29.60 \pm 0.24^{\text{a}}$	$6.27 \pm 0.10^{\text{b}}$	$5.67 \pm 0.07^{\text{cd}}$	$32.13 \pm 1.77^{\text{d}}$	$8.31 \pm 0.06^{\text{ab}}$	$3.47 \pm 1.60^{\text{a}}$	-
6	$28.36 \pm 0.21^{\text{b}}$	$29.37 \pm 0.32^{\text{ab}}$	$6.29 \pm 0.12^{\text{b}}$	$5.82 \pm 0.18^{\text{bc}}$	$33.33 \pm 1.05^{\text{bcd}}$	$8.35 \pm 0.04^{\text{a}}$	$3.45 \pm 1.10^{\text{a}}$	-
20	$28.54 \pm 0.09^{\text{a}}$	$29.19 \pm 0.24^{\text{bc}}$	$6.23 \pm 0.11^{\text{b}}$	$5.82 \pm 0.13^{\text{bc}}$	$32.27 \pm 1.75^{\text{d}}$	$8.28 \pm 0.07^{\text{b}}$	$3.42 \pm 0.99^{\text{a}}$	-
60	$28.63 \pm 0.14^{\text{a}}$	$29.71 \pm 0.26^{\text{a}}$	$6.20 \pm 0.11^{\text{b}}$	$5.60 \pm 0.18^{\text{d}}$	$33.13 \pm 0.92^{\text{cd}}$	$8.34 \pm 0.05^{\text{ab}}$	$3.80 \pm 1.57^{\text{a}}$	-
Biofloc								
Control	$28.12 \pm 0.16^{\text{c}}$	$29.03 \pm 0.43^{\text{bc}}$	$6.45 \pm 0.08^{\text{a}}$	$5.95 \pm 0.22^{\text{ab}}$	$34.93 \pm 1.91^{\text{ab}}$	$8.01 \pm 0.06^{\text{cd}}$	$0.39 \pm 0.34^{\text{b}}$	$471.33 \pm 55.78^{\text{b}}$
6	$27.74 \pm 0.17^{\text{d}}$	$28.93 \pm 0.32^{\text{c}}$	$6.49 \pm 0.23^{\text{a}}$	$6.07 \pm 0.04^{\text{a}}$	$34.47 \pm 1.60^{\text{abc}}$	$8.03 \pm 0.06^{\text{cd}}$	$0.33 \pm 0.25^{\text{b}}$	$524.92 \pm 53.33^{\text{ab}}$
20	$27.75 \pm 0.15^{\text{d}}$	$29.15 \pm 0.42^{\text{bc}}$	$6.49 \pm 0.09^{\text{a}}$	$6.05 \pm 0.10^{\text{a}}$	$35.73 \pm 0.70^{\text{a}}$	$8.07 \pm 0.05^{\text{c}}$	$0.30 \pm 0.30^{\text{b}}$	$513.38 \pm 55.82^{\text{ab}}$
60	$27.81 \pm 0.16^{\text{d}}$	$29.02 \pm 0.40^{\text{bc}}$	$6.51 \pm 0.11^{\text{a}}$	$6.04 \pm 0.10^{\text{a}}$	$34.47 \pm 2.00^{\text{abc}}$	$7.99 \pm 0.05^{\text{d}}$	$0.29 \pm 0.31^{\text{b}}$	$528.83 \pm 56.92^{\text{a}}$

*T = temperature, DO = dissolved oxygen and TSS = total suspended solids.

¹Means \pm standard deviations of five replicates.

²Different superscript letters in the columns indicate significant differences ($p < 0.05$).

**Corresponding to Control, 6, 20 and 60: 0.07 ± 0.02 , 7.20 ± 1.01 , 22.60 ± 1.75 and $61.42 \pm 2.43 \text{ mg L}^{-1}$, for clear water system and 0.15 ± 0.10 , 6.00 ± 1.15 , 20.08 ± 1.96 and $62.25 \pm 4.52 \text{ mg L}^{-1}$, for biofloc system, respectively.

Shrimp Performance Parameters

Ammonia Concentration

Some shrimp performance parameters presented significant differences among treatments in the study of ammonia ($p<0.05$) (Tab. III and Fig. 1a). Food consumption significantly differed among ammonia levels and in CW and BF systems, being higher in Control level (0.12 g ration/shrimp/hour), in BF system, and lower in 4 and 12 mg L⁻¹ concentrations (0.06 and 0.05 g ration/shrimp/hour, respectively), in CW system ($p<0.05$) (Fig. 1a). Weight gain significantly differed among ammonia levels and in CW and BF systems. The parameter was higher in Control level (0.49 g), in BF system, and lower in 8 and 12 mg L⁻¹ concentrations (0.02 and 0.02 g, respectively), in CW system, and in 12 mg L⁻¹ level (0.04 g), in BF system ($p<0.05$). Specific growth rate significantly differed among ammonia levels and in CW and BF systems, being higher in Control concentration (2.70% day⁻¹), in BF system, and lower in 8 and 12 mg L⁻¹ levels (0.11 and 0.12% day⁻¹, respectively), in CW system, and in 12 mg L⁻¹ concentration (0.23% day⁻¹), in BF system ($p<0.05$). Feed conversion rate significantly differed among ammonia concentrations and in CW and BF systems. The parameter was higher in 8 mg L⁻¹ level (8.86), in CW system, and lower in Control concentration (0.59), in BF system ($p<0.05$). And survival did not significantly differ, being equal (100%) among ammonia levels and in CW and BF systems.

Table III. Performance parameters of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared under different ammonia levels (mg L⁻¹ of N-NH₃ + N-NH₄⁺) in clear water and biofloc systems^{1,2}.

	<i>Weight gain</i> (g)	<i>Specific growth rate</i> (% day ⁻¹)	<i>Feed conversion rate</i>	<i>Survival</i> (%)
Clear Water				
Control	0.33 ± 0.12 ^{ab}	1.93 ± 0.84 ^{ab}	0.80 ± 0.29 ^{bc}	100 ^a
4	0.17 ± 0.08 ^{bc}	0.94 ± 0.49 ^{abc}	1.09 ± 0.51 ^{abc}	100 ^a
8	0.02 ± 0.01 ^c	0.11 ± 0.04 ^c	8.86 ± 4.43 ^a	100 ^a
12	0.02 ± 0.03 ^c	0.12 ± 0.17 ^c	7.11 ± 10.67 ^{ab}	100 ^a
Biofloc				
Control	0.49 ± 0.10 ^a	2.70 ± 0.42 ^a	0.59 ± 0.12 ^c	100 ^a
4	0.30 ± 0.11 ^{ab}	1.68 ± 0.57 ^{ab}	0.82 ± 0.30 ^{bc}	100 ^a
8	0.15 ± 0.09 ^{bc}	0.80 ± 0.50 ^{bc}	1.67 ± 1.00 ^{abc}	100 ^a
12	0.04 ± 0.03 ^c	0.23 ± 0.16 ^c	5.05 ± 3.79 ^{abc}	100 ^a

¹Means ± standard deviations of five replicates.

²Different superscript letters in the columns indicate significant differences (p<0.05).

•Corresponding to Control, 4, 8 and 12: 1.32 ± 0.35, 4.85 ± 0.44, 8.81 ± 1.23 and 12.38 ± 1.58 mg L⁻¹, for clear water system and 0.22 ± 0.22, 3.40 ± 0.80, 7.85 ± 1.18 and 10.26 ± 0.94 mg L⁻¹, for biofloc system, respectively.

▪Also, corresponding to Control, 4, 8 and 12, the ammonia levels in gas form (N-NH₃): 0.11, 0.42, 0.52 and 0.94 mg L⁻¹, for clear water system and 0.01, 0.04, 0.11 and 0.20 mg L⁻¹, for biofloc system, respectively.

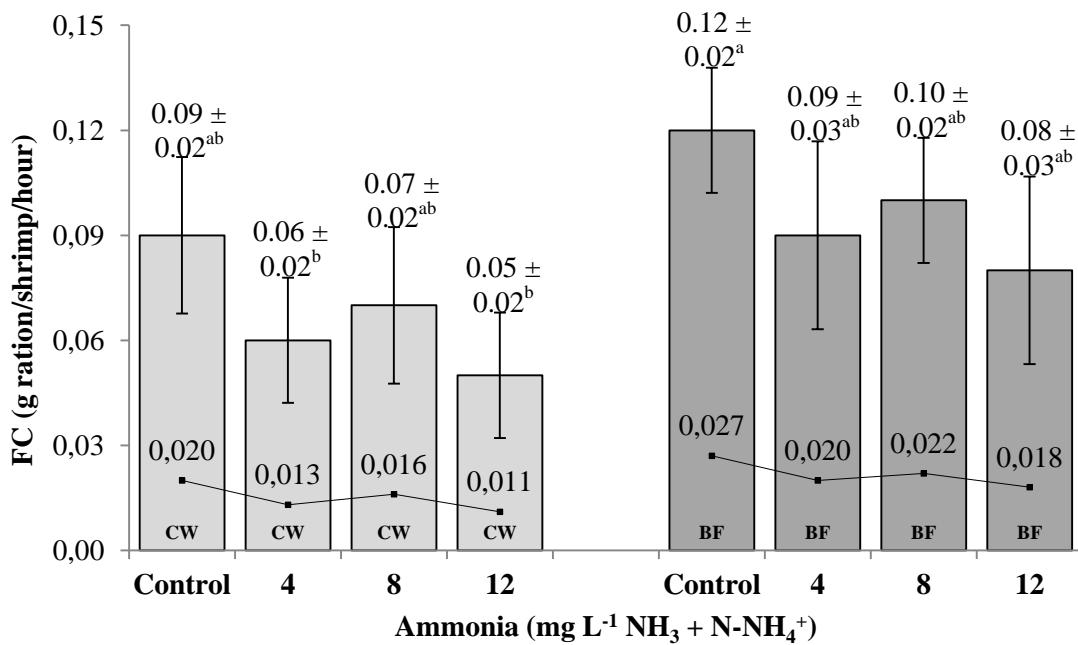


Figure 1a. Food consumption (FC) of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared under different ammonia levels in clear water system (CW) and biofloc system (BF). Means \pm standard errors of five replicates. Different letters above the bars indicate significant differences ($p<0.05$). Values inside the bars (--) correspond to means of food consumption expressed in g ration/g shrimp/hour.

Nitrite Concentration

Some shrimp performance parameters presented significant differences among treatments in the study of nitrite ($p<0.05$) (Tab. IV and Fig. 1b). Food consumption did not significantly differ, being equal among nitrite levels and in CW and BF systems (0.10, 0.07, 0.08 and 0.06 g ration/shrimp/hour and 0.10, 0.10, 0.09 and 0.09 g ration/shrimp/hour, respectively) (Fig. 1b). Weight gain significantly differed among nitrite levels and in CW and BF systems. The parameter was higher in Control and 6 mg L⁻¹ concentrations (0.71 and 0.72 g, respectively), in BF system, and lower in 60 mg L⁻¹ level (0.12 g), in CW system, and in 60 mg L⁻¹ concentration (0.22 g), in BF system ($p<0.05$). Specific growth rate significantly differed among nitrite levels and in CW and BF systems, being higher in Control and 6 mg L⁻¹ levels (3.27 and 3.34% day⁻¹, respectively), in BF system, and lower in 60 mg L⁻¹ concentration (0.61% day⁻¹), in CW system ($p<0.05$). Feed conversion rate did not significantly differ among nitrite levels and in CW and BF systems. The parameter was equal among nitrite levels and in CW

and BF systems (0.47, 0.67, 0.66 and 1.32 and 0.34, 0.36, 0.35 and 0.96, respectively). And survival significantly differed among nitrite levels and in CW and BF systems, being higher in Control, 6 and 20 mg L⁻¹ levels (100%), in CW system, and in Control, 6, 20 and 60 mg L⁻¹ concentrations (100%), in BF system, and lower in 60 mg L⁻¹ level (40%), in CW system (p<0.05).

Table IV. Performance parameters of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared under different nitrite levels (mg L⁻¹ of N-NO₂⁻) in clear water and biofloc systems^{1,2}.

	<i>Weight gain</i> (g)	<i>Specific growth rate</i> (% day ⁻¹)	<i>Feed conversion rate</i>	<i>Survival</i> (%)
Clear Water				
Control*	0.59 ± 0.04 ^{abc}	2.63 ± 0.21 ^{abc}	0.47 ± 0.03 ^a	100 ^a
6	0.30 ± 0.10 ^{bcd}	1.51 ± 1.29 ^{bcd}	0.67 ± 0.22 ^a	100 ^a
20	0.30 ± 0.27 ^{cd}	1.45 ± 0.48 ^{abcd}	0.66 ± 0.59 ^a	100 ^a
60	0.12 ± 0.11 ^d	0.61 ± 0.49 ^d	1.32 ± 1.21 ^a	40 ^b
Biofloc				
Control	0.71 ± 0.04 ^a	3.27 ± 0.27 ^a	0.34 ± 0.02 ^a	100 ^a
6	0.72 ± 0.11 ^a	3.34 ± 0.51 ^a	0.36 ± 0.06 ^a	100 ^a
20	0.66 ± 0.13 ^{ab}	3.17 ± 0.41 ^{ab}	0.35 ± 0.07 ^a	100 ^a
60	0.22 ± 0.11 ^d	1.04 ± 0.46 ^{cd}	0.96 ± 0.48 ^a	100 ^a

¹Means ± standard deviations of five replicates.

²Different superscript letters in the columns indicate significant differences (p<0.05).

*Corresponding to Control, 6, 20 and 60: 0.07 ± 0.02, 7.20 ± 1.01, 22.60 ± 1.75 and 61.42 ± 2.43 mg L⁻¹, for clear water system and 0.15 ± 0.10, 6.00 ± 1.15, 20.08 ± 1.96 and 62.25 ± 4.52 mg L⁻¹, for biofloc system, respectively.

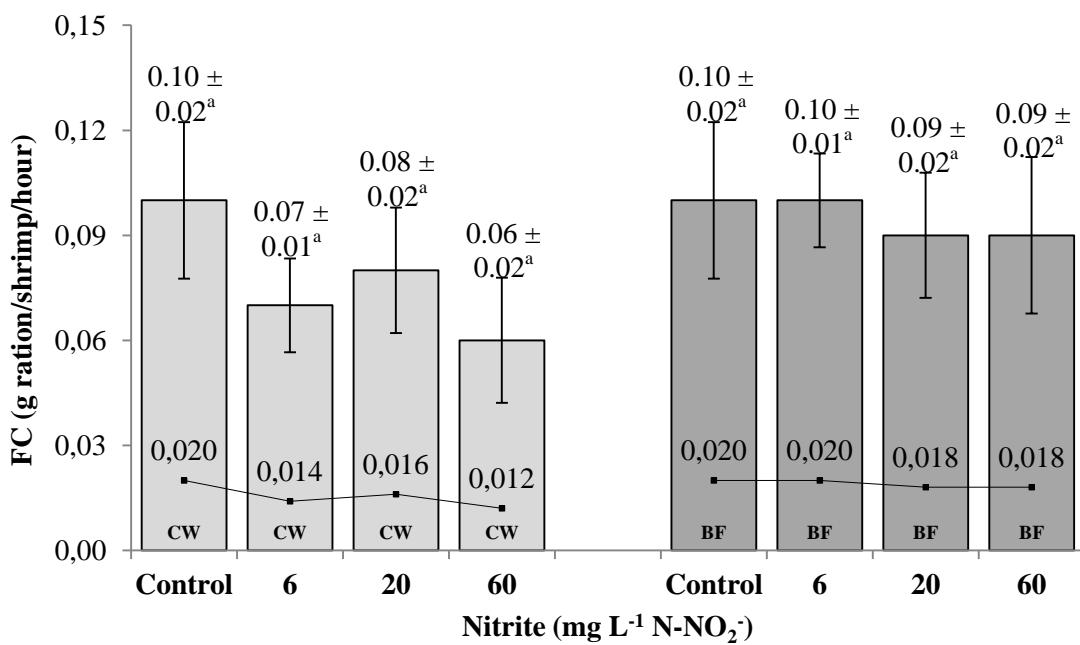


Figure 1b. Food consumption (FC) of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared under different nitrite levels in clear water system (CW) and biofloc system (BF). Means \pm standard errors of five replicates. Different letters above the bars indicate significant differences ($p<0.05$). Values inside the bars (---) correspond to means of food consumption expressed in g ration/g shrimp/hour.

Discussion

Water Physical and Chemical Variables

The morning temperature under both systems and the afternoon temperature under the biofloc system, in all ammonia levels, stayed slightly outside the 28 to 32°C range indicated by Walker *et al.* (2011) for the maximal growth and survival of *L. vannamei* juveniles. Among nitrite concentrations, in the biofloc system at concentrations of 6, 20 and 60 mg L⁻¹ of nitrite, the morning temperature was slightly outside the indicated range. Under both systems at all ammonia and nitrite levels, the dissolved oxygen in the morning and afternoon was close to the 5 mg L⁻¹ concentration recommended by Carbajal-Hernández *et al.* (2013) for the marine shrimp farming. Under both systems at all ammonia levels, the salinity remained within the 33 to 40‰ range proposed by Ponce-Palafox *et al.* (1997) for the maximal growth and survival of *L. vannamei* juveniles. The salinity at the Control and 20 mg L⁻¹ of nitrite concentrations in the clear water system was slightly outside the proposed range. At all

ammonia and nitrite levels under both systems, the pH was approximately at the 7 value indicated by Ferreira *et al.* (2011) for the marine shrimp farming. In the biofloc and clear water systems, in all ammonia levels, the nitrite concentration was below the safety level of 25.7 mg L^{-1} , in salinity of 35‰, recommended by Lin & Chen (2003) and in all nitrite levels, the ammonia concentration was below the safety level of 3.95 mg L^{-1} , in salinity of 35‰, recommended by Lin & Chen (2001) for the *L. vannamei* juveniles farming. The total suspended solids presented the lowest value in Control level of ammonia and nitrite and the highest in 12 mg L^{-1} concentration of ammonia and 60 mg L^{-1} level of nitrite. Silva *et al.* (2013a) explain that in superintensive culture systems with no water exchange containing suspended solids (biofloc), nitrogen is assimilated by the microbial community, in ammonia form, by heterotrophic and nitrifying bacteria and phytoplankton; in nitrite form, by nitrifying bacteria; and in nitrate form, by phytoplankton. So, the nitrogen availability allows it to be incorporated by the microbial community and, thus, favors the biofloc development, which was suggested in the highest concentrations of ammonia (12 mg L^{-1}) and nitrite (60 mg L^{-1}). Among all ammonia and nitrite levels, the total suspended solids remained slightly outside the 453 to 465 mg L^{-1} range indicated by Ray *et al.* (2010b) for the maximal growth of *L. vannamei* juveniles farmed under superintensive system with minimal water exchange.

Shrimp Performance Parameters

Ammonia Concentration

Food consumption showed the highest value in Control level, in biofloc system, and the lowest in 4 and 12 mg L^{-1} concentrations, in clear water system. Similarly to the current study, in farming *L. vannamei* post-larvae exposed to TAN concentrations of 5, 10, 15, 20 and 30 mg L^{-1} for 12, 24, 48 and 72 h, with feeding comprising *Artemia* sp. nauplii, Frias-Espericueta *et al.* (2000) registered higher food consumption value in the lowest ammonia level ($200 \text{ nauplii animal}^{-1}$). And also, in farming *Farfantepenaeus paulensis* juveniles exposed to TAN levels of 0.91, 3.65 and 7.30 mg L^{-1} for 16 days, with feeding comprising commercial feed, Wasielesky *et al.* (2003) verified higher food consumption value in the lowest ammonia concentration ($0.34 \text{ g/g shrimp/day}$). Campos *et al.* (2013), in farming *Farfantepenaeus brasiliensis* juveniles exposed do TAN levels

of 0.49, 0.91 and 1.74 mg L⁻¹ for 28 days, with feeding comprising commercial feed, reported lower food consumption in the highest ammonia concentration (0.044 g/g shrimp/day). The cited studies evaluated the food consumption by methods different from the used in the current study, however these studies can serve as comparative, in relation to alimentary behavior of penaeid exposed to several ammonia concentrations. Several authors explain that the high ammonia concentration in farming environment causes a reduction of the ammonia excretion (*e.g.* unionized, N-NH₃), by animals, thus leading to the increase of ammonia level in both their blood and tissues (Chen & Kou 1993, Chen *et al.* 1994, Chen & Chen 2000). So, to prevent a further increase of their ammonia concentration, due to some possible metabolic process triggered by an eventual food consumption, the shrimp can reduce or even cease their feeding activity (Colt & Armstrong 1981, Frias-Espericueta *et al.* 2000, Miranda *et al.* 2009), as was signalized in the present study. Weight gain exhibited the highest value in Control level, in biofloc system, and the lowest in 8 and 12 mg L⁻¹ concentrations, in clear water system, and in 12 mg L⁻¹ level, in biofloc system. Specific growth rate presented the highest value in Control concentration, in biofloc system, and the lowest in 8 and 12 mg L⁻¹ levels, in clear water system, and in 12 mg L⁻¹ concentration, in biofloc system. Feed conversion rate showed the highest value in 8 mg L⁻¹ level, in clear water system, and the lowest in Control concentration, in biofloc system. Similarly to the present study, in farming *Penaeus japonicus* juveniles exposed to TAN concentrations of 5, 10, 20 and 30 mg L⁻¹ for 10, 20, 30, 40, 50 and 60 days, Chen & Kou (1992) observed higher weight gain in the lowest ammonia level (89.97%), compared to in the highest concentration (7.26%). And either, in farming *Penaeus monodon* post-larvae exposed to TAN levels of 3 and 6 ppm for 96 h, Noor-Hamid *et al.* (1994) registered higher growth index value in the lowest ammonia concentration (8.00), compared to in the highest level (7.88). Romano & Zeng (2013) mention that the ammonia is toxic to shrimp, being its acute toxicity influenced by several factors, such as water alkalinity (Warren 1962, Skarheim 1973, Chen & Chin 1989), dissolved oxygen (Allan *et al.* 1990), pH (Noor-Hamid *et al.* 1994, Romano & Zeng 2013), salinity (Lin & Chen 2001, Li *et al.* 2007) and temperature (Schuler *et al.* 2010); shrimp species (Schuler *et al.* 2010), developmental stage (Frías-Espericueta *et al.* 1999, Barajas *et al.* 2006a) and molting (Barajas *et al.* 2006b); and ammonia exposure time (Frias-Espericueta *et al.* 2000, Lin

& Chen 2001). However, the crustaceans, in general, are able to down-regulate their ammonia level via mechanisms, such as active excretion, detoxification and reduction of permeability of the gills (Romano & Zeng 2013). The high ammonia concentration in farming environment causes an increase of the protein catabolism (Chen *et al.* 1994), thus leading to increase of free amino acids level and resulting osmoregulatory disorders (Chen *et al.* 1994). In turn, they are caused an increase of the dissolved oxygen demand / consumption, and thus an increase of energy demand / expenditure by the shrimp (Chen & Lai 1992, Chen & Lin 1992b). Additionally, Racotta & Hernández-Herrera (2000) state that the increased energy demand in high ammonia concentration is not supplied by sources, such as carbohydrates (*e.g.* glycogen), but lipids (*e.g.* acylglycerol and cholesterol) and proteins, thus leading to increase even higher of the ammonia level in animals blood (Chen *et al.* 1994). The increased energy demand / expenditure and the supply of increased energy demand by sources, such as proteins, besides the probable reduced feeding activity, in high ammonia concentrations, can worsen the shrimp zootechnical performance (Colt & Armstrong 1981, Wasielesky *et al.* 1994, Miranda *et al.* 2009), which could be observed for weight gain and specific growth rate in the current study. Survival exhibited equal values among ammonia levels and in clear water and biofloc systems. These values (100%) were equal to the verified by Barajas *et al.* (2006a) farming *L. vannamei* post-larvae exposed to TAN concentration of 7 mg L^{-1} for 4 h, with pH of 7 (100%), and higher than the observed by Noor-Hamid *et al.* (1994) farming *P. monodon* exposed to ammonia (mean of 17%).

Nitrite Concentration

Food consumption presented equal values among nitrite levels and in clear water and biofloc systems. In farming *F. paulensis* juveniles exposed to concentrations of 2.04, 10.2 and 20.4 mg L^{-1} of N- NO_2^- for 16 days, with commercial diet, Wasielesky *et al.* (2003) registered higher food consumption in the lowest nitrite level (0.19 g/g animal/day), compared to in the highest concentration (0.07 g/g animal/day). Campos *et al.* (2013), in farming *F. brasiliensis* juveniles exposed do N- NO_2^- levels of 5.36, 10.64 and 21.21 mg L^{-1} for 28 days, with commercial diet, reported higher food consumption in the lowest nitrite concentration (0.059 g/g animal/day). In the mentioned studies, although the food consumption has been verified by measurements in a period different

from the used in the present study (*e.g.* 24 h), these studies serve as comparative, concerning the alimentary behavior of penaeid exposed to many nitrite levels. Weight gain showed the highest values in Control and 6 mg L⁻¹ concentrations, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L⁻¹ level, in clear water system, and in 60 mg L⁻¹ concentration, in biofloc system. Specific growth rate exhibited the highest values in Control and 6 mg L⁻¹ levels, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L⁻¹ concentration, in clear water system. Feed conversion rate presented equal values among nitrite levels and in clear water and biofloc systems. Similarly to the current study, in farming *Penaeus monodon* juveniles exposed to concentrations of 2, 4, 8 and 20 mg L⁻¹ of N-NO₂⁻ for 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 days, Chen & Chen (1992a) observed higher final weight in the lowest nitrite level (5.12 g), compared to in the highest concentration (4.00 g). And also, in farming *L. vannamei* juveniles exposed to levels of 1, 2, 4 and 8 mg L⁻¹ of N-NO₂⁻ for 2 days, Gross *et al.* (2004) registered higher final weight value in the lowest nitrite concentration (0.46 g), compared to in the highest level (0.33 g). Romano & Zeng (2013) explain that the nitrite is toxic to animals (especially in the acid form, HNO₂), being its acute toxicity influenced by several factors, such as water dissolved oxygen (Sowers *et al.* 2004), pH (Chen & Cheng 2000), salinity (Chen & Lin 1991) and temperature (Jeberg & Jensen 1994); shrimp species, developmental stage (Chen & Lei 1990) and molting (Sowers *et al.* 2004); and nitrite exposure time (Chen & Chen 1992a, Lin & Chen 2003). However, the crustaceans, in general, are able to downregulate their nitrite level via mechanisms, such as excretion, detoxification and reduction of passive diffusion (decrease of the gills permeability) (Romano & Zeng 2013). In addition to the effects on aerobic metabolism of the shrimp, high concentration of nitrite in the farming environment causes osmoregulatory disorders, resulting from competition, in their gills, between the nitrite and salts possibly present in farming water, such as calcium, chlorine, magnesium, potassium and sodium (Chen & Chen 1992b, c). This leads to an expenditure of the energy obtained from food, not only for growth, but also for maintenance of the animals homeostasis, especially in low salinity environments (Wasielesky *et al.* 2003). The effects on aerobic metabolism and the expenditure of energy in high nitrite levels can lead to the worsening of shrimp zootechnical performance (Wasielesky *et al.* 2003, Mallasen & Valenti 2006, Schock *et al.* 2013), as was observed for weight gain and specific growth

rate in the present study. Survival showed the highest values in Control, 6 and 20 mg L⁻¹ levels, in clear water system, and in Control, 6, 20 and 60 mg L⁻¹ concentrations, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L⁻¹ level, in clear water system. Similarly to the present study, Gross *et al.* (2004) verified lower survival in the highest nitrite level (20%), compared to in the lowest concentration (50%). Mevel & Chamroux (1981) and Cohen *et al.* (2005) explain that the nitrite can reach high levels in culture systems with no water exchange as result of the imbalances in activity of the nitrifying bacteria (*Nitrosomonas* and *Nitrobacter* sp.), and thus lead shrimp to death. Several studies have already determined the nitrite LC₅₀ for *L. vannamei* post-larvae and juveniles for 12, 24, 48, 72 and 96 h of exposure (Lin & Chen 2003, Gross *et al.* 2004, Sowers *et al.* 2004). Romano & Zeng (2009) state that the death of crustaceans in the high nitrite concentrations is due to morphological and physiological damages, such as epithelial thickening, necrosis, hemocyte infiltration into the lamellae and disruption of pillar cells, in the gills, a fragile organ that performs several vital functions, such as gas exchange, excretion, acid / base equilibrium and osmoregulation (Péqueux 1995). Additionally, Tseng & Chen (2004) explain that the immunity (e.g. resistance to infectious diseases) of animals is reduced in the high nitrite levels, as observed in a study subjecting *L. vannamei* juveniles to infection by *Vibrio alginolyticus* bacterium, thus can leading them to death.

Culture System

Food consumption presented equal values among nitrite levels and in clear water and biofloc systems. However, the parameter showed the highest value in Control level, in biofloc system, and the lowest in 4 and 12 mg L⁻¹ concentrations of ammonia, in clear water system. Similarly, in farming *L. vannamei* juveniles in a superintensive system with no water exchange, Wasielesky *et al.* (2006) verified lower food consumption value in the clear water system (control) (145.89 g replicate⁻¹), compared to in the biofloc system (158.81 g replicate⁻¹). The cited study evaluated the food consumption by a feeding regime different from the used in the current study (e.g. ration provided three times daily, at 9:00 am, 3:00 pm and 9:00 pm, with measurements in a period of 24 h), however this study can serve as comparative, in relation to alimentary behavior of *L. vannamei* reared in system with no water exchange,

containing biofloc, and in clear water. By the behavior verified in ammonia study, it seems that the microbial community present in farming environment stimulates the feeding activity (*e.g.* consumption of artificial food) of shrimp. Porchas-Cornejo *et al.* (2012), in farming *L. vannamei* juveniles in ponds without and with enhancement of the natural productivity by addition of vitamins and nitrogen sources, phosphorus and carbon, besides the allocation of fixed and floating substrates, verified the highest index of full stomachs (proportion of completely full stomachs) in the treatment in which microbial community was enhanced. Considering this, the authors inferred that high densities of natural productivity promote the increase of food consumption of that juveniles species. In addition, Xu & Pan (2012) explain that the microbial community present in culture systems with no water exchange is able to produce digestive enzymes, such as amylases and proteases, which when ingested by the animals, through consumption of the biofloc, act in their digestive tract as an enzymatic supplement, thus contributing to shrimp food digestion process. And also, this microbial community is able to stimulate the production of, not only amylases and proteases, but trypsins, by animals, thus increasing the enzymatic activity in their digestive tissues (*e.g.* stomach and digestive gland) and favoring digestion and absorption of the food nutrients (Becerra-Dórame *et al.* 2012, Xu & Pan 2012, Xu *et al.* 2012). The promotion of increasing in food consumption, by the high densities of natural productivity (as in biofloc system treatment), and the enzymatic contribution with digestion process of the food, by biofloc, seem to have stimulated the feeding activity of shrimp in the ammonia study. Weight gain showed the highest values in Control and 6 mg L⁻¹ concentrations, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L⁻¹ level, in clear water system, and in 60 mg L⁻¹ concentration of nitrite, in biofloc system. And, the parameter exhibited the highest value in Control level, in biofloc system, and the lowest in 8 and 12 mg L⁻¹ concentrations, in clear water system, and in 12 mg L⁻¹ level of ammonia, in biofloc system. In farming *L. vannamei* juveniles in a system with no water exchange, Xu *et al.* (2012) observed lower weight gain in the clear water system (control) (97.1%), compared to in the biofloc system (110.3%). And Fróes *et al.* (2013) farming *L. vannamei* juveniles in a biofloc system for 3 months registered weight gain of up to 6.3 g or 84%. Specific growth rate presented the highest value in Control concentration, in biofloc system, and the lowest in 8 and 12 mg L⁻¹ levels, in clear water system, and in

12 mg L^{-1} concentration of ammonia, in biofloc system. And, the parameter exhibited the highest values in Control and 6 mg L^{-1} levels, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L^{-1} concentration of nitrite, in clear water system. Similarly, in farming *L. vannamei* juveniles in a system with no water exchange, Xu & Pan (2012) verified lower specific growth rate in the clear water system (control) ($1.16\% \text{ day}^{-1}$), compared to in the biofloc system ($1.49\% \text{ day}^{-1}$). Becerra-Dórame *et al.* (2012) farming *L. vannamei* in a superintensive system with no water exchange for 9 weeks observed specific growth rate mean of $6.70\% \text{ day}^{-1}$, thus being higher than the general mean among treatments in biofloc system registered in each of present study (1.35 and $2.71\% \text{ day}^{-1}$ for the ammonia and nitrite studies, respectively). Krummenauer *et al* (2011) mention that the biofloc present in culture systems with no water exchange acts as a supplementary nutritional source for the penaeid shrimp. The biofloc represents an additional food that is available 24 hours per day (Avnimelech 2007) and can contribute with 18 - 22% to 26 - 29% of the nitrogen retention of 9 and 5 g *L. vannamei* juveniles, respectively (Burford *et al.* 2004). Krummenauer *et al* (2014) emphasize the importance of biofloc in improving the zootechnical performance of penaeid shrimp, which was more clearly observed for specific growth rate in the nitrite study. Feed conversion rate presented equal values among nitrite levels and in clear water and biofloc systems. However, the parameter showed the highest value in 8 mg L^{-1} level, in clear water system, and the lowest in Control concentration of ammonia, in biofloc system. Similarly, Wasielesky *et al.* (2006) verified lower feed conversion rate in the biofloc system (1.03), compared to in the clear water system (control) (1.39). And Silva *et al.* (2013b) farming *L. vannamei* juveniles in a biofloc system for 45 days registered minimal feed conversion rate of 1.54. Moriarty (1997), Decamp *et al.* (2003), Hargreaves (2006) and Otoshi *et al.* (2011) explain that the ability of *L. vannamei* to consume, digest and absorb nutrients of the biofloc present in culture systems with no water exchange contributes to reduce, thus improve their feed conversion rates (Moss & Pruder 1995, Mishra *et al.* 2008, Ballester *et al.* 2010, Bauer *et al.* 2012), as was verified in the ammonia study. Survival exhibited equal values among ammonia levels and in clear water and biofloc systems. However, the parameter showed the highest values in Control, 6 and 20 mg L^{-1} levels, in clear water system, and in Control, 6, 20 and 60 mg L^{-1} concentrations, in biofloc system, and the lowest in 60 mg L^{-1} level of nitrite, in clear water system. Becerra-

Dórame *et al.* (2012) and Fróes *et al.* (2013), in superintensive systems with no water exchange, containing biofloc, registered survival of up to 86 and 95%, respectively. The biofloc present in culture systems with no water exchange exerts a protective function against infectious diseases in the animals (Zhou *et al.* 2009, Crab *et al.* 2010). Defoirdt *et al.* (2007) and Halet *et al.* (2007) state that this function is due to the presence of polyhydroxyalkanoate polyesters (*e.g.* poly- β -hydroxybutyrate) in biofloc and the interference that they are able to cause in cell-to-cell communication system (which regulates the expression of virulence) of the pathogen (Defoirdt *et al.* 2004, 2008). Additionally, the biofloc has immunostimulatory properties that contribute to shrimp resistance to infections (Crab *et al.* 2012). The protection against infectious diseases and the immunostimulation of biofloc can favor the animal survival (Lezama-Cervantes & Paniagua-Michel 2010).

Conclusions

Food consumption of *L. vannamei* juveniles is not affected among nitrite levels (Control, 6, 20 and 60 mg L⁻¹) and in clear water and biofloc systems; but in the lowest concentration of ammonia, Control, in biofloc system is positively affected. Weight gain and specific growth rate are positively affected in the lowest levels of nitrite, Control and 6 mg L⁻¹, in biofloc system, and in the lowest concentration of ammonia, Control, also in biofloc system, in which they present the best results. Feed conversion rate is not affected among nitrite levels and in clear water and biofloc systems; but in the lowest concentration of ammonia, Control, in biofloc system is positively affected. And survival is negatively affected in the highest concentration of nitrite, 60 mg L⁻¹, in clear water system; but among ammonia levels (Control, 4, 8 and 12 mg L⁻¹) and in clear water and biofloc systems is not affected. However, considering the possibility that animals are exposed to inadequate ammonia or nitrite concentrations, for long time periods, thus, negatively affecting them, is emphasized the importance of water quality maintenance (*e.g.* nitrogen compounds levels) in appropriate conditions to the reared species, for their best performance can be exhibited.

Acknowledgements

We thank the Chemistry Technician S. Fabres Viana of Laboratory of Shrimp Farming - Marine Station of Aquaculture, of the Federal University of Rio Grande, for collaborating with water chemical analyses, the Guabi - Animal Health and Nutrition for donating feed and the Coordination for the Improvement of Higher Level Personnel (CAPES) for providing scholarship to first author. W. Wasielesky Jr. and K. Campos Miranda Filho are research fellows of the National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq).

References

- Alcaraz, G., Chiappa-Carrara, X., Espinoza, V. & Vanegas, C. 1999. Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. **Journal of the World Aquaculture Society**, 30: 90-97.
- Allan, G. L., Maguire, G. B. & Hopkins, S. J. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. **Aquaculture**, 91: 265-280.
- Aminot, A. & Chaussepied, M. 1983. **Manuel des Analyses Chimiques em Milieu Marin**. Centre National pour l'Exploitation des Oceans - CNExO, Brest, France, 395 p.
- Argüello-Guevara, W. & Molina-Poveda, C. 2013. Effect of binder type and concentration on prepared feed stability, feed ingestion and digestibility of *Litopenaeus vannamei* broodstock diets. **Aquaculture Nutrition**, 19: 515-522.
- Armstrong, D. A., Chipendale, D., Knight, D. W. & Colt, J. E. 1978. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. **The Biological Bulletin**, 154: 15-31.
- Arnold, S. J., Coman, F. E., Jackson, C. J. & Groves, S. A. 2009. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. **Aquaculture**, 293: 42-48.
- Asaduzzaman, M., Wahab, M. A., Verdegem, M. C. J., Huque, S., Salam, M. A. & Azim, M. E. 2008. C/N ratio control and substrate addition for periphyton

- development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. **Aquaculture**, 280: 117-123.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, 34: 172-178.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264: 140-147.
- Ballester, E. L. C., Abreu, P. C., Cavalli, R. O., Emerenciano, M., de Abreu, L. & Wasielesky Jr, W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in zero water exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, 16: 163-172.
- Barajas, F. J. M., Villegas, R. S., Clark, G. P. & Moreno, B. L. 2006a. *Litopenaeus vannamei* (Boone) post-larval survival related to age, temperature, pH and ammonium concentration. **Aquaculture Research**, 37: 492-499.
- Barajas, F. M., Villegas, R. S., Clark, G. P., Mosqueda, J. G. & Moreno, B. L. 2006b. Daily variation in short-term static toxicity of unionized ammonia in *Litopenaeus vannamei* (Boone) postlarvae. **Aquaculture Research**, 37: 1406-1412.
- Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Tesser, M. B., Wasielesky Jr, W. & Poersch, L. H. S. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 342-343: 112-116.
- Becerra-Dórame, M. J., Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Veja, M. E., Lopez-Elias, J. A. & Porchas-Cornejo, M. A. 2012. Production response and digestive enzymatic activity of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in microbial heterotrophic and autotrophic-based systems. **Scientific World Journal**, 723654: 1-6.
- Browdy, C. L. & Moss, S. M. 2005. **Shrimp Culture in Urban Superintensive Closed Systems - Urban Aquaculture**. Blackwell Science, Oxford, UK, 173-186.
- Burford, M. A. 1997. Phytoplankton dynamics in shrimp ponds. **Aquaculture Research**, 28: 351-360.

- Burford, M. A., Thompson, J. P., McIntosh, P. R., Banuman, H. R. & Pearson, C. D. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high intensity, zero exchange shrimp pond in Belize. **Aquaculture**, 219: 393-411.
- Burford, M. A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., Bauman, R. H. & Pearson, D. C. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, 232: 525-537.
- Campbell, J. W. 1973. Nitrogen excretion. **Indian Journal of Comparative Animal Physiology**, 279-316.
- Campos, B. R., Furtado, P. S., D'Incao, F., Wasielesky Jr, W. & Poersch, L. H. S. 2013. Compostos nitrogenados sobre o consumo alimentar de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*. **Ciência Rural**, 43-12: 2202-2207.
- Carbajal-Hernández, J. J., Sánchez-Fernández, L. P., Villa-Vargas, L. A., Carrasco-Ochoa, J. A. & Martínez-Trinidad, J. F. 2013. Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. **Ecological Indicators**, 29: 148-158.
- Chen, J. C. & Chen, S. F. 1992a. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 101C: 453-458.
- Chen, J. C. & Chen, S. F. 1992b. Accumulation of nitrite in hemolymph of *Penaeus japonicus*. **Marine Ecology: Progress Series**, 83: 305-308.
- Chen, J. C. & Chen, S. F. 1992c. Accumulation of nitrite in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 103C: 477-481.
- Chen, J. C. & Cheng, S. Y. 1993. Hemolymph PCO₂ oxyhemocyanin, protein levels and excretion of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. **Aquatic Toxicology**, 27: 281-292.
- Chen, J. C. & Cheng, S. Y. 2000. Recovery of *Penaeus monodon* from functional anemia after exposure to sublethal concentration of nitrite at different pH levels. **Aquatic Toxicology**, 50: 73-83.
- Chen, J. C. & Chin, T. S. 1989. Effect of ammonia at different pH levels on *Penaeus monodon* postlarvae. **Asian Fisheries Science Journal**, 2: 233-238.

- Chen, J. C. & Kou, Y. Z. 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles. **Aquaculture**, 104: 249-260.
- Chen, J. C. & Kou, Y. Z. 1993. Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. **Aquaculture**, 109: 177-185.
- Chen, J. C. & Lai, S. H. 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescents exposed to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 102: 129-133.
- Chen, J. C. & Lee, Y. 1997. Effects of nitrite on mortality, ion regulation and acid-base balance of *Macrobrachium rosenbergii* at different chloride concentrations. **Aquatic Toxicology**, 39: 291-305.
- Chen, J. C. & Lei, S. C. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juveniles. **Journal of the World Aquaculture Society**, 21: 300-306.
- Chen, J. C. & Lin, C. Y. 1991. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus penicillatus* juveniles at two salinity levels. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 100C: 477-482.
- Chen, J. C. & Lin, C. Y. 1992a. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 101: 449-452.
- Chen, J. C. & Lin, C. Y. 1995. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. **Aquaculture**, 136: 243-255.
- Chen, J. C. & Lin, J. N. 1992b. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 102: 287-291.
- Chen, J. C. & Nan, F. H. 1993. Effects of ammonia on oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* after prolonged exposure to ammonia. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 51: 122-129.
- Chen, J. C. 1990. Effect of ammonia on growth of *Penaeus monodon* postlarvae. **Journal of the Fisheries Society of Taiwan**, 17: 207-212.
- Chen, J. C., Cheng, S. Y. & Chen, C. T. 1994. Changes of oxyhemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to

- ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 109: 339-347.
- Chen, J. C., Chin, T. C. & Lee, C. K. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp (*Penaeus monodon*). **The First Asian Forum - Asian Fisheries Society**, Phillipines, 657-662.
- Chen, J. C., Liu, P. C. & Lin, Y. T. 1988. Superintensive culture of red-tailed shrimp *Penaeus penicillatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 19: 127-131.
- Chen, J. C., Ting, Y. Y., Lin, J. N. & Lin, M. N. 1990. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. **Marine Biology**, 107: 427-431.
- Chen, J. M. & Chen, J. C. 2000. Study on the free amino acid levels in the hemolymph, gill, hepatopancreas and muscle of *Penaeus monodon* exposed to elevated ambient ammonia. **Aquatic Toxicology**, 50: 27-37.
- Cheng, S. Y. & Chen, J. C. 1998. Effects of nitrite on the oxygen consumption and ammonia excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Journal of the Fisheries Society of Taiwan**, 25: 209-218.
- Cheng, W., Liu, C. H. & Chen, J. C. 2002. Effect of nitrite on interaction between the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its pathogen *Lactococcus garvieae*. **Diseases of Aquatic Organisms**, 50: 189-197.
- Clifford, H. C. 1998. Manejo de piscinas sembradas com camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. **Proceedings of the First Latin American Shrimp Farming Congress**, Grupo de Ferias, Congresos y Eventos, Ciudad de Panama, Panama.
- Cohen, J., Samocha, T., Fox, J., Gandy, R. & Lawrence, A. 2005. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile using limited discharge and biosecure management tools. **Aquacultural Engineering**, 32: 425-442.
- Colt, J. E. & Armstrong, D. A. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. **Proceedings of the Bio-engineering Symposium for Fish Culture - American Fisheries Society**, FCS Publication, Ch. 1: 34-47.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, 270: 1-14.

- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 356-357: 351-356.
- Crab, R., Lambert, A., Defoirdt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. 2010. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. **Journal of Applied Microbiology**, 109: 1643-1649.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. & Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, 235: 513-551.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. & Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277: 125-137.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Denaloy, G. & Tacon, A. G. J. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero-water exchange culture systems. **Aquaculture Research**, 34: 345-355.
- Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P. & Verstraete, W. 2004. Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. **Aquaculture**, 240: 69-88.
- Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W. & Bossier, P. 2008. Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: lessons learned from in vivo work. **International Society for Microbial Ecology Journal**, 2: 19-26.
- Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van de Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P. & Verstraete, W. 2007. The bacterial storage compound poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Environmental Microbiology**, 9: 445-452.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B. & Bisogni, J. J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257: 346-358.
- Epp, M. A., Ziemann, D. A. & Schell, D. M. 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. **Aquaculture Research**, 33: 839-846.

- Ferreira, N. C., Bonetti, C. & Seiffert, W. Q. 2011. Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture. **Aquaculture**, 318: 425-433.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2012 (Ed.). **The State of World Fisheries and Aquaculture** - World Wide Web electronic publication, accessible at <http://www.fao.org/fishery/en>. (Accessed 04/29/2013).
- Frias-Espericueta, M. G., Harfush-Melendez, M. & Páez-Osuna, F. 2000. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 65: 98-103.
- Frías-Espericueta, M. G., Harfush-Melendez, M., Osuna-López, J. I. & Páez-Osuna, F. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 62: 646-652.
- Fróes, C., Fóes, G., Krummenauer, D., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2013. Densidade de estocagem na engorda de camarão-branco cultivado em sistema de biofoco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 48: 878-884.
- Gamboa-Delgado, J., Molina-Poveda, C. & Cahu, C. 2003. Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. **Aquaculture Research**, 34: 1403-1411.
- García-de la Parra, L. M., Bautista-Covarrubias, J. C., Rivera-de la Rosa, N., Betancourt-Lozano, M. & Guilhermino, L. 2006. Effects of methamidophos on acetylcholinesterase activity, behavior, and feeding rate of the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 65: 372-380.
- Gross, A., Abutbul, S. & Zilberg, D. 2004. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. **Journal of the World Aquaculture Society**, 35: september-3.
- Halet, D., Defoirdt, T., Van Damme, P., Vervaeren, H., Forrez, I., Van de Wiele, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Bossier, P. & Verstraete, W. 2007. Poly-β-hydroxybutyrate-accumulating bacteria protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Federation of European Microbiological Societies - Microbiology Ecology**, 60: 363-369.

- Hargreaves, J. A. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, 34: 344-363.
- Hargreaves, J. A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center**, 4503: 1-12.
- Hopkins, S. J., Sandifer, P. A., DeVoe, R. M., Holland, F. A., Browdy, C. L. & Stokes, A. D. 1995. Environmental impacts of shrimp farming with special reference to the situation in the continental United States. **Estuaries**, 18 (1A): 25-42.
- Jeberg, M. V. & Jensen, F. B. 1994. Extracellular and intracellular ionic changes in crayfish *Astacus astacus* exposed to nitrite at two acclimation temperatures. **Aquatic Toxicology**, 29: 65-72.
- Jiang, G., Yu, R. & Zhou, M. 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. **Aquaculture**, 241: 61-75.
- Jory, D. E. 1995. Feed management practices for a healthy pond environment. **Swimming Through Troubled Waters - Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. Aquaculture**, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 118-143.
- Jory, D. E., Cabrera, T. R., Dugger, D. M., Fegan, D., Lee, P. G., Lawrence, A. L., Jackson, C. J., McIntosh, R. P. & Castañeda, J. 2001. A global review of shrimp feed management: Status and perspectives. **The New Wave - Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture**, Aquaculture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 104-152.
- Krumanauer, D., Cavalli, R. O., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42: 726-733.
- Krumanauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G. & Wasielesky Jr, W. 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, 45: 3-14.
- Kuhn, D. D., Boardman, G. D., Lawrence, A. L., Marsh, L. & Flick Jr, G. J. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, 296: 51-57.

- Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Boardman, G. D., Patnaik, S., Marsh, L. & Flick Jr, G. J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 303: 28-33.
- Le Moullac, G. & Haffner, P. 2000. Environmental factors affecting immuneresponse in Crustacea. **Aquaculture**, 191: 121-31.
- Lezama-Cervantes, C. & Paniagua-Michel, J. 2010. Effects of constructed microbial mats on water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* post-larvae. **Aquacultural Engineering**, 42: 75-81.
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q. & Qin, J. G. 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, H. P., Thuet, P., Trilles, J. P., Mounet-Guillaume, R. & Charmantier, G. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. **Marine Biology**, 117: 591-598.
- Lin, Y. C. & Chen, J. C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 259: 109-119.
- Lin, Y-C. & Chen, J-C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, 224: 193-201.
- Mallasen, M. & Valenti, W. C. 2006. Effect of nitrite on larval development of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, 261: 1292-1298.
- Megahed, M. E. 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**, 5: 119-142.
- Mevel, G. & Chamroux, G. 1981. A study on the nitrification in the presence of prawns (*Penaeus japonicus*) in marine enclosed systems. **Aquaculture**, 23: 29-43.
- Miranda, K. C., Pinho, G. L. L., Wasielesky, W. & Bianchini, A. 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 150: 377-382.

- Mishra, J. K., Samocha, T. M., Patnaik, S., Speed, M., Gandy, R. L. & Ali, A. M. 2008. Performance of an intensive nursery system for the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. **Aquacultural Engineering**, 38: 2-15.
- Molina, C., Cadena, E. & Orellana, F. 2000. Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. **V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola**, Mérida, Yucatán, México, 358-380.
- Moriarty, D. J. W. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture**, 151: 333-349.
- Moss, D. R. & Moss, S. M. 2006. Effects of gender and size on feed acquisition in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 37: 161-167.
- Moss, S. M. & Pruder, G. D. 1995. Characterization of organic particles associated with rapid growth in juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, reared under intensive culture conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 187: 175-191.
- Noor-Hamid, S., Fortes, R. D. & Parado-Estepa, F. 1994. Effect of pH and ammonia on survival and growth of the early larval stages of *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture**, 125: 67-72.
- Otoshi, C. A., Moss, D. R. & Moss, S. M. 2011. Growth-enhancing effect of pond water on four size classes of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42: 417-422.
- Péqueux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. **Journal of Crustacean Biology**, 15: 1-60.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A. & Ross, L. G. 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.
- Pontes, C. S. & Arruda, M. F. 2005a. Comportamento de *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em função da oferta do alimento artificial nas fases clara e escura do período de 24 horas. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22 (3): 648-652.

- Pontes, C. S. & Arruda, M. F. 2005b. Acesso ao alimento artificial e enchimento do trato digestivo de juvenis do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) durante as fases clara e escura do período de 24 horas. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22 (4): 1039-1043.
- Pontes, C. S., de Lima, P. P. & Arruda, M. F. 2008. Feeding responses of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed at different frequencies under laboratory conditions. **Aquaculture Research**, 39: 1416-1422.
- Porchas-Cornejo, M. A., Martínez-Porcha, M., Martínez-Córdova, L. R., Ramos-Trujillo, L. & Barraza-Guardado, R. 2012. Consumption of natural and artificial foods by shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in ponds with and without enhancement of natural productivity. **Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh**, 64: 1-7.
- Racotta, I. S. & Hernández-Herrera, R. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 125: 437-443.
- Ray, A. J., Dillon, K. S. & Lotz, J. M. 2011. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. **Aquacultural Engineering**, 45: 127-136.
- Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L. & Leffler, J. W. 2010b. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299: 89-98.
- Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A. & Browdy, C. L. 2010a. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310: 130-138.
- Rebelo, M. F., Rodriguez, E. M., Santos, E. A. & Ansaldi, M. 2000. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 125: 157-164.

- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater water crustacea. **Biological Reviews**, 62: 1-24.
- Romano, N. & Zeng, C. 2007. Ontogenetic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated gill histological alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*. **Aquaculture**, 266: 246-254.
- Romano, N. & Zeng, C. 2009. Subchronic exposure to nitrite, potassium and their combination on survival, growth, total haemocyte count and gill structure of juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 72: 1287-1295.
- Romano, N. & Zeng, C. 2013. Toxic effects of ammonia, nitrite, and nitrate to decapod crustaceans: a review on factors influencing their toxicity, physiological consequences, and coping mechanisms. **Reviews in Fisheries Science**, 21 (1): 1-21.
- Schock, T. B., Duke, J., Goodson, A., Weldon, D., Brunson, J., Leffler, J. W. & Bearden, D. W. 2013. Evaluation of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) health during a superintensive aquaculture growout using NMR-based metabolomics. **Public Library of Science - One**, 8 (3): e59521.
- Schuler, D. J., Boardman, G. D., Kuhn, D. D. & Flick, G. J. 2010. Acute toxicity of ammonia and nitrite to pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 41: 438-446.
- Silva, A. F., Lara, G. R., Ballester, E. C., Krummenauer, D., Abreu, P. C. & Wasielesky Jr, W. 2013b. Efeito das altas densidades de estocagem no crescimento e sobrevivência de *Litopenaeus vannamei* na fase final de engorda, cultivados em sistemas de bioflocos (BFT). **Ciência Animal Brasileira**, 4-3: 279-287.
- Silva, K. R., Wasielesky Jr, W. & Abreu, P. C. 2013a. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 44: 30-41.
- Skarheim, H. P. 1973. Tables of the fraction of ammonia in the undissociated form for pH 6 to 9, temperature 0 to 30°C, TDS 0 to 3,000 mg L⁻¹ and salinity 5 to 35 g kg⁻¹. Pp. 5-33. In: **Sanitary engineering research laboratory**. University of California, Berkeley, 75 p.

- Soares, R., Wasielesky, W., Peixoto, S. & D'Incao, F. 2005. Food consumption and gastric emptying of *Farfantepenaeus paulensis*. **Aquaculture**, 250: 283- 290.
- Sowers, A., Young, S. P., Isely, J. J., Browdy, C. L. & Tomasso, J. R. 2004. Nitrite toxicity to *Litopenaeus vannamei* in water containing low concentrations of sea salt or mixed salts. **Journal of the World Aquaculture Society**, 35: december-4.
- Strickland, J. D. H. & Parsons, T. R. 1972. **A Practical Handbook of Seawater Analysis**. Fishery Research Board, Ottawa, Canada, 310 p.
- Tacon, A. J. G., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P. & Decamp, O. E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, 8: 121-137.
- Tapia-Salazar, M., García-Pérez, O. D., Velásquez-Soto, R. A., Nieto-López, M. G., Villarreal-Cavazos, D., Ricque-Marie, D. & Cruz-Suárez, L. E. 2012. Growth, feed intake, survival, and histological response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed diets containing grains naturally contaminated with aflatoxin. **Ciencias Marinas**, 38 (3): 491-504.
- Tseng, I-T. & Chen, J-C. 2004. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. **Fish & Shellfish Immunology**, 17: 325-333.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). 1983. **Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring - 12th Manual & Guide**. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, France.
- Walker, S. J., Neill, W. H., Lawrence, A. L. & Gatlin, D. M. 2011. Effects of temperature and starvation on ecophysiological performance of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 319: 439-445.
- Warren, K. S. 1962. Ammonia toxicity and pH. **Nature**, 195: 47-49.
- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A. & Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258: 396-403.

- Wasielesky Jr, W., Bianchini, A., Sanchez, C. C. & Poersch, L. H. 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. J., Marchiori, M. A. & Santos, M. H. S. 1994. Efeito da amônia no crescimento de pós-larvas do camarão rosa, *Penaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967 (Decapoda: Penaeidae). **Nauplius**, 2: 99-105.
- Wu, J. P. & Chen, H. C. 2005. Effects of cadmium and zinc on the growth, food consumption, and nutritional conditions of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 74: 234-241.
- Wyban, J., Walsh, W. A. & Godin, D. M. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture**, 138: 267-279.
- Xu, W. J. & Pan, L. Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. **Aquaculture**, 356-357: 147-152.
- Xu, W. J., Pan, L. Q., Zhao, D. H. & Huang, J. 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, 350-353: 147-153.
- Zar, J. H. 1996. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 3th Ed., 662 p.
- Zhou, Q., Li, K., Jun, X. & Bo, L. 2009. Role and functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture. **Bioresource Technology**, 100: 3780-3786.

Capítulo II

“Efeito da Alcalinidade sobre o Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Cultivados em Sistema de Água Clara e Bioflocos”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Átila Clívea da Silva Martins¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande - Estação Marinha de Aquacultura - Rua do Hotel,
02 - Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brasil / E-mail: pliniosfs@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Minas Gerais - Laboratório de Aquacultura - Avenida Antônio
Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brasil

**Efeito da Alcalinidade sobre o Consumo Alimentar de Juvenis
de Camarão *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Cultivados
em Sistema de Água Clara e Bioflocos**

“Efeito da alcalinidade no *L. vannamei* em bioflocos”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Átila Clívea da Silva Martins¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande - Estação Marinha de Aquacultura - Rua do Hotel, 02 - Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brasil / E-mail: pliniofs@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Minas Gerais - Laboratório de Aquacultura - Avenida Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brasil

Resumo

A alcalinidade tende a diminuir, em sistemas de cultivo sem renovação de água. Nos sistemas de cultivo sem renovação de água, constituem-se os bioflocos. Os bioflocos representam um alimento adicional à ração comercial para os camarões. O presente estudo objetivou avaliar o efeito da alcalinidade sobre o consumo alimentar e demais parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em água contendo bioflocos e água filtrada, clorada e declorada (água clara). Para tanto, durante 3 dias, camarões de $4,06 \pm 0,34$ g foram mantidos em recipientes de 3 L (1 animal/recipiente), sob as concentrações Controle, 50, 100 e 200 mg/L de alcalinidade, com 5 repetições cada, em bioflocos e água clara. A temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, sólidos suspensos, amônia, nitrito e alcalinidade foram avaliados diariamente. O consumo alimentar, mensurado em um período de 1 hora, foi verificado uma vez ao dia e o ganho em peso, taxas de crescimento específico e conversão alimentar e sobrevivência foram avaliados ao final do experimento. Nesse estudo, verifica-se que o consumo alimentar dos camarões não é afetado entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos (0,06, 0,05, 0,06 e 0,07 g ração/camarão/hora e 0,08, 0,07, 0,07 e 0,09 g ração/camarão/hora, respectivamente). Já o ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nas maiores concentrações de alcalinidade, Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos,

onde demonstram os melhores resultados. E a sobrevivência, assim como o consumo alimentar, não é afetada entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. Contudo, a possibilidade de exposição à concentrações de alcalinidade inapropriadas, durante longos períodos de tempo, pode afetar negativamente os animais, assim, ressaltando a importância da manutenção da alcalinidade em níveis adequados à espécie cultivada.

Palavras-chave: carbonato de cálcio, alimentação, camarão branco do Pacífico, flocos microbianos

Introdução

Em um cultivo de camarões, a manutenção da alimentação é um fator de extrema importância a ser considerado, visto que conforme o modo de gerenciamento da alimentação, ela pode afetar, por exemplo o crescimento, taxa de conversão alimentar e sobrevivência dos animais (Nunes & Parsons 1998, Cuzon *et al.* 2004). Da adequada manutenção da alimentação fazem parte ações, como, a consideração do peso e sobrevivência (*e.g.* biomassa) dos camarões (Pontes *et al.* 2008), bem como, a consideração do efeito de parâmetros bióticos e abióticos, no cálculo da quantidade de ração a ser ofertada (Jory *et al.* 2001). Sabe-se que, tanto os parâmetros bióticos, quanto abióticos afetam o consumo alimentar do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Jory *et al.* 2001). O parâmetro abiótico alcalinidade representa a concentração das bases capazes de neutralizar os ácidos presentes na água de cultivo. As principais bases responsáveis pela alcalinidade são os carbonatos (CO_3^{2-}) e os bicarbonatos (HCO_3^-) e seus níveis são expressos em equivalentes de carbonato de cálcio (CaCO_3) (Furtado *et al.* 2011). De acordo com Wyk & Scarpa (1999), a alcalinidade é um fator importante em um sistema de cultivo, pois sua capacidade *buffering* (*e.g.* de manter o equilíbrio ácido ↔ base) favorece a diminuição na variação do pH ao longo do dia. Além disso, a alcalinidade tende a reduzir em sistemas de cultivo sem renovação de água (McIntosh 2001, Ray *et al.* 2010a, Vinatea *et al.* 2010, Furtado *et al.* 2011). Nos sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, pode ocorrer a diminuição da concentração de alcalinidade e do pH, devido ao consumo de alcalinidade, pelas bactérias nitrificantes e pelas heterotróficas (Ebeling *et al.* 2006).

Conforme Chen *et al.* (2006), para cada grama de amônia ($\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$) oxidado à nitrato (N-NO_3^-): 7,07 g de alcalinidade e 4,18 g de oxigênio dissolvido são consumidos, sendo 0,17 g de biomassa bacteriana constituídos. Porém, Ebeling *et al.* (2006) esclarecem que para cada grama de amônia assimilado à proteína bacteriana: 3,57 g de alcalinidade, 4,71 g de oxigênio dissolvido e 15,17 g de carboidratos são consumidos, enquanto que 8,07 g de biomassa bacteriana são constituídos e 9,65 g de dióxido de carbono são produzidos. Ao comparar-se o desempenho das bactérias heterotróficas e o das nitrificantes, as bactérias heterotróficas consomem em torno da metade de alcalinidade e constituem em torno de oito vezes mais biomassa bacteriana, com aproximadamente o mesmo consumo de oxigênio dissolvido, em relação às nitrificantes (Ebeling *et al.* 2006). Furtado *et al.* (2011) recomendam que, em sistemas de cultivo sem renovação de água, o nível de alcalinidade seja mantido acima de 100 mg/L de CaCO_3 , para o melhor desempenho de bactérias nitrificantes. Juntamente ao fitoplâncton, zooplâncton e detritos, essa biomassa bacteriana constitui os flocos microbianos ou bioflocos (Burford *et al.* 2003, Avnimelech 2007, De Schryver *et al.* 2008, Ray *et al.* 2010b). Ao representar um alimento adicional à ração comercial (Hargreaves 2013), os bioflocos são capazes de favorecer a obtenção de melhores resultados de desempenho dos camarões (Moss & Pruder 1995, Epp *et al.* 2002, Arnold *et al.* 2009, Megahed 2010, Krummenauer *et al.* 2014). O *L. vannamei* é a espécie mais cultivada em diversas partes do mundo, principalmente no Hemisfério Ocidental (Saoud *et al.* 2003) e, em cultivo nos sistemas superintensivos sem renovação de água, apresenta ótimo desempenho (Cuzon *et al.* 2004, Wasielesky *et al.* 2006a). Desse modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da alcalinidade sobre o consumo alimentar e os demais parâmetros de desempenho, ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de conversão alimentar e sobrevivência, de *L. vannamei* cultivado em água contendo bioflocos (proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água) e em água clara (filtrada, clorada e declorada).

Materiais e métodos

Local

O experimento foi realizado no Laboratório de Carcinicultura - Estação Marinha de Aquacultura “Prof. Marcos Alberto Marchiori”, da Universidade Federal do Rio

Grande, localizado no Balneário Cassino, Município de Rio Grande / RS / Brasil (32°11'S, 52°10'W).

Material biológico

As pós-larvas (PL's) do camarão *Litopenaeus vannamei*, em estágio de PL 10, foram adquiridas no laboratório comercial “Aquatec” - Larvicultura de Camarões Marinhos, localizado no Município de Canguaretama / RN / Brasil e mantidas no Setor de Larvicultura, em tanques de fibra, com água do mar renovada à cada 2 dias (28°C e 30‰), com alimentação advinda de ração comercial (40 proteína bruta - Guabi) e náuplios de *Artemia* sp. por 40 dias. Em seguida, os animais foram transferidos para tanques de madeira (35 m²) revestidos de geomembrana de polietileno de alta densidade e cobertos por uma estufa agrícola, com água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água (29°C e 30‰) e mantidos com alimentação provinda de ração comercial (PotiMar/38 proteína bruta - Active - Guabi) durante mais 27 dias. Após esse período, os camarões, já em estágio de juvenil, foram, então, realocados para tanques de aclimatação às condições experimentais.

Aclimatação

Previamente ao início do experimento, os animais foram aclimatados às condições experimentais por 4 dias. Para tanto, em uma sala com fotoperíodo de 12 h, dois tanques de polietileno (163 L de volume útil) foram preenchidos, um com água do mar filtrada em filtro de areia e cuno (5 µm), clorada (15 mL hipoclorito de sódio/1000 L água) e declorada (1 mg ácido ascórbico/1000 L água) (29°C e 33‰) (Água Clara, denominado sistema AC) e outro com água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água, contendo sólidos suspensos (28°C e 35‰, 0,18 mg/L amônia e 0,54 mg/L nitrito, 461 mg/L sólidos suspensos totais, 120 mg/L alcalinidade) (Bioflocos, denominado sistema BF), e estocados com 130 camarões, cada. A água dos tanques foi aerada constantemente com o auxílio de difusores de ar acoplados à mangueiras de silicone supridas por um compressor de ar radial de 4 CV, tendo sido, ainda, a água do tanque em sistema AC, renovada em 50%, diariamente. Os animais foram alimentados com uma ração comercial (PotiMar/38 proteína bruta - Active - Guabi), por meio de bandejas, duas vezes ao dia (9:00 e 15:00 h), de acordo com Jory *et*

al. (2001) (taxa inicial de 5% da biomassa), todavia um excesso de mais 50% de alimento, em relação à quantidade recomendada pelos autores, era oferecido, visando assegurar a plena saciedade dos camarões. No entanto, no dia seguinte, a ração não consumida era removida das bandejas, com o intuito de se conservar uma boa qualidade de água. Os animais foram mantidos nas circunstâncias descritas durante 3 dias. Por fim, encerrando a aclimatação, os camarões foram aclimatados às condições experimentais durante mais 1 e último dia. Porém, para essa etapa da aclimatação, no mesmo local citado anteriormente, 40 recipientes de polietileno (3 L de volume útil) foram preenchidos, 20 com Água Clara - sistema AC (27°C e 34‰) e outros 20 com Bioflocos - sistema BF (27°C e 37‰, 0,18 mg/L amônia e 0,08 mg/L nitrito, 511 mg/L sólidos suspensos totais, 115 mg/L alcalinidade), e transferido, de forma aleatória, 1 animal ($4,06 \pm 0,34$ g) para cada. Para com a água dos recipientes, quanto à aeração, bem como, com a alimentação dos camarões, procedeu-se do mesmo modo exposto previamente, quando da etapa inicial da aclimatação.

Protocolo experimental

Após o encerramento do período de aclimatação, os animais foram mantidos nos mesmos recipientes (40 unidades de polietileno, com 3 L de volume útil) e meios (sistema AC e sistema BF) mencionados anteriormente, quando da etapa final da aclimatação, e cultivados por um período experimental de 3 dias. À cada grupo de recipientes, 20 em sistema AC e 20 em sistema BF, foram adicionadas alíquotas de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de cálcio, objetivando-se obter diferentes e pré-determinadas concentrações de alcalinidade. Assim, com base no nível de 100 mg/L indicado por Wyk & Scarpa (1999), foram empregadas as concentrações 50, 100 e 200 mg/L (na forma de carbonato de cálcio, CaCO_3), além de um nível Controle (sem adição de ácido clorídrico e hidróxido de cálcio), com 5 repetições, cada, totalizando, dessa forma, 40 unidades experimentais. A água dos recipientes foi aerada constantemente, do mesmo modo exposto previamente, quando da etapa inicial da aclimatação, e as concentrações de alcalinidade, ajustadas diariamente com o auxílio de re-adições de alíquotas das soluções. Os camarões foram alimentados com a mesma ração citada anteriormente, quando da etapa inicial da aclimatação, por meio de bandejas, duas vezes ao dia (13:00 e 15:00 h), conforme Jory *et al.* (2001) (taxa inicial de 5% da biomassa),

contudo um excesso de mais 50% de alimento, em relação à quantia recomendada pelos pesquisadores, era ofertado, visando garantir o provimento de ração suficiente à plena satisfação dos animais.

Variáveis físicas e químicas da água

A temperatura e o oxigênio dissolvido nos meios experimentais foram verificados com o auxílio do oxímetro Oxi 315i - WTW / EUA, duas vezes ao dia (9:00 e 15:00 h). Todavia, a salinidade e o pH foram medidos por meio do refratômetro Salt Refractometer w/ATC - Sper Scientific / EUA e do pHmetro S20 SevenEasyTM - Mettler Toledo / EUA, respectivamente, uma vez ao dia (9:00 h). Os sólidos suspensos totais foram avaliados com o auxílio do método de Gravimetria de Volatilização, de acordo com Strickland & Parsons (1972), uma vez ao dia. E, os níveis de alcalinidade, amônia e nitrito foram aferidos por meio dos métodos da Titrimetria, de Azul de Indofenol e da Reação de Griess, conforme APHA (1998), UNESCO (1983) e Aminot & Chaussepied (1983), respectivamente, com a mesma frequência (uma vez ao dia).

Parâmetros de desempenho dos camarões

O consumo alimentar dos camarões foi verificado com o auxílio do método de Supressão e Provisão de Alimento, adaptado de Soares *et al.* (2005). Para tanto, a ração foi: (1º) suprimida, das 17:00 h do dia corrente até às 13:00 h do dia seguinte - totalizando 20 h de supressão - com o intuito de permitir a evacuação do estômago e presumivelmente estimular o apetite dos animais; (2º) provida, às 13:00 h; (3º) removida, às 14:00 h - totalizando 1 h de provisão - objetivando-se medir, a partir do alimento não consumido, a quantidade de ração efetivamente consumida pelos camarões; e (4º) provida, das 15:00 h até às 17:00 h - totalizando 2 h de provisão - visando assegurar a plena saciedade dos animais, previamente ao início do período de supressão seguinte. O alimento não consumido era colocado em cadinhos de alumínio e seco até peso constante e, em seguida, pesado por meio da estufa Para Esterilização e Secagem 1.1 - Odontobrás / Brasil (60°C) e balança Analítica ED - Sartorius / EUA, respectivamente, uma vez ao dia. Caso fosse observada a presença de exúvia, a ração retirada do respectivo recipiente não era considerada para a avaliação do consumo alimentar.

O consumo alimentar foi avaliado com o auxílio da seguinte equação:

$$CA = \{[RP_{SU}^* - (RRC_{SU}^* - C_{SU}^*)] - L\} - SS$$

Onde, CA = consumo alimentar (g), RP_{SU} = ração provida (g), RRC_{SU} = ração removida e cadinho (g), C_{SU} = cadinho (g), L = lixiviação (1,5%), SS = sólidos suspensos possivelmente presentes no alimento não consumido dos recipientes em sistema BF (5%) e $_{SU}^*$ = sem umidade (8%).

O ganho em peso, a taxa de crescimento específico, a taxa de conversão alimentar e a sobrevivência foram verificados por meio das seguintes fórmulas, quando do término do experimento:

$$GP = P_T - P_C$$

Onde, GP = ganho em peso (g), P_T = peso dos camarões, quando do término do experimento (g) e P_C = peso dos camarões, quando do começo do experimento (g).

$$TCE = [(lnP_T - lnP_C) \times 100] / DE$$

Onde, TCE = taxa de crescimento específico (%/dia), lnP_T = logaritmo neperiano do peso dos animais (g), quando do término do experimento, lnP_C = logaritmo neperiano do peso dos animais (g), quando do começo do experimento e DE = número de dias experimentais.

$$TCA = RC / GP$$

Onde, TCA = taxa de conversão alimentar, RC = ração consumida (g) e GP = ganho em peso (g).

$$S = (V_T / V_C) \times 100$$

Onde, S = sobrevivência (%), V_T = número de camarões vivos, quando do término do experimento e V_C = número de camarões vivos, quando do começo do experimento.

Análises estatísticas

Anteriormente à realização das análises estatísticas, os parâmetros de desempenho dos animais, taxa de crescimento específico e sobrevivência, expressos em porcentagem, foram transformados com o auxílio da função arco seno da raiz quadrada. Então, todos os valores das variáveis físicas e químicas da água e dos parâmetros de desempenho dos camarões foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Levene), tendo sido, ainda, transformados caso não

tivessem resultado na situação de normais e homocedásticos. Por fim, os valores foram submetidos à análise de variância, ANOVA, Fatorial, e ao teste de comparação de médias, Tukey *HSD*, quando detectadas diferenças significativas (Zar 1996). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software STATISTICA 7.0.

Resultados

Variáveis físicas e químicas da água

Algumas variáveis físicas e químicas da água apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p<0,05$) (Tab. 1).

Tabela 1. Variáveis físicas e químicas da água do cultivo de juvenis de *Litopenaeus vannamei*, sob diferentes concentrações de alcalinidade (mg/L de CaCO₃), em sistema de água clara e bioflocos^{1,2}.

	<i>T*</i> manhã (°C)	<i>T</i> tarde (°C)	<i>OD*</i> manhã (mg/L)	<i>OD</i> tarde (mg/L)	Salinidade (%)	<i>pH</i>	Amônia (mg/L)	Nitrito (mg/L)	<i>SST*</i> (mg/L)
Água Clara									
Controle**	27,11 ± 0,37 ^a	27,49 ± 0,18 ^a	6,23 ± 0,13 ^a	6,19 ± 0,09 ^a	34,40 ± 0,51 ^b	8,30 ± 0,04 ^a	1,98 ± 0,79 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	-
50	26,94 ± 0,28 ^a	27,17 ± 0,12 ^a	6,30 ± 0,11 ^a	6,44 ± 0,09 ^a	34,33 ± 0,49 ^b	7,78 ± 0,14 ^a	2,33 ± 1,03 ^a	0,02 ± 0,02 ^b	-
100	27,03 ± 0,30 ^a	27,57 ± 0,23 ^a	6,36 ± 0,20 ^a	6,29 ± 0,15 ^a	34,80 ± 0,41 ^b	8,18 ± 0,06 ^a	2,23 ± 1,02 ^a	0,02 ± 0,02 ^b	-
200	27,00 ± 0,34 ^a	27,56 ± 0,24 ^a	6,30 ± 0,13 ^a	6,35 ± 0,21 ^a	34,53 ± 0,52 ^b	8,37 ± 0,05 ^a	2,18 ± 1,03 ^a	0,05 ± 0,04 ^b	-
Bioflocos									
Controle	25,41 ± 0,32 ^b	26,33 ± 0,21 ^b	6,52 ± 0,05 ^a	6,63 ± 0,05 ^a	38,13 ± 0,92 ^a	8,12 ± 0,26 ^a	0,08 ± 0,04 ^b	0,22 ± 0,16 ^a	518,17 ± 140,45 ^a
50	25,49 ± 0,29 ^b	26,25 ± 0,26 ^b	6,52 ± 0,06 ^a	6,68 ± 0,06 ^a	38,36 ± 1,45 ^a	7,00 ± 0,40 ^b	0,67 ± 0,30 ^{ab}	0,06 ± 0,03 ^b	391,69 ± 86,26 ^b
100	26,21 ± 0,68 ^{ab}	26,61 ± 0,10 ^b	6,40 ± 0,11 ^a	6,58 ± 0,08 ^a	37,80 ± 1,08 ^a	7,88 ± 0,12 ^a	0,25 ± 0,18 ^b	0,14 ± 0,06 ^a	478,29 ± 92,41 ^{ab}
200	25,78 ± 0,38 ^{ab}	26,59 ± 0,18 ^b	6,47 ± 0,06 ^a	6,60 ± 0,06 ^a	37,87 ± 0,83 ^a	8,39 ± 0,08 ^a	0,14 ± 0,09 ^b	0,13 ± 0,03 ^a	506,67 ± 98,28 ^a

*T = temperatura, OD = oxigênio dissolvido e SST = sólidos suspensos totais.

¹Médias ± desvios padrão de cinco repetições.

²Letras sobreescritas diferentes nas colunas indicam diferenças significativas (p<0,05).

^{**}Correspondentemente aos níveis Controle, 50, 100 e 200, as concentrações verificadas são, respectivamente, de 147,33 ± 3,72, 51,33 ± 2,29, 107,00 ± 7,02 e 188,67 ± 3,52 mg/L, para o sistema de água clara, e 135,33 ± 8,76, 43,93 ± 4,46, 89,00 ± 3,38 e 185,67 ± 4,17 mg/L, para o de bioflocos.

Parâmetros de desempenho dos camarões

Alguns parâmetros de desempenho dos camarões exibiram diferenças significativas entre os tratamentos ($p<0,05$) (Tab. 2 e Fig. 1). Quanto ao consumo alimentar, esse não diferiu significativamente, tendo sido igual entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas AC e BF (0,06, 0,05, 0,06 e 0,07 g ração/camarão/hora e 0,08, 0,07, 0,07 e 0,09 g ração/camarão/hora, respectivamente) (Fig. 1). Em ambos os sistemas, o ganho em peso diferiu significativamente entre as concentrações de alcalinidade. O parâmetro foi menor na concentração 50 mg/L (0,13 g), no sistema AC, e maior nos níveis Controle e 200 mg/L (0,50 e 0,49 g, respectivamente), no sistema BF ($p<0,05$). Em relação à taxa de crescimento específico, essa diferiu significativamente entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas AC e BF, tendo sido menor no nível 50 mg/L (0,81%/dia), no sistema AC, e maior nas concentrações Controle e 200 mg/L (3,18 e 3,13%/dia, respectivamente), no sistema BF ($p<0,05$). Em ambos os sistemas, a taxa de conversão alimentar diferiu significativamente entre as concentrações de alcalinidade. O parâmetro foi maior nos níveis 50, 100 e 200 mg/L (1,39, 0,64 e 0,61, respectivamente), no sistema AC, e na concentração 50 mg/L (0,65), no sistema BF, e menor no nível Controle (0,46), no sistema AC, e nas concentrações Controle, 100 e 200 mg/L (0,32, 0,45 e 0,44, respectivamente), no sistema BF ($p<0,05$). Quanto à sobrevivência, essa não diferiu significativamente, tendo sido igual (100%) entre as concentrações de alcalinidade e nos sistemas AC e BF.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados sob diferentes concentrações de alcalinidade (mg/L de CaCO₃), em sistema de água clara e bioflocos^{1,2}.

	<i>Ganho em Peso (g)</i>	<i>Taxa de Crescimento Específico (%/dia)</i>	<i>Taxa de Conversão Alimentar</i>	<i>Sobrevivência (%)</i>
Água Clara				
Controle*	0,41 ± 0,13 ^{ab}	2,23 ± 0,72 ^{ab}	0,46 ± 0,09 ^b	100 ^a
50	0,13 ± 0,08 ^c	0,81 ± 0,55 ^b	1,39 ± 0,28 ^a	100 ^a
100	0,30 ± 0,09 ^b	1,79 ± 0,42 ^{ab}	0,64 ± 0,13 ^a	100 ^a
200	0,45 ± 0,06 ^{ab}	2,57 ± 0,38 ^{ab}	0,61 ± 0,12 ^a	100 ^a
Bioflocos				
Controle	0,50 ± 0,10 ^a	3,18 ± 0,70 ^a	0,32 ± 0,07 ^b	100 ^a
50	0,35 ± 0,10 ^b	1,80 ± 0,53 ^{ab}	0,65 ± 0,13 ^a	100 ^a
100	0,39 ± 0,08 ^{ab}	2,31 ± 0,59 ^{ab}	0,45 ± 0,09 ^b	100 ^a
200	0,49 ± 0,07 ^a	3,13 ± 0,81 ^a	0,44 ± 0,09 ^b	100 ^a

¹Médias ± desvios padrão de cinco repetições.

²Letras sobreescritas diferentes nas colunas indicam diferenças significativas (p<0,05).

*Correspondentemente aos níveis Controle, 50, 100 e 200, as concentrações verificadas são, respectivamente, de 147,33 ± 3,72, 51,33 ± 2,29, 107,00 ± 7,02 e 188,67 ± 3,52 mg/L, para o sistema de água clara, e 135,33 ± 8,76, 43,93 ± 4,46, 89,00 ± 3,38 e 185,67 ± 4,17 mg/L, para o de bioflocos.

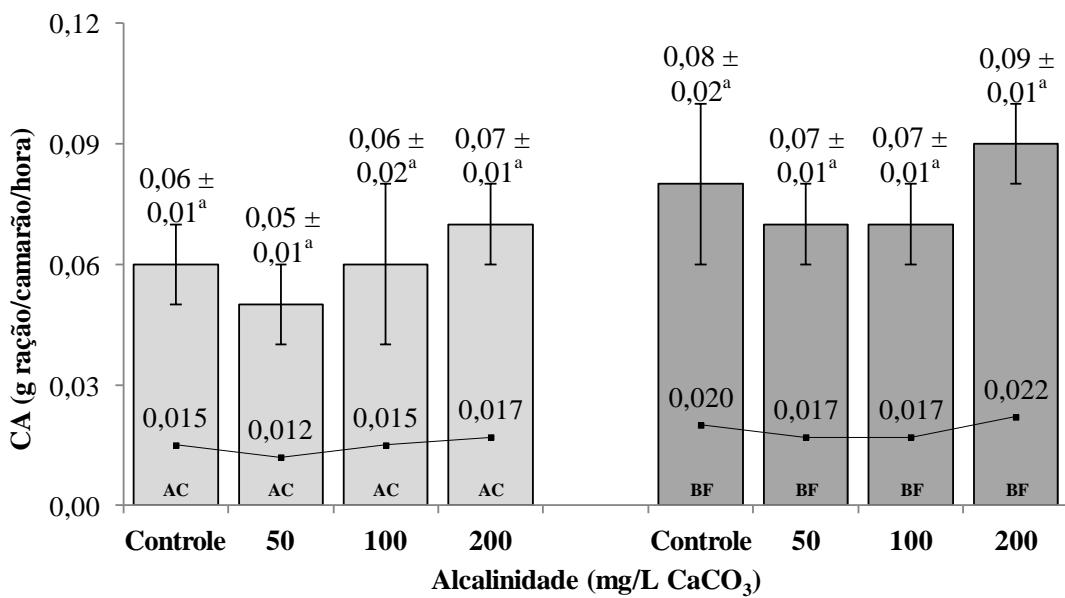


Figura 1. Consumo alimentar (CA) de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados sob diferentes concentrações de alcalinidade, em sistema de água clara (AC) e bioflocos (BF). Médias ± erros padrão de cinco repetições. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p<0,05$). Valores dentro das barras (---) correspondem à médias de consumo alimentar expressas em g ração/g camarão/hora.

Discussão

Variáveis físicas e químicas da água

No sistema de água clara e de bioflocos, em todas as concentrações de alcalinidade, a temperatura da parte da manhã e a da parte da tarde estiveram ligeiramente fora da faixa de 28 à 32°C indicada por Walker *et al.* (2011) para o maior crescimento e sobrevivência de juvenis de *L. vannamei*. O oxigênio dissolvido da parte da manhã e o da parte da tarde, em todos os níveis de alcalinidade, em ambos os sistemas, estiveram em torno da concentração de 5 mg/L sugerida por Carbajal-Hernández *et al.* (2013) para o cultivo de camarões marinhos. No sistema de água clara e no de bioflocos, em todos os níveis de alcalinidade, a salinidade esteve dentro da faixa de 33 à 40‰ preconizada por Ponce-Palafox *et al.* (1997) para o maior crescimento e sobrevivência de juvenis de *L. vannamei*. O pH, em todas as concentrações de alcalinidade, em ambos os sistemas, esteve dentro da faixa de 7 à 9 sugerida por Chen *et al.* (2006) para o maior desenvolvimento de bactérias heterotróficas e nitrificantes. No sistema de água clara e no de bioflocos, em todos os níveis de alcalinidade, as

concentrações de amônia e de nitrito estiveram abaixo dos níveis de segurança de 3,95 e 25,7 mg/L, em salinidade de 35‰, preconizados por Lin & Chen (2001) e (2003), respectivamente, para o cultivo de juvenis de *L. vannamei*. Em todos os níveis de alcalinidade, os sólidos suspensos totais estiveram ligeiramente fora da faixa de 453 à 465 mg/L indicada por Ray *et al.* (2010a) para o maior crescimento de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema superintensivo com mínima renovação de água.

Parâmetros de desempenho dos camarões

Concentração de alcalinidade

O consumo alimentar apresentou iguais valores entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos, contudo o ganho em peso demonstrou o menor valor na concentração 50 mg/L, no sistema de água clara, e os maiores nos níveis Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Similarmente ao atual estudo, Furtado *et al.* (2011) cultivando juvenis de *L. vannamei*, com correções de pH e alcalinidade com o auxílio da adição de Na_2CO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e NaHCO_3 , expostos à níveis de 78, 100, 144,5 e 162,2 mg/L de CaCO_3 durante 60 dias, registraram menor ganho em peso no tratamento em menor concentração de alcalinidade (6,2 g) e, da mesma forma, Furtado *et al.* (2015) cultivando juvenis de mesma espécie sob níveis de 70,26, 145,50, 224,33 e 299,13 mg/L de CaCO_3 por 49 dias, também, verificaram menor ganho em peso no tratamento em menor concentração de alcalinidade (4,57 g). A taxa de crescimento específico exibiu o menor valor no nível 50 mg/L, no sistema de água clara, e os maiores nas concentrações Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Semelhantemente ao presente estudo, Furtado *et al.* (2015) registraram menor taxa de crescimento específico no tratamento em menor concentração de alcalinidade (6,41%/dia). No entanto, contrariamente ao atual estudo, Furtado *et al.* (2014) cultivando juvenis de *L. vannamei*, sob diferentes doses de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, expostos à níveis de 82,05, 90,65, 132,17 e 159,27 mg/L de CaCO_3 por 56 dias, verificaram menor taxa de crescimento específico no tratamento em maior concentração de alcalinidade (5,07%/dia). A taxa de conversão alimentar apresentou os maiores valores nos níveis 50, 100 e 200 mg/L, no sistema de água clara, e na concentração 50 mg/L, no sistema de bioflocos, e os menores no nível Controle, no sistema de água clara, e nas concentrações Controle, 100 e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Furtado *et al.* (2011) e (2015) observaram maior taxa de conversão alimentar

no tratamento em menor concentração de alcalinidade (3,0 e 1,15, respectivamente). Todavia, Furtado *et al.* (2014) registraram maior taxa de conversão alimentar no tratamento em maior nível de alcalinidade (1,79). A sobrevivência demonstrou iguais valores entre as concentrações de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. Esses valores (100%) foram superiores aos verificados por Furtado *et al.* (2011), (2014) e (2015) cultivando *L. vannamei* (de 80,0 à 85,0%, de 85,03 à 93,72% e de 88,00 à 92,12%, respectivamente) expostos à diferentes níveis de alcalinidade. Contudo, cabe ressaltar que o presente estudo teve tempo de duração muito menor do que o dos estudos citados. Em conjunto com a alcalinidade, o pH da água de cultivo é capaz de afetar o crescimento dos animais, o que pode ser sinalizado no atual estudo. Pan *et al.* (2007) cultivando pós-larvas de *L. vannamei*, expostas à 7,1, 7,6, 8,1, 8,6 e 9,1 de pH por 96 horas, registraram menor ganho em peso no tratamento em menor pH, porém igual sobrevivência entre todos os tratamentos. Wang *et al.* (2012) esclarecem que o pH pode ocasionar efeito sobre o crescimento, metabolismo, homeostase, osmorregulação e imunidade de peneídeos, como o *L. vannamei*. Allan & Maguire (1992) explicam que baixos valores de pH causam diminuição no crescimento de *Penaeus monodon* e Wasielesky *et al.* (2006b) esclarecem que a redução do pH para valores abaixo de 7, em sistemas de cultivo sem renovação de água, ocasiona diminuição no crescimento de *L. vannamei*. Além disso, Wickins (1976) explica que baixos valores de pH causam redução na frequência de ecdisse de *P. monodon*. E, ainda, Abbink *et al.* (2011) cultivando juvenis de peixes da espécie *Seriola lalandi*, expostos à 6,58, 7,16 e 7,85 de pH durante 27 dias, verificaram diminuição do peso final e taxa de crescimento específico no tratamento em menor pH. Os autores explicam que a acidificação da água de cultivo pode causar uma acidose no sangue dos animais, levando, dessa forma, ao rompimento da sua homeostase e à elevação da sua demanda / gasto de energia.

Sistema de cultivo

O consumo alimentar apresentou iguais valores entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. Wasielesky *et al.* (2006a), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema superintensivo sem renovação de água, com ração comercial contendo 35% de proteína bruta, verificaram menor valor de consumo alimentar no tratamento em sistema de água clara (controle) (145,89 g/réplica), em comparação ao

em sistema de bioflocos (158,81 g/réplica). No estudo citado, embora o consumo alimentar tenha sido avaliado com o auxílio de um regime de alimentação diferente do utilizado no atual estudo, esse estudo serve de comparativo, em relação ao comportamento alimentar de *L. vannamei* cultivado em sistema sem renovação de água, contendo bioflocos, e em água clara. O ganho em peso demonstrou o menor valor na concentração 50 mg/L, no sistema de água clara, e os maiores nos níveis Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Semelhantemente ao presente estudo, Xu & Pan (2012), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema sem renovação de água, sob relações C:N de 15:1 e 20:1, observaram menor ganho em peso no tratamento em sistema de água clara (controle) (41,7%), em comparação ao em sistema de bioflocos (56,5%). A taxa de crescimento específico exibiu o menor valor no nível 50 mg/L, no sistema de água clara, e os maiores nas concentrações Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Similarmente ao atual estudo, Xu *et al.* (2012), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* em sistema sem renovação de água, com ração contendo 35% de proteína bruta, verificaram menor taxa de crescimento específico no tratamento em sistema de água clara (controle) (1,38%/dia), em comparação ao em sistema de bioflocos (1,52%/dia). E Krummenauer *et al.* (2011) e (2014) cultivando juvenis de *L. vannamei* em sistema de bioflocos por 120 e 30 dias observaram crescimento de até 0,92 e 1,14 g/semana ou 2,39 e 2,93%/dia, respectivamente. Hargreaves (2013) explica que os bioflocos presentes nos sistemas de cultivo sem renovação de água representam um alimento adicional (além da ração comercial) para os animais. Diversos estudos avaliaram a composição centesimal dos bioflocos, tendo registrado percentuais de 14,50 até 52,05% de proteínas (aminoácidos essenciais e não-essenciais), de 0,10 até 9,90% de lipídios (ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados) e de 28,25 até 36,40% de carboidratos, além de pigmentos (carotenóides e clorofilas) e sais minerais (Wasielesky *et al.* 2006a, Azim & Little 2008, Azim *et al.* 2008, Ju *et al.* 2008, Kuhn *et al.* 2009, 2010, Becerra-Dórame *et al.* 2012, Maicá *et al.* 2012, Xu & Pan 2012, Xu *et al.* 2012). Tal composição, de excelente qualidade nutricional, é capaz de promover a melhora dos índices zootécnicos dos camarões, como pode ser registrado para o ganho em peso e a taxa de crescimento específico no presente estudo. No entanto, Crab *et al.* (2010) salientam que as propriedades nutricionais dos bioflocos são influenciadas por fatores, como, por exemplo, a fonte de carbono adicionada ao cultivo para o

favorecimento da produtividade natural. Os pesquisadores esclarecem que cada fonte de carbono estimula o desenvolvimento de determinadas espécies de bactérias, protozoários e microalgas, que constituem, desse modo, comunidades microbianas específicas, as quais acabam por conferir, aos bioflocos, composições proximais, além de outras características, como, atratibilidade, palatabilidade e digestibilidade, particulares. A taxa de conversão alimentar apresentou os maiores valores nos níveis 50, 100 e 200 mg/L, no sistema de água clara, e na concentração 50 mg/L, no sistema de bioflocos, e os menores no nível Controle, no sistema de água clara, e nas concentrações Controle, 100 e 200 mg/L, no sistema de bioflocos. Vinatea *et al.* (2010) e Scopel *et al.* (2011) cultivando juvenis de *L. vannamei* em sistemas sem renovação de água durante 21 semanas e 76 dias, respectivamente, verificaram taxas de conversão alimentar médias de 1,36 e 1,57, sendo, assim, superiores à média geral entre os tratamentos em sistema de bioflocos registrada no presente estudo (0,47). A sobrevivência demonstrou iguais valores entre as concentrações de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. Esses valores (100%) foram superiores aos observados por Audelo-Naranjo *et al.* (2012) e Fróes *et al.* (2013) cultivando juvenis de *L. vannamei* em sistemas sem renovação de água por 40 dias e 3 meses (valores de até 97 e 95%), respectivamente.

Conclusões

O consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* não é afetado entre os níveis de alcalinidade (Controle, 50, 100 e 200 mg/L) e nos sistemas de água clara e bioflocos. Já o ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nas maiores concentrações de alcalinidade, Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos, onde demonstram os melhores resultados. E a sobrevivência, assim como o consumo alimentar, não é afetada entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos. Contudo, a possibilidade de exposição à concentrações de alcalinidade inapropriadas, durante longos períodos de tempo, pode afetar negativamente os animais, assim, ressaltando a importância da manutenção da alcalinidade em níveis adequados à espécie cultivada.

Agradecimentos

Agradecemos ao Técnico em Química, Sandro Fabres Viana, do Laboratório de Carcinicultura - Estação Marinha de Aquacultura, da Universidade Federal do Rio Grande, pela colaboração com as análises químicas da água, à Guabi - Nutrição e Saúde Animal, pela doação de ração e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo ao primeiro autor. Wilson Wasielesky Jr. e Kleber Campos Miranda Filho são bolsistas de produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- Abbink, W., Garcia, A. B., Roques, J. A. C., Partridge, G. J., Kloet, K. & Schneider, O. 2011. The effect of temperature and pH on the growth and physiological response of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, 330-333: 130-135.
- Allan, G. L. & Maguire, G. B. 1992. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture**, 107: 33-47.
- American Public Health Association (APHA). 1998. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC.
- Aminot, A. & Chaussepied, M. 1983. **Manuel des Analyses Chimiques em Milieu Marin**. Centre National pour l'Exploitation des Oceans - CNExO, Brest, France, 395 p.
- Arnold, S. J., Coman, F. E., Jackson, C. J. & Groves, S. A. 2009. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. **Aquaculture**, 293: 42-48.
- Audelo-Naranjo, J. M., Voltolina, D. & Romero-Beltrán, E. 2012. Culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) with zero water exchange and no food addition: an eco-friendly approach. **Latin American Journal of Aquatic Research**, 40 (2): 441-447.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264: 140-147.

- Azim, M. E & Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283: 29-35.
- Azim, M. E, Little, D. C. & Bron, J. E. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. **Bioresource Technology**, 99: 3590-3599.
- Becerra-Dórame, M. J., Martínez-Porcha, M., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Veja, M. E., Lopez-Elias, J. A. & Porcha-Cornejo, M. A. 2012. Production response and digestive enzymatic activity of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in microbial heterotrophic and autotrophic-based systems. **Scientific World Journal**, 723654: 1-6.
- Burford, M. A., Thompson, J. P., McIntosh, P. R., Banuman, H. R. & Pearson, C. D. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high intensity, zero exchange shrimp pond in Belize. **Aquaculture**, 219: 393-411.
- Carbajal-Hernández, J. J., Sánchez-Fernández, L. P., Villa-Vargas, L. A., Carrasco-Ochoa, J. A. & Martínez-Trinidad, J. F. 2013. Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. **Ecological Indicators**, 29: 148-158.
- Chen, S., Ling, J. & Blancheton, J. P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. **Aquacultural Engineering**, 34: 179-197.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P. & Verstraete, W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, 41: 559-567.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. & Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, 235: 513-551.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. & Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277: 125-137.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B. & Bisogni, J. J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257: 346-358.

- Epp, M. A., Zieman, D. A. & Schell, D. M. 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. **Aquaculture Research**, 33: 839-846.
- Fróes, C., Fóes, G., Krummenauer, D., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2013. Densidade de estocagem na engorda de camarão-branco cultivado em sistema de biofoco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 48: 878-884.
- Furtado, P. S., Gaona, C. A. P., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2014. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). **Aquaculture International**, 22: 1009-1023.
- Furtado, P. S., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. **Aquaculture**, 321: 130-135.
- Furtado, P. S., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2015. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture International**, 23: 345-358.
- Hargreaves, J. A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center**, 4503: 1-12.
- Jory, D. E., Cabrera, T. R., Dugger, D. M., Fegan, D., Lee, P. G., Lawrence, A. L., Jackson, C. J., McIntosh, R. P. & Castañeda, J. 2001. A global review of shrimp feed management: Status and perspectives. **The New Wave - Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture**, Aquaculture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 104-152.
- Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W. C. & Horgen, F. D. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. **Aquaculture Research**, 39: 118-133.
- Krummenauer, D., Cavalli, R. O., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42: 726-733.

- Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G. & Wasielesky Jr, W. 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, 45: 3-14.
- Kuhn, D. D., Boardman, G. D., Lawrence, A. L., Marsh, L. & Flick Jr, G. J. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, 296: 51-57.
- Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Boardman, G. D., Patnaik, S., Marsh, L. & Flick Jr, G. J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 303: 28-33.
- Lin, Y. C. & Chen, J. C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 259: 109-119.
- Lin, Y-C. & Chen, J-C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, 224: 193-201.
- Maicá, P. F., de Borba, M. R. & Wasielesky Jr, W. 2012. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. **Aquaculture Research**, 43: 361-370.
- McIntosh, B. J. 2001. Changing paradigms in shrimp farming. Establishment of heterotrophic bacterial communities. **Global Aquaculture Advocate**, february: 53-58.
- Megahed, M. E. 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**, 5: 119-142.
- Moss, S. M. & Pruder, G. D. 1995. Characterization of organic particles associated with rapid growth in juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, reared under intensive culture conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 187: 175-191.
- Nunes, A. J. P. & Parsons, G. J. 1998. Food handling efficiency and particle size selectivity by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* fed a dry pelleted feed. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, 31: 193-213.

- Pan, L-Q., Zhang, L-J. & Liu, H-Y. 2007. Effects of salinity and pH on ion-transport enzyme activities, survival and growth of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. **Aquaculture**, 273: 711-720.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A. & Ross, L. G. 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.
- Pontes, C. S., de Lima, P. P. & Arruda, M. F. 2008. Feeding responses of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed at different frequencies under laboratory conditions. **Aquaculture Research**, 39: 1416-1422.
- Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L. & Leffler, J. W. 2010a. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299: 89-98.
- Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A. & Browdy, C. L. 2010b. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310: 130-138.
- Saoud, I. P., Davis, D. A. & Rouse, D. B. 2003. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. **Aquaculture**, 217: 373-383.
- Scopel, B. R., Schveitzer, R., Seiffert, W. Q., Pierri, V., Arantes, R. F., Vieira, F. N. & Vinatea, L. A. 2011. Substituição da farinha de peixe em dietas para camarões marinhos cultivados em sistema bioflocos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46: 928-934.
- Soares, R., Wasielesky, W., Peixoto, S. & D'Incao, F. 2005. Food consumption and gastric emptying of *Farfantepenaeus paulensis*. **Aquaculture**, 250: 283- 290.
- Strickland, J. D. H. & Parsons, T. R. 1972. **A Practical Handbook of Seawater Analysis**. Fishery Research Board, Ottawa, Canada, 310 p.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). 1983. **Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring - 12th Manual & Guide**. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, France.

- Vinatea, L., Gálvez, A. O., Browdy, C. L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B. L., Lawson, A., Shuler, A. & Leffler, J. W. 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering**, 42: 17-24.
- Walker, S. J., Neill, W. H., Lawrence, A. L. & Gatlin, D. M. 2011. Effects of temperature and starvation on ecophysiological performance of the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 319: 439-445.
- Wang, L., Wu, J., Wang, W-N., Cai, D-X., Liu, Y. & Wang, A-L. 2012. Glutathione peroxidase from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: characterization and its regulation upon pH and Cd exposure. **Ecotoxicology**, 21: 1585-1592.
- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A. & Browdy, C. L. 2006a. 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.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Kegl, R., Bruce, J., Stokes, A. & Browdy, C. L. 2006b. Efeito do pH na sobrevivência e crescimento do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em cultivos superintensivos. **Anais do Congresso Aquaciência**, Bento Gonçalves, RS, Brazil.
- Wickins, J. F. 1976. The tolerance of warm-water prawn to recirculated water. **Aquaculture**, 9: 19-37.
- Wyk, P. V. & Scarpa, J. 1999. Water quality and management. Pp. 128-138. In: Wyk, P. V. et al. (Eds.). **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee.
- Xu, W. J. & Pan, L. Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. **Aquaculture**, 356-357: 147-152.
- Xu, W. J., Pan, L. Q., Zhao, D. H. & Huang, J. 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, 350-353: 147-153.

Zar, J. H. 1996. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 3th Ed., 662 p.

Capítulo III

“Efeito dos Sólidos Suspensos sobre o Consumo Alimentar de Juvenis de Camarão *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Cultivados em Sistema de Bioflocos”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Carlos Augusto Prata Gaona¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande - Estação Marinha de Aquacultura - Rua do Hotel,
02 - Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brasil / E-mail: capgaona@gmail.com

²Universidade Federal de Minas Gerais - Laboratório de Aquacultura - Avenida Antônio
Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brasil

**Efeito dos Sólidos Suspensos sobre o Consumo Alimentar de Juvenis
de Camarão *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) Cultivados
em Sistema de Bioflocos**

“Efeito dos sólidos suspensos no *L. vannamei* em bioflocos”

**Paula Fraga Maicá¹, Plínio Schmidt Furtado¹, Carlos Augusto Prata Gaona¹,
Kleber Campos Miranda Filho² & Wilson Wasielesky Jr¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande - Estação Marinha de Aquacultura - Rua do Hotel,
02 - Querência - Rio Grande - RS - 96201-900 - Brasil / E-mail: capgaona@gmail.com

²Universidade Federal de Minas Gerais - Laboratório de Aquacultura - Avenida Antônio
Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - 31270-901 - Brasil

Resumo

Os sólidos suspensos, ou bioflocos, tendem a se acumular e atingir níveis elevados, em sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água. Os bioflocos, além de contribuir com a manutenção da qualidade da água de cultivo, atuam como uma fonte de suplementação nutricional para os camarões. Todavia, a presença de bioflocos, em quantidade excessiva, na água de cultivo pode ocasionar efeito negativo, tanto sobre a qualidade de água, quanto sobre o desempenho dos animais. O presente estudo objetivou avaliar o efeito dos sólidos suspensos sobre o consumo alimentar e demais parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados em água contendo bioflocos e água clara. Para tanto, durante 3 dias, camarões de $3,20 \pm 0,22$ g foram mantidos em recipientes de 3 L (1 animal/recipiente), sob as concentrações água clara, 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de sólidos suspensos, com 5 repetições cada. A temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, alcalinidade, amônia, nitrito, nitrato e sólidos suspensos foram avaliados diariamente. O consumo alimentar, mensurado em um período de 1 hora, foi verificado uma vez ao dia e o ganho em peso, taxas de crescimento específico e conversão alimentar e sobrevivência foram avaliados ao final do experimento. Nesse estudo, verifica-se que o consumo alimentar dos camarões é afetado negativamente na maior concentração, 1500 mg/L de bioflocos (0,01 g reação/camarão/hora). E o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a

sobrevivência, também são afetados negativamente no maior nível, 1500 mg/L de sólidos suspensos, onde apresentam os piores resultados. Desse modo, fica salientada a importância da manutenção da qualidade de água nas condições apropriadas à espécie cultivada, para que o seu melhor desempenho possa ser demonstrado.

Palavras-chave: SST, alimentação, camarão branco do Pacífico, flocos microbianos

Introdução

Um aspecto muito importante a ser gerenciado em um sistema de cultivo de camarões é a alimentação, pois de acordo com a forma como é feita a sua manutenção, pode afetar, por exemplo a qualidade da água e substrato do sistema (Nunes *et al.* 1996, Bador 1998) e o grau de impacto ambiental, pelos efluentes do cultivo, sobre as suas áreas adjacentes (Gamboa-Delgado *et al.* 2003). A alimentação gerenciada apropriadamente envolve, entre outras, ações, como, a adequada determinação do número de vezes, horário e modo de oferecimento do alimento (Jory & Cabrera 1998); o monitoramento do consumo da ração ofertada, por meio da utilização de bandejas de alimentação (Martinez-Cordova *et al.* 1998, Pontes *et al.* 2008); além da consideração do efeito de fatores bióticos e abióticos, no ajuste da quantia de alimento oferecido (Jory *et al.* 2001). Jory *et al.* (2001) observaram que o consumo alimentar do camarão *Litopenaeus vannamei* é afetado, tanto pelos fatores bióticos, quanto abióticos, como, disponibilidade de alimento natural na água de cultivo. O alimento natural é representado por microorganismos, como, bactérias, fitoplâncton, zooplâncton e detritos, em sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, nos quais ele recebe a denominação de bioflocos (Avnimelech 2007, Ray *et al.* 2010b). As bactérias nitrificantes quimioautotróficas e as heterotróficas atuam na manutenção da concentração de nitrogenados nos sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água (Ebeling *et al.* 2006, Hargreaves 2006). Sob intensa e constante aeração, as bactérias nitrificantes quimioautotróficas realizam a nitrificação, da amônia até o nitrato (Avnimelech 2006, Ray *et al.* 2010b). Já sob uma relação carbono:nitrogênio de 10 à 20:1, as bactérias heterotróficas realizam a constituição de biomassa bacteriana (Hargreaves 2006, Ballester *et al.* 2010). Além de contribuir com a manutenção da qualidade da água de cultivo (Burford 1997, Tacon *et al.* 2002, Crab *et al.* 2007), os

bioflocos atuam como uma fonte de suplementação nutricional para os camarões (Avnimelech 2007, Krummenauer *et al.* 2011), podendo promover melhorias nos seus índices zootécnicos (Moss & Pruder 1995, Megahed 2010, Krummenauer *et al.* 2014). No entanto, a presença de bioflocos, em quantidade excessiva, na água de cultivo é capaz de causar efeito negativo, tanto sobre a qualidade de água, quanto sobre o desempenho dos animais. Tais efeitos incluem: supressão do desenvolvimento de microalgas benéficas e favorecimento da proliferação de microalgas nocivas e bactérias, elevação da demanda bioquímica de oxigênio (Browdy *et al.* 2001, Alonso-Rodriguez & Paez-Osuna 2003, Hargreaves 2006), desestabilização do oxigênio dissolvido e pH (Atwood *et al.* 2004), aumento das concentrações de fosfato e nitrato, redução do nível de alcalinidade (Ray *et al.* 2010a); e diminuição do crescimento, piora da eficiência de conversão alimentar (Vinatea *et al.* 2010), obstrução das brânquias, ocasionando uma maior sensibilidade à situações de hipoxia e podendo levar à asfixia (Schweitzer *et al.* 2013). Um modo de se quantificar a concentração de bioflocos é por meio da medição do nível de sólidos suspensos totais, SST, presente na água de cultivo (Schryver *et al.* 2008, Avnimelech 2009). Os sólidos suspensos totais tendem a se acumular e atingir concentrações elevadas em sistemas de cultivo superintensivos sem renovação de água, devido ao contínuo *input* de matéria orgânica e à elevada taxa de crescimento das bactérias heterotróficas (Van Wyk 2006, Gaona *et al.* 2011). Portanto, levando-se em consideração os efeitos mencionados acima, assim como, o lento estabelecimento (*e.g.* reduzida taxa de crescimento) das bactérias nitrificantes (Ebeling *et al.* 2006), um determinado grau de controle do nível de SST é recomendado (Van Wyk 2006) e pode ser obtido com o auxílio, desde filtros de micro malha e *foam fractionators* (Davis & Arnold 1998), até câmaras de sedimentação (Ray *et al.* 2011), para a sua remoção da água de cultivo. Em cultivo nos sistemas superintensivos sem renovação de água, o *L. vannamei* exibe excelente desempenho (Cuzon *et al.* 2004, Wasielesky *et al.* 2006) e, além disso, é a espécie mais cultivada mundialmente (FAO 2012). Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar o efeito dos sólidos suspensos sobre o consumo alimentar e os demais parâmetros de desempenho, ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de conversão alimentar e sobrevivência, de *L. vannamei* cultivado em água contendo bioflocos (proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água).

Materiais e métodos

Local

O experimento foi realizado no Laboratório de Carcinicultura - Estação Marinha de Aquacultura “Prof. Marcos Alberto Marchiori”, da Universidade Federal do Rio Grande, localizado no Balneário Cassino, Município de Rio Grande / RS / Brasil ($32^{\circ}11'S$, $52^{\circ}10'W$).

Material biológico

As pós-larvas (PL's) do camarão *Litopenaeus vannamei*, em estágio de PL 10, foram adquiridas no laboratório comercial “Aquatec” - Larvicultura de Camarões Marinhos, localizado no Município de Canguaretama / RN / Brasil e mantidas no Setor de Larvicultura, em tanques de fibra, com água do mar renovada à cada 2 dias ($28^{\circ}C$ e 30‰), com alimentação advinda de ração comercial (40 proteína bruta - Guabi) e náuplios de *Artemia* sp. por 40 dias. Em seguida, os animais foram transferidos para tanques de madeira (35 m^2) revestidos de geomembrana de polietileno de alta densidade e cobertos por uma estufa agrícola, com água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água ($26^{\circ}C$ e 33‰) e mantidos com alimentação provinda de ração comercial (PotiMar/38 proteína bruta - Active - Guabi) durante mais 31 dias. Após esse período, os camarões, já em estágio de juvenil, foram, então, realocados para tanques de aclimatação às condições experimentais.

Aclimatação

Previamente ao início do experimento, os animais foram aclimatados às condições experimentais por 4 dias. Para tanto, em uma sala com fotoperíodo de 12 h, cinco tanques de polietileno (45 L de volume útil) foram preenchidos, um com água do mar filtrada em filtro de areia e cuno ($5\text{ }\mu\text{m}$), clorada (15 mL hipoclorito de sódio/1000 L água) e declorada (1 mg ácido ascórbico/1000 L água) ($24^{\circ}C$ e 32‰) (denominado Água Clara) e outros quatro com água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água, contendo diferentes e pré-determinados níveis de bioflocos ($24^{\circ}C$ e 34‰, 0,04 mg/L amônia e 0,03 mg/L nitrito, 132 mg/L alcalinidade) (denominados Sólidos Suspensos Totais, SST), e estocados com 12 camarões, cada. A água dos

tanques foi aerada constantemente com o auxílio de difusores de ar acoplados à mangueiras de silicone supridas por um compressor de ar radial de 4 CV, tendo sido, ainda, a água do tanque em Água Clara, renovada em 50%, diariamente. Os animais foram alimentados com uma ração comercial (PotiMar/38 proteína bruta - Active - Guabi), por meio de bandejas, duas vezes ao dia (9:00 e 15:00 h), de acordo com Jory *et al.* (2001) (taxa inicial de 7,5% da biomassa), todavia um excesso de mais 50% de alimento, em relação à quantidade recomendada pelos autores, era oferecido, visando assegurar a plena saciedade dos camarões. No entanto, no dia seguinte, a ração não consumida era removida das bandejas, com o intuito de se conservar uma boa qualidade de água. Os animais foram mantidos nas circunstâncias descritas durante 3 dias. Por fim, encerrando a aclimatação, os camarões foram aclimatados às condições experimentais durante mais 1 e último dia. Porém, para essa etapa da aclimatação, no mesmo local citado anteriormente, 25 recipientes de polietileno (3 L de volume útil) foram preenchidos, 5 com Água Clara (29°C e 32‰) e outros 20 com SST (29°C e 34‰, 0,04 mg/L amônia e 0,18 mg/L nitrito, 128 mg/L alcalinidade), e transferido, de forma aleatória, 1 animal ($3,20 \pm 0,22$ g) para cada. Para com a água dos recipientes, quanto à aeração, bem como, com a alimentação dos camarões, procedeu-se do mesmo modo exposto previamente, quando da etapa inicial da aclimatação.

Protocolo experimental

Após o encerramento do período de aclimatação, os animais foram mantidos nos mesmos recipientes (25 unidades de polietileno, com 3 L de volume útil) e meios (Água Clara e SST) mencionados anteriormente, quando da etapa final da aclimatação, e cultivados por um período experimental de 3 dias. Para os recipientes em SST, foram realizadas diluições, com água do mar filtrada em filtro de areia e cuno, clorada e declorada, e/ou filtrações, através de malha de 50 µm, de água proveniente de um cultivo superintensivo sem renovação de água (600 mg/L sólidos suspensos totais - concentração inicial, na aclimatação e no período experimental), objetivando-se obter as diferentes e pré-determinadas concentrações de bioflocos. Assim, com base na faixa de 453 à 465 mg/L indicada por Ray *et al.* (2010a) para o maior crescimento de juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema superintensivo com mínima renovação de água, foram empregadas as concentrações 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de SST, além de um

nível Água Clara (sem presença de bioflocos) (Fig. 1), com 5 repetições, cada, totalizando, dessa forma, 25 unidades experimentais. A água dos recipientes foi aerada constantemente, do mesmo modo exposto previamente, quando da etapa inicial da aclimatação, e as concentrações de compostos nitrogenados dos recipientes em Água Clara, ajustadas quando necessário com o auxílio de renovações de água. Os camarões foram alimentados com a mesma ração citada anteriormente, quando da etapa inicial da aclimatação, por meio de bandejas, duas vezes ao dia (13:00 e 15:00 h), conforme Jory *et al.* (2001) (taxa inicial de 7,5% da biomassa), contudo um excesso de mais 50% de alimento, em relação à quantia recomendada pelos pesquisadores, era ofertado, visando garantir o provimento de ração suficiente à plena satisfação dos animais.

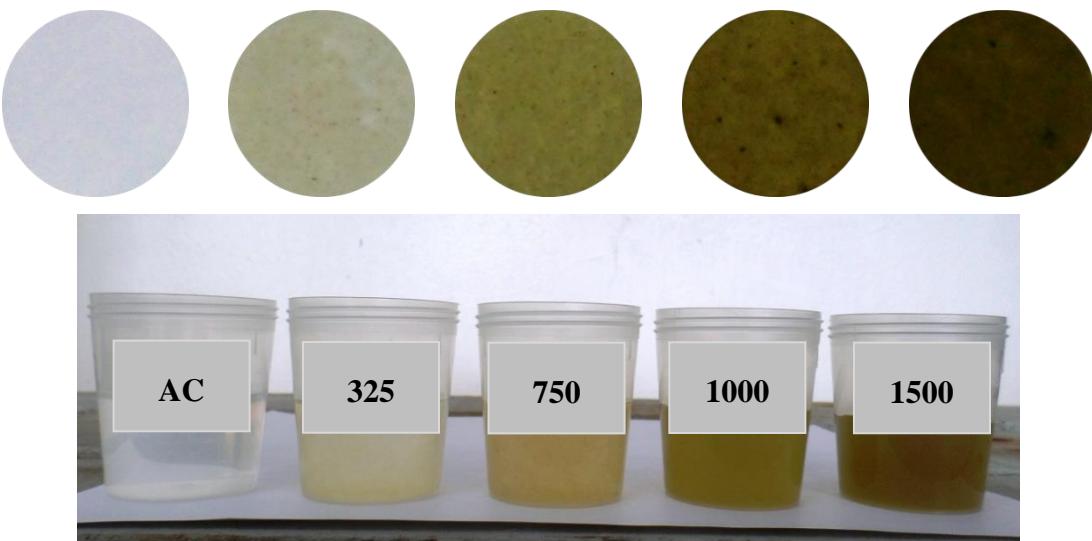


Figura 1. Sólidos suspensos obtidos por meio de filtrações de 20 mL das concentrações 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de Sólidos Suspensos Totais, além de uma da Água Clara, através de micro filtros de fibra de vidro (GF/50 - A 47 ± 0,5 mm).

Variáveis físicas e químicas da água

A temperatura e o oxigênio dissolvido nos meios experimentais foram verificados com o auxílio do oxímetro Oxi 315i - WTW / EUA, duas vezes ao dia (9:00 e 15:00 h). Todavia, a salinidade e o pH foram medidos por meio do refratômetro Salt Refractometer w/ATC - Sper Scientific / EUA e do pHmetro S20 SevenEasyTM - Mettler Toledo / EUA, respectivamente, uma vez ao dia (9:00 h). Os sólidos suspensos totais foram avaliados com o auxílio do método de Gravimetria de Volatilização, de

acordo com Strickland & Parsons (1972), uma vez ao dia. E, os níveis de alcalinidade, amônia, nitrito e nitrato foram aferidos por meio dos métodos da Titrimetria, de Azul de Indofenol, da Reação de Griess e de Cloreto de Amônio, conforme APHA (1998), UNESCO (1983) e Aminot & Chaussepied (1983), respectivamente, com a mesma frequência (uma vez ao dia).

Parâmetros de desempenho dos camarões

O consumo alimentar dos camarões foi verificado com o auxílio do método de Supressão e Provisão de Alimento, adaptado de Soares *et al.* (2005). Para tanto, a ração foi: (1º) suprimida, das 17:00 h do dia corrente até às 13:00 h do dia seguinte - totalizando 20 h de supressão - com o intuito de permitir a evacuação do estômago e presumivelmente estimular o apetite dos animais; (2º) provida, às 13:00 h; (3º) removida, às 14:00 h - totalizando 1 h de provisão - objetivando-se medir, a partir do alimento não consumido, a quantidade de ração efetivamente consumida pelos camarões; e (4º) provida, das 15:00 h até às 17:00 h - totalizando 2 h de provisão - visando assegurar a plena saciedade dos animais, previamente ao início do período de supressão seguinte. O alimento não consumido era colocado em cadinhos de alumínio e seco até peso constante e, em seguida, pesado por meio da estufa Para Esterilização e Secagem 1.1 - Odontobrás / Brasil (60°C) e balança Analítica ED - Sartorius / EUA, respectivamente, uma vez ao dia. Caso fosse observada a presença de exúvia, a ração retirada do respectivo recipiente não era considerada para a avaliação do consumo alimentar.

O consumo alimentar foi avaliado com o auxílio da seguinte equação:

$$CA = \{[RP_{SU}^* - (RRC_{SU}^* - C_{SU}^*)] - L\} - SS$$

Onde, CA = consumo alimentar (g), RP_{SU} = ração provida (g), RRC_{SU} = ração removida e cadinho (g), C_{SU} = cadinho (g), L = lixiviação (1,5%), SS = bioflocos possivelmente presentes no alimento não consumido dos recipientes em SST (2, 6, 7 e 9%, respectivamente, para as concentrações 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de SST) e $_{SU}^*$ = sem umidade (8%).

O ganho em peso, a taxa de crescimento específico, a taxa de conversão alimentar e a sobrevivência foram verificados por meio das seguintes fórmulas, quando do término do experimento:

$$GP = P_T - P_C$$

Onde, GP = ganho em peso (g), P_T = peso dos camarões, quando do término do experimento (g) e P_C = peso dos camarões, quando do começo do experimento (g).

$$TCE = [(lnP_T - lnP_C) \times 100] / DE$$

Onde, TCE = taxa de crescimento específico (%/dia), lnP_T = logaritmo neperiano do peso dos animais (g), quando do término do experimento, lnP_C = logaritmo neperiano do peso dos animais (g), quando do começo do experimento e DE = número de dias experimentais.

$$TCA = RC / GP$$

Onde, TCA = taxa de conversão alimentar, RC = razão consumida (g) e GP = ganho em peso (g).

$$S = (V_T / V_C) \times 100$$

Onde, S = sobrevivência (%), V_T = número de camarões vivos, quando do término do experimento e V_C = número de camarões vivos, quando do começo do experimento.

Análises estatísticas

Anteriormente à realização das análises estatísticas, os parâmetros de desempenho dos animais, taxa de crescimento específico e sobrevivência, expressos em porcentagem, foram transformados com o auxílio da função arco seno da raiz quadrada. Então, todos os valores das variáveis físicas e químicas da água e dos parâmetros de desempenho dos camarões foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Levene), tendo sido, ainda, transformados caso não tivessem resultado na situação de normais e homocedásticos. Por fim, os valores foram submetidos à análise de variância, ANOVA, Uma-via, e ao teste de comparação de médias, Tukey *HSD*, quando detectadas diferenças significativas (Zar 1996). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software STATISTICA 7.0.

Resultados

Variáveis físicas e químicas da água

Algumas variáveis físicas e químicas da água apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Tab. 1).

Tabela 1. Variáveis físicas e químicas da água do cultivo de juvenis de *Litopenaeus vannamei*, sob diferentes concentrações de sólidos suspensos (mg/L de SST), em sistema de bioflocos, e em água clara^{1,2}.

	<i>Água Clara</i> (325,00 ± 185,14)	325 (740,00 ± 190,13)	750 (1025,56 ± 71,74)	1000 (1423,13 ± 79,50)	1500
T* manhã (°C)	29,02 ± 0,62 ^a	28,52 ± 0,35 ^a	28,95 ± 0,88 ^a	28,67 ± 0,47 ^a	28,66 ± 0,64 ^a
T tarde (°C)	30,12 ± 0,19 ^a	29,82 ± 0,17 ^a	30,02 ± 0,33 ^a	29,87 ± 0,16 ^a	29,90 ± 0,29 ^a
OD* manhã (mg/L)	4,83 ± 0,13 ^a	4,79 ± 0,13 ^a	4,64 ± 0,14 ^b	4,70 ± 0,16 ^{ab}	4,62 ± 0,11 ^b
OD tarde (mg/L)	4,55 ± 0,17 ^a	4,58 ± 0,09 ^a	4,56 ± 0,13 ^a	4,58 ± 0,49 ^a	4,59 ± 0,15 ^a
Salinidade (%)	33,50 ± 0,24 ^d	33,66 ± 0,18 ^c	34,80 ± 0,20 ^a	34,69 ± 0,20 ^a	34,01 ± 0,22 ^b
pH	7,93 ± 0,07 ^a	7,97 ± 0,05 ^a	7,98 ± 0,05 ^a	7,81 ± 0,06 ^b	7,85 ± 0,07 ^b
Amônia (mg/L)	0,78 ± 0,22 ^a	0,04 ± 0,01 ^b	0,03 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
Nitrito (mg/L)	0,00 ± 0,00 ^b	0,14 ± 0,03 ^a	0,08 ± 0,02 ^b	0,08 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,01 ^b
Nitrato (mg/L)	0,00 ± 0,00 ^e	14,80 ± 2,28 ^d	22,80 ± 2,68 ^c	35,80 ± 2,77 ^b	44,80 ± 3,11 ^a
Alcalinidade (mg/L)	142,00 ± 2,74 ^a	127,00 ± 2,74 ^b	120,00 ± 3,54 ^c	102,00 ± 2,74 ^d	77,00 ± 2,74 ^e

*T = temperatura e OD = oxigênio dissolvido.

¹Médias ± desvios padrão de cinco repetições.

²Letras sobreescritas diferentes nas linhas indicam diferenças significativas (p<0,05).

Parâmetros de desempenho dos camarões

Os parâmetros de desempenho dos camarões exibiram diferenças significativas entre os tratamentos ($p<0,05$) (Tab. 2 e Fig. 2). Quanto ao consumo alimentar, esse diferiu significativamente entre os níveis de sólidos suspensos, tendo sido maior (0,06 g ração/camarão/hora) na concentração 750 mg/L de SST e menor (0,01 g ração/camarão/hora) no maior nível, 1500 mg/L de SST ($p<0,05$) (Fig. 2). O ganho em peso diferiu significativamente entre as concentrações de sólidos suspensos. O parâmetro foi menor (0,06 g) no maior nível, 1500 mg/L de SST, e maior (0,31, 0,34, 0,29 e 0,32 g, respectivamente) nas demais concentrações, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST ($p<0,05$). Em relação à taxa de crescimento específico, essa diferiu significativamente entre os níveis de sólidos suspensos, tendo sido, também, menor (0,45%/dia) na maior concentração, 1500 mg/L de SST, e maior (2,24, 2,41, 2,13 e 2,47%/dia, respectivamente) nos demais níveis, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST ($p<0,05$). A taxa de conversão alimentar diferiu significativamente entre as concentrações de sólidos suspensos. O parâmetro foi menor (0,14 e 0,12, respectivamente) nos níveis 325 e 1500 mg/L de SST e maior (0,39) na concentração 750 mg/L de SST ($p<0,05$). Quanto à sobrevivência, essa diferiu significativamente entre os níveis de sólidos suspensos, tendo sido menor (60%) na maior concentração, 1500 mg/L de SST, e maior (100%) nos demais níveis, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST ($p<0,05$).

Tabela 2. Parâmetros de desempenho de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados sob diferentes concentrações de sólidos suspensos (mg/L de SST), em sistema de bioflocos, e em água clara^{1,2}.

<i>Água Clara</i>	325	750	1000	1500
	(325,00 ± 185,14)	(740,00 ± 190,13)	(1025,56 ± 71,74)	(1423,13 ± 79,50)
GP* (g)	0,31 ± 0,13 ^a	0,34 ± 0,13 ^a	0,29 ± 0,11 ^a	0,32 ± 0,17 ^a
TCE* (%/dia)	2,24 ± 0,76 ^a	2,41 ± 0,81 ^a	2,13 ± 0,75 ^a	2,47 ± 1,25 ^a
TCA*	0,21 ± 0,08 ^b	0,14 ± 0,05 ^d	0,39 ± 0,15 ^a	0,17 ± 0,06 ^c
Sobrevivência (%)	100 ^a	100 ^a	100 ^a	60 ^b

*GP = ganho em peso, TCE = taxa de crescimento específico e TCA = taxa de conversão alimentar.

¹Médias ± desvios padrão de cinco repetições.

²Letras sobreescritas diferentes nas linhas indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

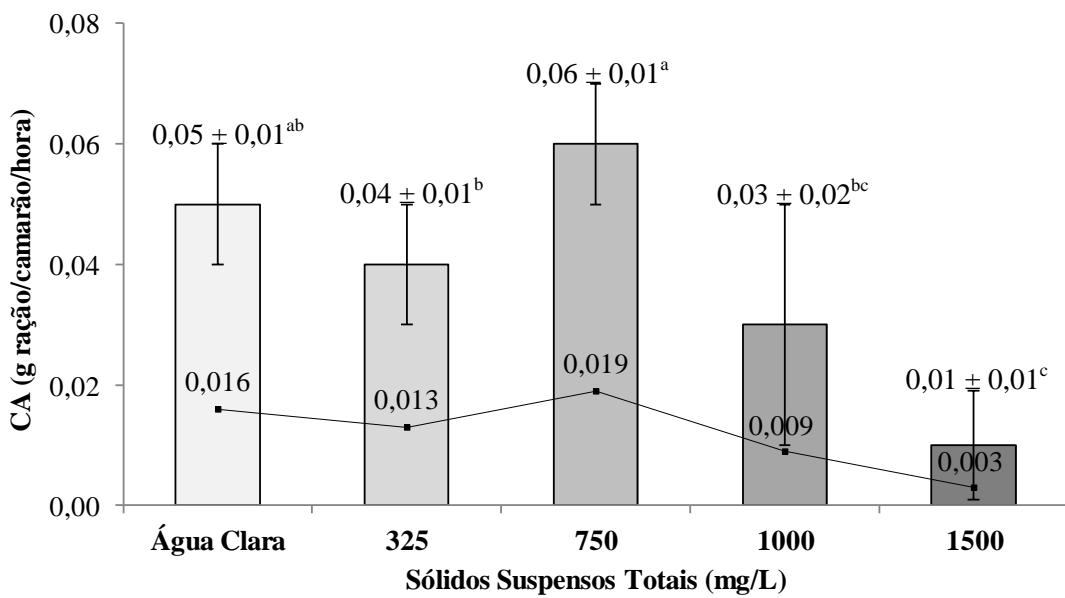


Figura 2. Consumo alimentar (CA) de juvenis de *Litopenaeus vannamei* cultivados sob diferentes concentrações de sólidos suspensos, em sistema de bioflocos, e em água clara. Médias ± desvios padrão de cinco repetições. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p<0,05$). Valores dentro das barras (--) correspondem à médias de consumo alimentar expressas em g ração/g camarão/hora.

Discussão

Variáveis físicas e químicas da água

A temperatura da parte da manhã e a da parte da tarde estiveram dentro da faixa de 28 à 32°C indicada por Walker *et al.* (2011) para o maior crescimento e sobrevivência de juvenis de *L. vannamei*. Em relação ao oxigênio dissolvido da parte da manhã e ao da parte da tarde, esses, estiveram ligeiramente abaixo da concentração de 5 mg/L sugerida por Carbajal-Hernández *et al.* (2013) para o cultivo de camarões marinhos. A salinidade esteve dentro da faixa de 33 à 40‰ preconizada por Ponce-Palafox *et al.* (1997) para o maior crescimento e sobrevivência de juvenis de *L. vannamei*. Quanto ao pH, esse, esteve em torno de 7 recomendado por Ferreira *et al.* (2011) para o cultivo de camarões marinhos. A alcalinidade esteve ligeiramente abaixo do nível de 100 mg/L indicado por Wyk & Scarpa (1999) para o cultivo de camarões marinhos, na maior concentração de sólidos suspensos, tendo apresentado o maior valor na água clara e o menor no maior nível, 1500 mg/L de SST. Ebeling *et al.* (2006) e Schveitzer *et al.* (2013) esclarecem que menores valores de alcalinidade, em maiores

concentrações de sólidos suspensos, ocorrem devido ao maior consumo de alcalinidade, decorrente da maior taxa de nitrificação, característica de ambientes em elevados níveis de bioflocos. Em relação à amônia, ao nitrito e ao nitrato, esses, estiveram abaixo das concentrações de segurança de 3,95 e 25,7 mg/L, em salinidade de 35‰, sugeridas por Lin & Chen (2001, 2003) e do nível de 60 mg/L recomendado por Wyk & Scarpa (1999), respectivamente, para o maior crescimento e sobrevivência de juvenis de *L. vannamei*. A amônia demonstrou os menores valores nos níveis 325, 750, 1000 e 1500 mg/L de SST e o maior na água clara; o nitrito exibiu o maior valor na concentração 325 mg/L de SST; e o nitrato apresentou o menor valor na água clara e o maior no maior nível, 1500 mg/L de SST. Cohen *et al.* (2005), Ray *et al.* (2011) e Schveitzer *et al.* (2013) explicam que em maiores concentrações de sólidos suspensos, as bactérias nitrificantes dispõem de uma maior área de substrato para a sua fixação e desenvolvimento, o que promove, dessa forma, processos de oxidação, de amônia até nitrato, mais completos e estáveis. Além disso, em menores níveis de sólidos suspensos, em decorrência da maior disponibilidade de luminosidade, as microalgas apresentam maior desenvolvimento, o que favorece, desse modo, a sua assimilação de maiores quantidades de nitrato (Ray *et al.* 2011). E, ainda, as menores quantias de nitrato, bem como, os maiores valores de alcalinidade registrados nas menores concentrações de sólidos suspensos indicam a ocorrência de denitrificação e decorrente produção de alcalinidade (Ebeling *et al.* 2006, Ray *et al.* 2010a, 2011, Schveitzer *et al.* 2013). Os comportamentos da alcalinidade, amônia, nitrito e nitrato, verificados no atual estudo, foram semelhantes aos observados por Ray *et al.* (2010a, 2011), Schveitzer *et al.* (2013) e Gaona *et al.* (2015a, b) cultivando juvenis de *L. vannamei* expostos à diferentes concentrações de sólidos suspensos, em sistema de cultivo sem renovação de água.

Parâmetros de desempenho dos camarões

O consumo alimentar apresentou o maior valor na concentração 750 mg/L de SST e o menor no maior nível, 1500 mg/L de SST. Maicá *et al.* (2012) e Baloi *et al.* (2013) cultivando juvenis de *L. vannamei* em sistemas superintensivos sem renovação de água durante 40 dias verificaram média de consumo alimentar de aproximadamente 0,02 g/camarão/hora, sendo, assim, inferior à média geral entre os tratamentos contendo bioflocos registrada no atual estudo (0,04 g/camarão/hora). O ganho em peso

demonstrou o menor valor no maior nível, 1500 mg/L de SST, e os maiores nas demais concentrações, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST. E, a taxa de crescimento específico, também, exibiu o menor valor na maior concentração, 1500 mg/L de SST, e os maiores nos demais níveis, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST. Similarmente ao presente estudo, Ray *et al.* (2010a), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* expostos à níveis de 820, 453, 745 e 465 mg/L de SST por 129 dias, observaram menor crescimento nos tratamentos em maior concentração de sólidos suspensos (0,66 e 0,60 g/semana), em comparação aos em menor nível (0,89 e 0,86 g/semana); Ray *et al.* (2011) cultivando juvenis de mesma espécie expostos à concentrações de 196,8 e 313,0 mg/L de SST durante 91 dias, registraram menor crescimento no tratamento em maior nível de sólidos suspensos (1,3 g/semana), comparado ao em menor concentração (1,7 g/semana); Schveitzer *et al.* (2013), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* expostos à níveis de 200, 400 à 600 e 800 à 1000 mg/L de SST por 44 dias, verificaram menor valor de crescimento no tratamento em maior concentração de sólidos suspensos (0,61 g/semana), em comparação ao em menor nível (0,75 g/semana); e Gaona *et al.* (2015b) cultivando juvenis de mesma espécie expostos à concentrações de 276,5, 563,0, 1106,7, 2054,2 e 3829,3 mg/L de SST durante 42 dias, observaram menor valor de crescimento no tratamento em 3829,3 mg/L de SST (0,81 g/semana), comparado aos em 276,5 e 1106,7 mg/L de SST (0,87 g/semana). No presente estudo, os animais apresentaram menor consumo alimentar e crescimento no maior nível de sólidos suspensos. Alonso-Rodriguez & Paez-Osuna (2003), Hargreaves (2006) e Ray *et al.* (2010b) esclarecem que as elevadas concentrações de sólidos suspensos podem suprimir o desenvolvimento de microalgas benéficas, bem como, promover a proliferação de microalgas nocivas, como, por exemplo, as cianobactérias, o que pode ter contribuído com o comprometimento, tanto da alimentação, quanto do crescimento dos camarões no maior nível de bioflocos. A taxa de conversão alimentar apresentou os menores valores nos níveis 325 e 1500 mg/L de SST e o maior na concentração 750 mg/L de SST. Ray *et al.* (2010a) registraram menor taxa de conversão alimentar nos tratamentos em menor nível de sólidos suspensos (1,95 e 2,15), em comparação aos em maior concentração (2,74 e 2,89); Ray *et al.* (2011) verificaram menor valor de taxa de conversão alimentar no tratamento em menor nível de sólidos suspensos (2,5), comparado ao em maior concentração (3,3); Gaona *et al.* (2015a), em cultivo de juvenis de *L. vannamei* expostos

à níveis de 306,3, 532,4 e 745,2 mg/L de SST por 42 dias, observaram menor taxa de conversão alimentar no tratamento em menor concentração de sólidos suspensos (1,08), em comparação ao em maior nível (5,28); e Gaona *et al.* (2015b) registraram menor valor de taxa de conversão alimentar no tratamento em menor concentração de sólidos suspensos (1,40), comparado ao em maior nível (1,55). No entanto, Schveitzer *et al.* (2013) verificaram menor valor de taxa de conversão alimentar no tratamento em 400 à 600 mg/L de SST (3,2), em comparação ao em 200 mg/L de SST (4,8). A sobrevivência demonstrou o menor valor na maior concentração, 1500 mg/L de SST, e os maiores nos demais níveis, água clara, 325, 750 e 1000 mg/L de SST. Semelhantemente ao atual estudo, Ray *et al.* (2011) observaram menor valor de sobrevivência no tratamento em maior concentração de sólidos suspensos (49,4%), em comparação ao em menor nível (49,7%); Schveitzer *et al.* (2013) registraram menor sobrevivência no tratamento em maior concentração de sólidos suspensos (65,9%); Gaona *et al.* (2015a) verificaram menor sobrevivência no tratamento em maior nível de sólidos suspensos (20,7%), comparado aos em menor concentração (94,7 e 84,1%); e Gaona *et al.* (2015b) observaram menor valor de sobrevivência no tratamento em maior nível de sólidos suspensos (86,0%), em comparação ao em menor concentração (94,0%). É importante ressaltar, aqui, que embora os estudos mencionados tenham tido tempo de duração muito maior do que o do atual estudo, os resultados de desempenho dos camarões obtidos em ambos estudos, os citados e o presente, foram, em geral, similares entre si. Assim como constatado por Schveitzer *et al.* (2013), os animais mortos, retirados do maior nível de sólidos suspensos, demonstravam as brânquias escurecidas, devido, provavelmente, à presença das elevadas concentrações de bioflocos. Hopkins *et al.* (1993) e Schveitzer *et al.* (2013) explicam que os elevados níveis de sólidos suspensos causam a obstrução das brânquias, órgão frágil que exerce diversas funções vitais, como, troca de gases, excreção, equilíbrio ácido / base e osmorregulação (Péqueux 1995) e, desse modo, levam os camarões à morte. De acordo com Schveitzer *et al.* (2013), a manutenção dos sólidos suspensos em concentrações até 600 mg/L de SST é indicada, tanto para a preservação da integridade física das brânquias, quanto para a obtenção de melhorias nos índices zootécnicos dos animais em sistemas de cultivo sem renovação de água.

Conclusões

O consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* cultivados sob diferentes níveis de sólidos suspensos (água clara, 325, 750, 1000 e 1500 mg/L) é afetado negativamente na maior concentração, 1500 mg/L de bioflocos. E o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a sobrevivência, também são afetados negativamente no maior nível, 1500 mg/L de sólidos suspensos, onde apresentam os piores resultados. Desse modo, fica salientada a importância da manutenção da qualidade de água nas condições apropriadas à espécie cultivada, para que o seu melhor desempenho possa ser demonstrado.

Agradecimentos

Agradecemos ao Técnico em Química, Sandro Fabres Viana, do Laboratório de Carcinicultura - Estação Marinha de Aquacultura, da Universidade Federal do Rio Grande, pela colaboração com as análises químicas da água, à Guabi - Nutrição e Saúde Animal, pela doação de ração e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo ao primeiro autor. Wilson Wasielesky Jr. e Kleber Campos Miranda Filho são bolsistas de produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- Alonso-Rodriguez, R. & Paez-Osuna, F. 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture**, 219: 317-336.
- American Public Health Association (APHA). 1985. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC, 15th Ed.
- Aminot, A. & Chaussepied, M. 1983. **Manuel des Analyses Chimiques em Milieu Marin**. Centre National pour l'Exploitation des Oceans - CNExO, Brest, France, 395 p.
- Atwood, H. L., Bruce, J. W., Pierrard, L. M., Kegl, R. A., Stokes, A. D. & Browdy, C. L. 2004. Intensive zero-exchange shrimp production systems. Pp. 152-162. In: Rakestraw, T. T., Douglas, L. S. & Flick, G. J. (Eds.). **Incorporation of**

- filtration technologies to improve survival and growth.** Proceedings of the 5th International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, VA.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, 34: 172-178.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264: 140-147.
- Avnimelech, Y. 2009. **Biofloc Technology - A Practical Guide Book**, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.
- Bador, R. F. 1998. Uso de charolas de alimentación para el cultivo de camarón en sudamérica. **Proceedings of the IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola**, Mexico, La Paz, 540-549.
- Ballester, E. L. C., Abreu, P. C., Cavalli, R. O., Emerenciano, M., de Abreu, L. & Wasielesky Jr, W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in zero water exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, 16: 163-172.
- Baloi, M., Arantes, R., Schveitzer, R., Magnotti, C. & Vinatea, L. 2013. Performance of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. **Aquacultural Engineering**, 52: 39-44.
- Browdy, C. L., Bratvold, D., Stokes, A. D. & McIntosh, R. P. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. **The New Wave - Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture**, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 20-30.
- Burford, M. A. 1997. Phytoplankton dynamics in shrimp ponds. **Aquaculture Research**, 28: 351-360.
- Carbajal-Hernández, J. J., Sánchez-Fernández, L. P., Villa-Vargas, L. A., Carrasco-Ochoa, J. A. & Martínez-Trinidad, J. F. 2013. Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. **Ecological Indicators**, 29: 148-158.
- Cohen, J., Samocha, T., Fox, J., Gandy, R. & Lawrence, A. 2005. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile using

- limited discharge and biosecure management tools. **Aquacultural Engineering**, 32: 425-442.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, 270: 1-14.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. & Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, 235: 513-551.
- Davis, A. D. & Arnold, C. R. 1998. The design, management and production of a recirculating raceway system for the production of marine shrimp. **Aquacultural Engineering**, 17: 193-211.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B. & Bisogni, J. J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257: 346-358.
- Ferreira, N. C., Bonetti, C. & Seiffert, W. Q. 2011. Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture. **Aquaculture**, 318: 425-433.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2012 (Ed.). **The State of World Fisheries and Aquaculture** - World Wide Web electronic publication, accessible at <http://www.fao.org/fishery/en>. (Accessed 04/29/2013).
- Gamboa-Delgado, J., Molina-Poveda, C. & Cahu, C. 2003. Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. **Aquaculture Research**, 34: 1403-1411.
- Gaona, C. A. P., Almeida, M. S., Viau, V., Poersch, L. H. & Wasielesky, W. 2015a. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. Capítulo de Tese de Doutorado. **Aquaculture Research**, submetido.
- Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., Krummenauer, D., Fóes, G. K. & Wasielesky Jr, W. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. **International Journal of Recirculating Aquaculture**, 12: 54-73.

- Gaona, C. A. P., Serra, F. P., Furtado, P. S., Poersch, L. H. & Wasielesky, W. 2015b. Effect of different total suspended solids concentrations on the oxygen consumption and performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. Capítulo de Tese de Doutorado. **Aquacultural Engineering**, submetido.
- Hargreaves, J. A. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, 34: 344-363.
- Hopkins, J. S., Hamilton, R. D., Sandier, P. A., Browdy, C. L. & Stokes, A. D. 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. **Journal of the World Aquaculture Society**, 24 (3): 304-320.
- Jory, D. E. & Cabrera, T. R. 1998. Manejo del alimento em estanques camarones y perspectivas para su optimización. **Proceedings of the First Latin American Shrimp Farming Congress**, Grupo de Ferias, Congresos y Eventos, Ciudad de Panama, Panama.
- Jory, D. E., Cabrera, T. R., Dugger, D. M., Fegan, D., Lee, P. G., Lawrence, A. L., Jackson, C. J., McIntosh, R. P. & Castañeda, J. 2001. A global review of shrimp feed management: Status and perspectives. **The New Wave - Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture**, Aquaculture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 104-152.
- Krumanauer, D., Cavalli, R. O., Poersch, L. H. & Wasielesky Jr, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42: 726-733.
- Krumanauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G. & Wasielesky Jr, W. 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, 45: 3-14.
- Lin, Y. C. & Chen, J. C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 259: 109-119.
- Lin, Y-C. & Chen, J-C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, 224: 193-201.

- Maicá, P. F., de Borba, M. R. & Wasielesky Jr, W. 2012. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. **Aquaculture Research**, 43: 361-370.
- Martinez-Cordova, L. R., Porchas-Cornejo, A., Villarreal-Colemnares, H., Calderon-Perez, J. A. & Naranjo-Paramo, J. N. 1998. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 in low water exchange ponds. **Aquacultural Engineering**, 17: 21-28.
- Megahed, M. E. 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**, 5: 119-142.
- Moss, S. M. & Pruder, G. D. 1995. Characterization of organic particles associated with rapid growth in juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, reared under intensive culture conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 187: 175-191.
- Nunes, A. J. P., Goddard, S. & Gesteira, T. C. V. 1996. Feeding activity patterns of the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, 44: 371-386.
- Péqueux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. **Journal of Crustacean Biology**, 15: 1-60.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A. & Ross, L. G. 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.
- Pontes, C. S., de Lima, P. P. & Arruda, M. F. 2008. Feeding responses of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed at different frequencies under laboratory conditions. **Aquaculture Research**, 39: 1416-1422.
- Ray, A. J., Dillon, K. S. & Lotz, J. M. 2011. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. **Aquacultural Engineering**, 45: 127-136.
- Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L. & Leffler, J. W. 2010a. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an

- evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299: 89-98.
- Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A. & Browdy, C. L. 2010b. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310: 130-138.
- Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. & Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277: 125-137.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Costódio, P. F. S., Santo, C. M. E., Arana, L. V., Seiffert, W. Q. & Andreatta, E. R. 2013. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, 56: 59-70.
- Soares, R., Wasielesky, W., Peixoto, S. & D'Incao, F. 2005. Food consumption and gastric emptying of *Farfantepenaeus paulensis*. **Aquaculture**, 250: 283- 290.
- Strickland, J. D. H. & Parsons, T. R. 1972. **A Practical Handbook of Seawater Analysis**. Fishery Research Board, Ottawa, Canada, 310 p.
- Tacon, A. J. G., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P. & Decamp, O. E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, 8: 121-137.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). 1983. **Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring - 12th Manual & Guide**. Intergovernmental Oceanographic Commissiony, Paris, France.
- Van Wyk, P. 2006. Production of *L. vannamei* in recirculating aquaculture systems. Pp. 38-47. In: Rakestraw, T. T., Douglas, L. S., Marsh, L., Granata, L., Correa, A. & Flick, G. J. (Eds.). **Management and design considerations**. Proceedings of the 6th International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, VA.
- Vinatea, L., Gálvez, A. O., Browdy, C. L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B. L., Lawson, A., Shuler, A. & Leffler, J. W. 2010. Photosynthesis, water

- respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering**, 42: 17-24.
- Walker, S. J., Neill, W. H., Lawrence, A. L. & Gatlin, D. M. 2011. Effects of temperature and starvation on ecophysiological performance of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 319: 439-445.
- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A. & Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258: 396-403.
- Wyk, P. V. & Scarpa, J. 1999. Water quality and management. Pp. 128-138. In: Wyk, P. V. et al. (Eds.). **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee.
- Zar, J. H. 1996. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 3th Ed., 662 p.

Conclusões Gerais

Por meio do estudo realizado no Capítulo I, verifica-se que o consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* não é afetado entre os níveis de nitrito (Controle, 6, 20 e 60 mg/L) e nos sistemas de água clara e bioflocos; já na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos é afetado positivamente. O ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nos menores níveis de nitrito, Controle e 6 mg/L, no sistema de bioflocos, e na menor concentração de amônia, Controle, também no sistema de bioflocos, onde apresentam os melhores resultados. A taxa de conversão alimentar não é afetada entre os níveis de nitrito e nos sistemas de água clara e bioflocos; contudo, na menor concentração de amônia, Controle, no sistema de bioflocos, é afetada positivamente. E a sobrevivência é afetada negativamente na maior concentração de nitrito, 60 mg/L, no sistema de água clara; todavia, entre os níveis de amônia (Controle, 4, 8 e 12 mg/L) e nos sistemas de água clara e bioflocos, não é afetada.

Com o estudo realizado no Capítulo II, se verifica que o consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* não é afetado entre os níveis de alcalinidade (Controle, 50, 100 e 200 mg/L) e nos sistemas de água clara e bioflocos. Já o ganho em peso e a taxa de crescimento específico são afetados positivamente nas maiores concentrações de alcalinidade, Controle e 200 mg/L, no sistema de bioflocos, onde demonstram os melhores resultados. E a sobrevivência, assim como o consumo alimentar, não é afetada entre os níveis de alcalinidade e nos sistemas de água clara e bioflocos.

Finalmente, por meio do estudo realizado no Capítulo III, observa-se que o consumo alimentar de juvenis de *L. vannamei* cultivados sob diferentes níveis de sólidos suspensos (água clara, 325, 750, 1000 e 1500 mg/L) é afetado negativamente na maior concentração, 1500 mg/L de bioflocos. E o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a sobrevivência, também são afetados negativamente no maior nível, 1500 mg/L de sólidos suspensos, onde apresentam os piores resultados.

Desse modo, embora alguns parâmetros de desempenho dos camarões não tenham sido afetados nos estudos realizados, a possibilidade de exposição à concentrações inapropriadas dos parâmetros químicos e físico-biológicos da água, durante longos períodos de tempo, pode afetar negativamente os animais. Assim, enfatiza-se a importância da manutenção da qualidade de água em condições adequadas

à espécie cultivada, independentemente do sistema de cultivo adotado, para que seu melhor desempenho possa ser exibido.