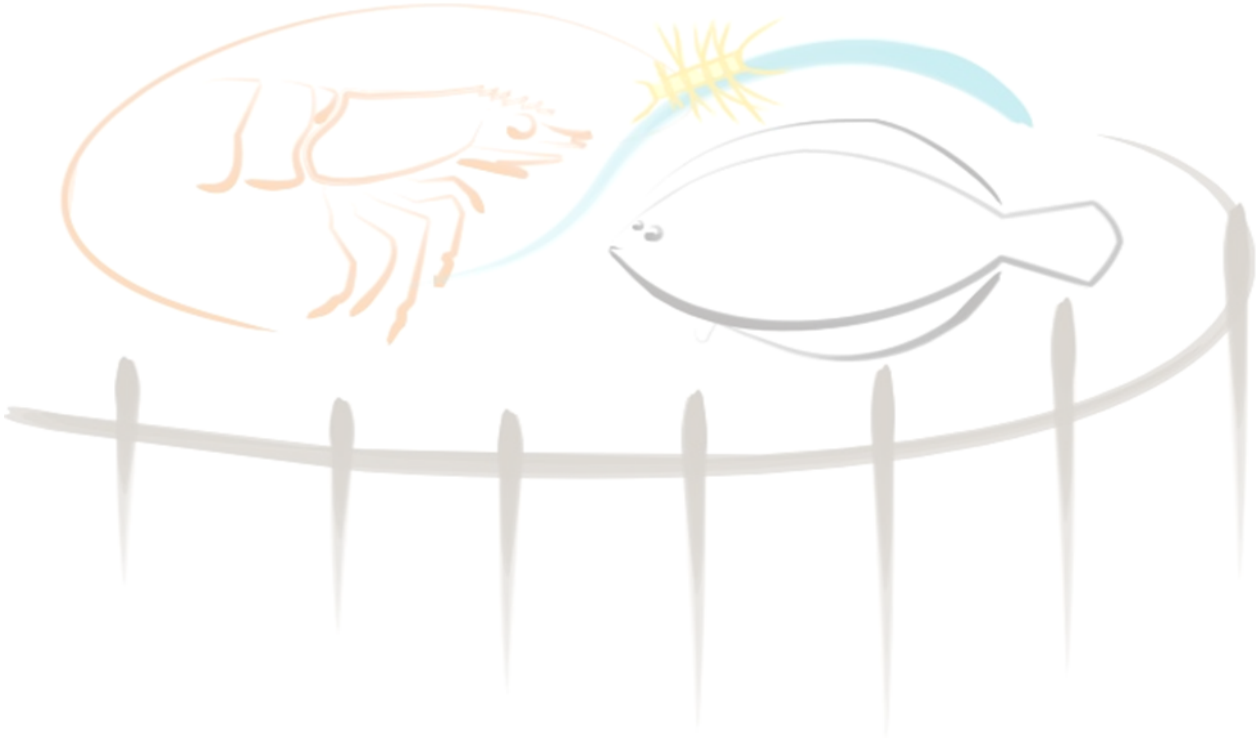
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



APRIMORAMENTO DAS TÉCNICAS DE MANEJO EM VIVEIROS DE PRODUÇÃO INTENSIVA DO *Litopenaeus vannamei* NO SISTEMA DE BIOFLOCOS

JULIO CESAR ZEMOR

FURG
RIO GRANDE - RS
2018

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

Aprimoramento das técnicas de manejo em viveiros de produção intensiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos

Julio Cesar Zemor

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Luis Henrique S. Poersch
Co-orientador: Prof. Dr. Geraldo Kipper Fóes

Rio Grande - RS - Brasil
Julho, 2018

Sumário

DEDICATÓRIA ..... **V**

AGRADECIMENTOS ..... **VI**

RESUMO GERAL ..... **I**

ABSTRACT ..... **II**

INTRODUÇÃO GERAL **1**

SISTEMA DE BIOFLOCOS 1
FERTILIZAÇÃO INICIAL 3
GERENCIAMENTO DE SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS 4

OBJETIVO GERAL **9**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS **9**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **10**

CAPÍTULO I **18**

FERTILIZAÇÃO INICIAL EM VIVEIROS DE PRODUÇÃO INTENSIVA DO *LITOPENAEUS VANNAMEI* NO SISTEMA DE BIOFLOCOS **18**

RESUMO 19
ABSTRACT 21
INTRODUÇÃO 22
MATERIAL E MÉTODOS 24
Delineamento experimental *24*
Qualidade da água *26*
Consumo de carbono orgânico e água *26*
Desempenho zootécnico *27*
Análise Estatística *28*
RESULTADOS 28
DISCUSSÃO 33
CONCLUSÃO 38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39

CAPÍTULO II **46**

REMOÇÃO E CONTROLE DE SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS EM ESCALA PRODUTIVA DO *LITOPENAEUS VANNAMEI* NO SISTEMA DE BIOFLOCOS EM VIVEIROS **46**

RESUMO 47
ABSTRACT 48
INTRODUÇÃO 49
MATERIAL E MÉTODOS 51
Delineamento experimental *51*
Qualidade da água *53*
Manejo das concentrações de SST *54*
Eficiência do uso de água *54*
Desempenho zootécnico *55*
Análise Estatística *56*
RESULTADOS 56
DISCUSSÃO 61
CONCLUSÃO 66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 67

CAPÍTULO III **73**

ESTRATÉGIA DE MANEJO PARA MINIMIZAR PROBLEMAS COM FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIA *NODULARIA SPUMIGENA* EM VIVEIROS DE CAMARÕES NO SISTEMA BFT **73**

RESUMO 74
ABSTRACT 76
INTRODUÇÃO 77
MATERIAL E MÉTODOS 79
Delineamento experimental *79*
Qualidade da água *81*
Microrganismos *81*
Amostragem e quantificação da toxina Nodularina (NOD) *82*
Desempenho zootécnico *83*
Análise Estatística *84*
RESULTADOS 85
DISCUSSÃO 92
CONCLUSÃO 97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 98
CONCLUSÃO GERAL **106**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Nilton Zemor e Terezinha Zemor por todo apoio dedicado ao longo dessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Hoje tenho a plena certeza do acerto nas escolhas que fiz anos atrás quando entrei para este grupo na minha primeira seleção para o mestrado e posteriormente no ingresso do doutorado. Não mudaria nada, nem mesmo uma vírgula se pudesse e faria tudo novamente. Não escolhi trabalhar em viveiros intensivos, os viveiros é que me escolheram. Não sei em que momento me dei conta da oportunidade ímpar que estava vivendo ali e assim segui durante seis anos de muito aprendizado ao lado de grandes mestres no qual devo todo minha gratidão. Trabalhar em viveiros não é uma tarefa fácil, e falo isso agora com propriedade, no entanto, digo a qualquer um que "mar calmo nunca fez bom marinheiro".

Gostaria de agradecer aos meus orientadores, Dr. Luis Poersch e Dr. Geraldo Fóes por acreditar no meu trabalho e por todos estes anos de ensinamentos e companheirismo.

Ao Dariano que desde o mestrado sempre foi presente em diferentes fases do meu desenvolvimento acadêmico e no apoio aos viveiros.

Um agradecimento geral a todos os meus colegas que não estão mais por aqui, mas que sempre foram parceiros em muitos momentos, aos que ainda permanecem e aos novos que estão chegando.

A Vanessa Agostini pela ajuda e contribuições desde os tempos da biologia marinha.

Agradeço ao meu companheiro de todas as safras com mais de 35 anos de Furg, Hermes Terra que sempre foi um parceiro fazendo de tudo para resolver toda e qualquer adversidade por nós enfrentada a cada ciclo de produção.

Aquele abraço para dois parceiros inseparáveis Diango e Anderson, vocês dois são demais.

Ao Sandro do Laboratório de Química e ao Laboratório de Cianobactérias e Ficotoxinas.

A todos os professores do programa também deixo o meu muito obrigado.

Tivemos também grandes parceiros da iniciativa privada como a Guabi, Trevisan e tantos outros que sem eles seria impossível trabalhar nessa escala e fazer o que fizemos ao longo destes anos.

Gostaria de agradecer os meus pais Nilton e Terezinha por tudo, o céu é o limite, nada é impossível!

Queria agradecer aos meus familiares, irmãos, sobrinhos e todos que me apoiaram e torceram por mim, e também aos meus amigos de Tramandaí que espero rever em breve.

Agradeço ao João e Aglaé Steigleder que desde a minha graduação foram grandes incentivadores em todos os momentos desta caminhada.

A minha namorada Karine Steigleder por toda ajuda e parceria, só nós sabemos o que passamos pra chegar até aqui.

Aos membros da banca por aceitar avaliar o trabalho e contribuir para melhorá-lo.

Agradeço em especial ao Dr. Wilson Wasielesky (Mano) o cara que me ensinou muito sobre aquicultura (e pesca de praia), com muito incentivo, conselhos e paciência para resolver todos os problemas que enfrentamos nessa nossa longa caminhada.

RESUMO GERAL

O presente estudo tem o objetivo de avaliar um conjunto de práticas de manejo para o aperfeiçoamento da produção intensiva do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* mantidos em viveiros em meio aos bioflocos. Para este estudo foram realizados experimentos em escala comercial na Estação Marinha de Aquacultura do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil. A realização de cada experimento segue descrita nos seguintes capítulos: (1) Fertilização inicial em viveiros de produção intensiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos; (2) Remoção e controle de sólidos suspensos totais em escala produtiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos em viveiros; (3) Estratégia de manejo para minimizar problemas com florações de cianobactéria *Nodularia spumigena* em viveiros de camarões no sistema BFT. Para a realização dos experimentos foram utilizados viveiros escavados retangulares de 600 m^2, sendo todos recobertos por geomembrana (PEAD) com arranjo em sistema de *raceways*. Cada viveiro foi equipado com 2 aeradores de 1.0 HP de potência cada, do tipo *paddle wheel*. Os animais foram alimentados com ração 38% de proteína bruta e feitas fertilizações com melaço sempre que necessário para controlar a amônia, com mínima ou zero renovações de água. Como principais resultados foram observados no experimento 1, a utilização de inóculo de bioflocos associado a fertilização orgânica (melaço e ração) reduziu a necessidade do uso de água em renovações e melaço em fertilizações para controlar o aumento das concentrações de nitrogenados e manteve a qualidade de água adequada durante a fase de engorda do *L. vannamei*. No experimento 2, a utilização de clarificadores promoveu o gerenciamento das concentrações de sólidos suspensos totais durante toda a fase de engorda, reduziu a relação do uso de água por quilo de camarão produzido e as descargas de efluentes, reforçando a biossegurança do sistema, utilizando um volume mínimo de 0,46% de clarificação em relação ao volume da área de produção. No experimento 3, fertilizações orgânicas aplicadas durante três dias consecutivos na razão C:N aproximada de 20:1, após a ocorrência de florações de cianobactéria *Nodularia spumigena*, demonstrou ser uma alternativa viável para conter as florações, favorecendo o desenvolvimento das microalgas clorofíceas e reduzindo significativamente as perdas de desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei* em sistema de bioflocos. Os resultados alcançados no presente estudo contribuem no aprimoramento das técnicas de manejo aplicadas na produção em larga escala do *L. vannamei* em viveiros intensivos com bioflocos.

ABSTRACT

This study evaluates a set of management practices to improve the intensive production of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* cultivated in ponds with bioflocs. To this end, experiments on a commercial scale were carried out at the Marine Aquaculture Station of the Oceanography Institute in the Federal University of Rio Grande, RS, Brazil. Each experiment is described in the following chapters: (1) Initial fertilization in intensive ponds of *Litopenaeus vannamei* in the biofloc system; (2) Removal and control of total suspended solids in ponds with *Litopenaeus vannamei* cultivated on a commercial scale in a biofloc system; (3) Management strategies to reduce problems with blooms of the cyanobacteria *Nodularia spumigena* in shrimp cultivations with the BFT system. Rectangular excavated ponds of 600 m^2 covered with geomembrane (HDPE) were used in raceway systems. Each pond was equipped with 2 paddle wheel aerators of 1.0 HP each. The animals were fed with a 38% crude protein feed. Fertilizations with molasses were made whenever necessary to control ammonia and maintain minimal or zero water renewals. In experiment 1, the use of biofloc inoculum associated with organic fertilizations (molasses and feed) reduced the need for water renewals, controlled the increase of nitrogenous compounds concentrations and maintained water quality during the grow-out cultivation of *L. vannamei*. In experiment 2, the use of clarifiers promoted the management of total suspended solids concentrations throughout the grow-out phase and reduced the ratio of water used per kilogram of shrimp produced. The effluent discharges also decreased, enhancing the system biosafety, using a minimum volume of 0,46% of clarification related to the volume of the production area. Experiment 3 revealed that organic fertilizations in the C:N ratio of 20:1 applied during three consecutive days after blooms of the cyanobacteria *N. spumigena* are a viable alternative to contain algal blooms, stimulate the development of chlorophytes microalgae and significantly reduce the losses of *L. vannamei* in a biofloc system. These results contribute to improve the management techniques applied in a large scale production of *L. vannamei* in intensive biofloc ponds.

INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura está entre os setores de produção de alimentos que mais cresce atualmente no mundo (FAO, 2016) com crescimento contínuo nos últimos 40 anos, se destacando como um importante contribuinte da produção global total de frutos do mar (Nadarajah & Flaaten, 2017). A demanda futura e a incapacidade em aumentar as capturas através da pesca devido à sobrepesca, exigem um crescimento mais acentuado da produção aquícola para os próximos anos (Avnimelech, 2012; Crab et al., 2012; FAO, 2016).

Entretanto, apesar da necessidade em aumentar a produção, produtores, varejistas, consumidores, pesquisadores e gestores governamentais, reconhecem também a importância da redução dos impactos causados pela atividade (Samocha et al., 2017). Com o crescente aumento das restrições ambientais quanto ao uso de água e terra, é indispensável o desenvolvimento de tecnologias mais sofisticadas para atender essas exigências (Avnimelech, 2012).

Na década de 1980, as primeiras tentativas de intensificação da produção de camarões, rapidamente fracassaram devido o surgimento de doenças virais e bacterianas (Samocha et al., 2017). As práticas diárias de renovação de água, comuns em fazendas tradicionais para manter os parâmetros de qualidade de água adequados (Boyd & Clay, 2002; Thompson et al., 2002; Burford et al., 2003), facilitaram a disseminação de doenças e a contaminação pelo elevado fluxo de transição de água entre os ambientes naturais e os cultivos (Hargreaves, 2013).

Sistema de Bioflocos

A necessidade em reduzir as trocas de água, melhorar a qualidade de água de cultivo e aumentar a biossegurança em sistemas fechados, fez surgir na década de 1990

nos EUA e Israel os primeiros conceitos científicos e práticos da "Tecnologia de Bioflocos" (BFT) (Avnimelech, 1993; Hopkins, et al., 1993). O entendimento do funcionamento da alça microbiana, através da manipulação da relação carbono:nitrogênio da água, possibilitou o desenvolvimento de uma comunidade microbiana ativa, capaz de assimilar os nutrientes da produção reduzindo fortemente as trocas de água (Avnimelech, 1999; Ebeling et al., 2006; Samocha et al., 2007). Com esta redução no uso de água, houve também uma drástica diminuição na emissão de efluentes para o ambiente, minimizando os riscos de introdução e propagação de doenças entre as fazendas de produção (Emerenciano et al., 2007). A presença dos bioflocos além de contribuir positivamente na qualidade da água, também serve como fonte adicional de alimento aos camarões, permitindo um melhor reaproveitamento dos nutrientes da produção (Burford et al., 2003; Ebeling et al., 2006; Wasielesky et al., 2006).

A primeira fazenda comercial a por em prática e desenvolver a tecnologia de bioflocos foi Belize Aquaculture Ltd., na América Central, utilizando viveiros revestidos, aeração mecânica, elevadas densidades, sem renovação de água ou geração de efluente (Boyd & Clay, 2002). Grande parte das experiências adquiridas em Belize serviram de base para aplicação em diversos cultivos em sistema de bioflocos espalhados pelo mundo (Avnimelech & Nyan Taw, 2012).

Contudo, apesar dos muitos avanços conquistados desde as primeiras pesquisas e aplicações na indústria, o desenvolvimento do pacote tecnológico do sistema BFT ainda segue em constante aprimoramento sob vários aspectos, sendo alguns abordados em seguida.

Fertilização Inicial

Em viveiros convencionais, que operam em baixas densidades, são muito comuns os procedimentos de fertilização orgânica e inorgânica inicial para o preparo da água. Sabe-se que cada método utilizado pode resultar em diferentes respostas da comunidade aquática e dos indicadores de qualidade de água (Mischke & Zimba, 2004; 2010). Entretanto, em sistema de bioflocos os métodos de fertilização orgânica inicial ainda são pouco avaliados em pesquisas e as técnicas utilizadas são muitas vezes desenvolvidas pelos próprios operadores comerciais à partir de experiências acumuladas ao longo do tempo na atividade (Hargreaves, 2013).

Para realizar as fertilizações em sistemas com bioflocos são utilizadas desde rações comerciais e diferentes tipos de farelos, até fontes lábeis de carbono orgânico, que servem para elevar a relação carbono:nitrogênio (C:N) da água (Jory et al., 2001). O aumento desta relação C:N objetiva fornecer a combinação necessária dos componentes que as bactérias e outros microrganismos necessitam para o seu desenvolvimento (Avnimelech, 1999). No entanto, os efeitos da manipulação C:N, ainda são pouco compreendidos no que se refere ao desenvolvimento e dinâmica dos bioflocos, relacionados aos indicadores de qualidade de água e desempenho zootécnico (Xu et al., 2016).

Outro método promissor também pouco investigado é a aplicação de uma fração de água de cultivo contendo bioflocos como fonte de inóculo. Esta técnica pode favorecer o rápido estabelecimento da comunidade microbiana na água, fazendo com que atue rapidamente na remoção dos compostos nitrogenados oriundos das fezes e sobras de ração, oferecendo assim maior estabilidade ao cultivo (Krummenauer et al., 2014; Ferreira et al., 2016). Uma avaliação destes procedimentos em viveiros com bioflocos pode melhorar o entendimento sobre os processos de fertilização,

considerando que estes interagem com uma gama de fatores físicos, químicos e biológicos os quais irão influenciar no amadurecimento e na dinâmica do sistema (Hargreaves, 2013).

Gerenciamento de Sólidos Suspensos Totais

A preparação da água de cultivo é uma importante etapa para iniciar a produção, contudo, o estímulo ao desenvolvimento dos bioflocos, as elevadas taxas de alimentação e as altas densidades de estocagem, provocam o incremento constante dos bioflocos (Krummenauer et al., 2014; Gaona et al., 2016a). Os bioflocos no seu desenvolvimento agregam fitoplâncton, zooplâncton, bactérias e detritos na forma de partículas em suspensão, compondo os sólidos suspensos totais (SST) (Krummenauer et al., 2011). As concentrações habituais de SST, consideradas adequadas para o correto funcionamento em sistema superintensivo, segundo alguns pesquisadores, estão situadas em uma faixa entre 400 e 600 mg L^{-1} de SST (Samocha et al., 2007; Gaona et al., 2011; Avnimelech, 2012; Schveitzer et al., 2013). Deve haver certo equilíbrio nas concentrações durante a produção, sendo que, valores extremos (baixas ou elevadas concentrações) não são desejadas. Quando as concentrações de SST são baixas, pode haver uma redução na eficiência de remoção dos compostos nitrogenados da água devido à baixa concentração dos bioflocos no meio, prejudicando o desempenho e a sobrevivência dos camarões (Gaona et al., 2016a). Quando os SST estão em excesso podem causar problemas como a obstrução nas brânquias dos camarões, (Schveitzer et al., 2013), aumento da demanda de oxigênio (Ray et al., 2010) e interferências no estabelecimento e atividade das bactérias nitrificantes (Gaona et al., 2015), além de redução de crescimento e sobrevivência dos animais confinados. O momento em que as concentrações de SST ultrapassam o valor máximo estipulado para o cultivo, são necessários procedimentos

para a remoção deste excesso de partículas da coluna de água. Muitos produtores recorrem às renovações de água como alternativa para realizar esta tarefa e manter as concentrações de sólidos equilibradas. No entanto, em sistemas superintensivos a utilização de clarificadores, tem demonstrado que é possível remover rapidamente o excesso de SST da coluna de água, dispensando a necessidade de renovar a água (Ray et al., 2010; 2011; Gaona et al., 2011; 2016b). Os clarificadores são tanques, geralmente circulares, que recebem a água do cultivo através de bombeamento com fluxo lento, onde ocorre no seu interior a sedimentação das partículas por ação da gravidade, fazendo com que a água superficial retorne ao cultivo com baixa concentração de partículas (Fig. 1) (Gaona et al., 2011).

Figura 1: Imagem de tanques circulares de clarificação (à direita), instalados em viveiros de produção intensiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos (EMA/IO-FURG).

Entretanto, a técnica de clarificação é pouco recomendada para viveiros intensivos, que, apesar da baixa geração de sólidos comparado a sistemas superintensivos, utilizam elevados volumes de água em grandes áreas de cultivo e que na maioria das vezes recorrem as renovações de água para reduzir as concentrações.

Outra questão está relacionada ao estabelecimento da relação do volume do clarificador em relação ao volume de água da unidade de produção, aplicados a viveiros intensivos com bioflocos, que ainda não foram suficientemente discutidas em pesquisas. De maneira geral a literatura descreve uma faixa entre 1,0 e 5,0% em relação ao volume de água da unidade de produção (Hargreaves, 2013) o que para viveiros pode representar grandes áreas da propriedade destinadas somente à instalação de clarificadores. A perda de área potencialmente produtiva pode contribuir para desencorajar produtores a instalar clarificadores e a determinação dos requerimentos mínimos para este processo em viveiros intensivos pode incentivá-los a mudar essa visão. Outro ponto importante é que em viveiros sem cobertura há uma intensa exposição à luminosidade natural, fazendo com que as microalgas sejam predominantes (Fig. 2) (Burford et al., 2003). Isso pode comprometer a dinâmica de sedimentação dos SST nos clarificadores, diferente daquela observada em sistemas superintensivos, onde predominam organismos heterotróficos (Gaona et al., 2011). Considerando todas estas questões, é necessário a realização de uma ampla avaliação de desempenho de tanques de clarificação para viveiros intensivos em escala comercial.

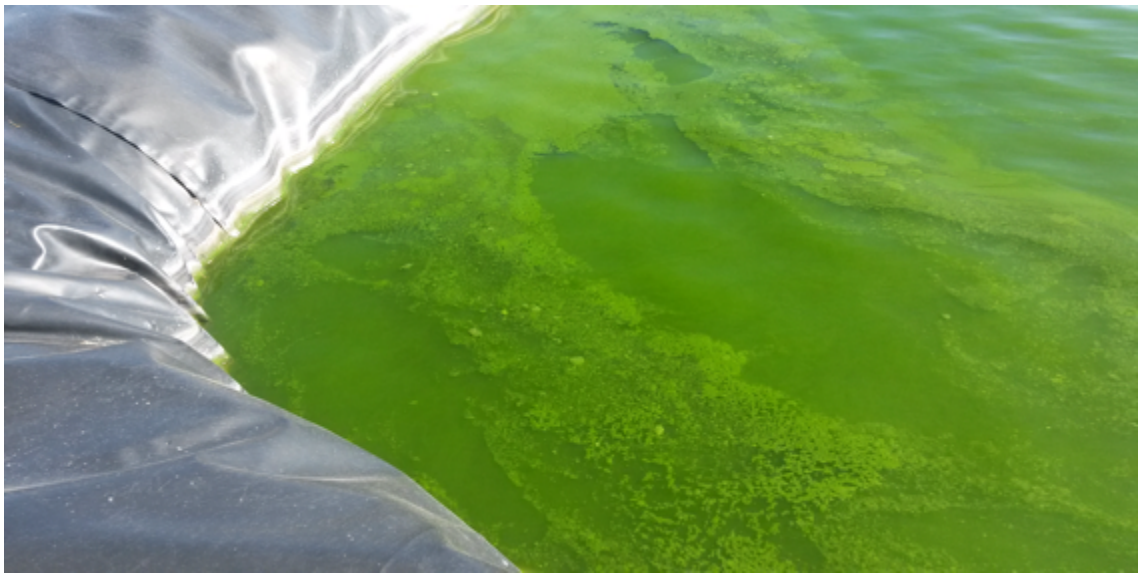


Figura 2: Imagem parcial de um viveiro de produção intensiva do *L. vannamei* no sistema de bioflocos (EMA/IO-FURG). A coloração da água é característica de sistemas expostos a luminosidade natural em que predominam organismos fotossintetizantes.

Florações de Cianobactérias

O surgimento de novas tecnologias resolveu algumas importantes limitações da produção, permitindo a intensificação da aquicultura. Porém, outros problemas surgiram associados a estas mudanças. Uma das consequências negativas foi o aumento da eutrofização dos sistemas de cultivos, favorecendo o surgimento de florações de cianobactérias (Smith et al., 2008). Eventos de florações já provocaram inúmeros problemas e perdas de produção ao longo dos anos em diferentes cultivos de organismos aquáticos (Lirås et al., 1998; Saker & Eagleshamb, 1999; Alonso-Rodríguez & Paéz-Osuna, 2003; Kankaanpää et al., 2005; Prommana et al., 2006; Zimba et al., 2006). A entrada de nutrientes da fertilização e alimentação pode favorecer a manifestação de organismos indesejados no cultivo, principalmente relacionado ao aporte de fósforo (Alonso-Rodríguez & Paéz-Osuna, 2003). Diferentes autores relatam que a baixa relação N:P é considerado um dos principais fatores responsáveis por florações de cianobactérias (Kiirkki et al., 2001; Moisander et al., 2003; Stal et al., 2003; Mazur-Marzec et al., 2006). Em 2010, os viveiros experimentais da Estação Marinha de Aquacultura da Universidade Federal do Rio Grande (EMA/IO-FURG) (Fig. 3) foram pela primeira vez afetados por florações de cianobactéria tóxica, identificada como *Nodularia spumigena* (Pacheco et al., 2016). A cianobactéria *N. spumigena* é capaz de fixar nitrogênio e formar grandes florações em condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento (El-Shehawy & Gorokhova, 2013). Além de proliferar rapidamente, ela é capaz de produzir uma potente hepatotoxina (nodularina) (Mazur-Marzec et al., 2006). Esta toxina pode comprometer a alimentação e as taxas de crescimento, além de provocar elevadas mortalidades dos organismos

cultivados (Smith et al., 2008). A necessidade em encontrar soluções para amenizar este problema é urgente, considerando que estas florações tem causado perdas significativas na aquicultura global, assim como ocorreu nos últimos anos em viveiros de produção do *L. vannamei* na EMA/IO-FURG (Da Silveira et al., 2017).

Figura 3: Imagem parcial dos viveiros de pesquisa e produção intensiva do camarão marinho *L. vannamei* em sistema de bioflocos (EMA/IO-FURG).

Algumas práticas como a utilização do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) vêm sendo aplicadas como fonte alternativa para remoção de cianobactérias em ambientes aquáticos, inclusive na aquicultura (Matthijs et al., 2012; Barrington et al., 2013; Sinha et al., 2018). Entretanto, esta prática de manejo em sistema de bioflocos pode oferecer sérios riscos às comunidades e processos microbianos que são importantes para o seu funcionamento. O sistema BFT é dependente de uma comunidade microbiana ativa para manter a qualidade de água adequada e fornecer alimento adicional aos camarões (Wasielesky et al., 2006; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2012). As concentrações seguras de aplicação do H_2O_2 na aquicultura são baixas, porém, somadas ao tempo de exposição das dosagens podem comprometer gravemente a comunidade microbiana benéfica da água (mortalidades) (Møller et al., 2010). Sendo assim, é imprescindível o

desenvolvimento de novas estratégias como alternativa para mitigar o problema em cultivos afetados por cianobactérias tóxicas no sistema de bioflocos.

Considerando os temas abordados anteriormente, esta tese busca, portanto aprimorar as técnicas de manejo aplicadas a viveiros intensivos de produção de *L. vannamei* mantidos em sistema de bioflocos.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o conjunto de diferentes práticas de manejo em larga escala para o aperfeiçoamento da produção do *L. vannamei* em viveiros intensivos no sistema de bioflocos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar os efeitos de dois métodos diferentes de fertilização inicial, na fase de engorda do *L. vannamei* em viveiros intensivos no sistema de bioflocos.
- ✓ Avaliar a eficiência de dois sistemas de clarificação, comparando com a prática de renovação de água, na manutenção de SST na fase de engorda do *L. vannamei* em viveiros intensivos com bioflocos.
- ✓ Analisar o efeito de fertilizações orgânicas sobre a dinâmica da comunidade microbiana afetada e não afetada pela cianobactéria *N. spumigena* e o desempenho do *L. vannamei* em viveiros intensivos com bioflocos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso-Rodriguez, R., Páez-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, 1-4. 317-336. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00509-4

Avnimelech, Y., 1993. Control of microbial activity in aquaculture systems: active suspension ponds. World Aquaculture Society. 34, 19-21.

Avnimelech, Y., 1999. Carbon: nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176, 227-235.

Avnimelech, Y., 2012. Biofloc Technology – A Practical Guide Book, 2a Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 272p.

Avnimelech, Y., Taw, N., 2012. Field Experience. In: Avnimelech, Y., Biofloc Technology – A Practical Guide Book, 2a Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 272p.

Barrington, D.J., Reichwaldt E.S., Ghadouani, A., 2013. The use of hydrogen peroxide to remove cyanobacteria and microcystins from waste stabilization ponds and hypereutrophic systems. Ecological Engineering, 50, 86-94. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2012.04.024

Boyd, C.E., Clay, J.W., 2002. Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Super intensive Shrimp Aquaculture System. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 17pp.

Burford, M.A., Thompson, P.J., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219, 393-411.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture, 356-357, 351-356. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046

Da Silveira, S.B., Wasielesky, W., Andreote, A.P.D., Fiore, M.F., Odebrecht, C., 2017. Morphology, phylogeny, growth rate and nodularin production of *Nodularia spumigena* from Brazil. Marine Biology Research, 13(10), 1095-1107. DOI: 10.1080/17451000.2017.1336587

De Schryver, P.D., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs 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.

El-Shehawy, R., Gorokhova, E., 2013. The bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena*: a peculiar nitrogen-fixer in the Baltic Sea food webs. Cyanobacteria: Ecology, Toxicology and Management, Nova publisher, USA, 47-71.

Emerenciano, M.G.C., Wasielesky Jr., W., Soares, R.B., Ballester, E.C., Izeppi, E.M., Cavalli, R.O., 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. Acta Scientiarum Biological Sciences, 29(1), 1-7.

FAO. 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. Rome.200 pp.

Ferreira, L.M.H., Lara G., Wasielesky Jr., W., Abreu, P.C. 2016., Biofilm versus biofloc: Are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT

system? Aquaculture international, 24(4), 921-930. DOI: 10.1007/s10499-015-9961-0

Gaona, C.A.P., Almeida, M.S., Viau, V., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2015. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. Aquaculture Research, 1-10. DOI:10.1111/are.12949

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 Aquacuaculture 12, 54-73. DOI: 10.21061/ijra.v12i1.1354

Gaona, C.A.P., Serra, F.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2016a. Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. Aquacultural Engineering. 72, 65-69. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.03.004

Gaona, C.A.P., Serra, F.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2016b. Biofloc management with different flow rates for solids removal in the *Litopenaeus vannamei* BFT culture system. Aquaculture International, 24, 1263-1275. DOI: 10.1007/s10499-016-9983-2

Hargreaves, J.A., 2013. Bioflocs production system for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.

Hopkins, J.S., Hamilton, R.D., Sandifer, 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, 304–320.

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. In: Browdy, CL and Jory, DE (Eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 104-152.

Kankaanpää, H.T., Holliday J., Schröder H., Goddard T.J., Von Fister, R., Carmichael, W.W., 2005. Cyanobacteria and prawn farming in northern New South Wales, Australia - a case study on cyanobacteria diversity and hepatotoxin bioaccumulation. Toxicology and Applied Pharmacology, 203(3), 243-256. DOI:10.1016/j.taap.2004.04.012

Kiirikki, M., Inkala, A., Kuosa H., Pitkänen, H., Kuusisto, M., Sarkkula, J., 2001. Evaluating the effects of nutrient load reductions on the biomass of toxic nitrogen-fixing cyanobacteria in the Gulf of Finland, Baltic Sea. Boreal Environment Research, 6(2), 131-146.

Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R.O., Poersch L., Wasielesky, 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, 732-739.

Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L.H., Lara, G., Wasielesky, 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.

Lirås, V., Lindberg M., Nyström P., Annadotter H., Lawton, L.A., Graf B., 1998. Can ingested cyanobacteria be harmful to the signal crayfish (*Pacifastacus*

leniusculus)? Freshwater Biology, 39(2), 233-242. DOI: 10.1046/j.1365-2427.1998.00278.x

Matthijs, H.C.P., Visser, P.M., Reeze, B., Meeuse, J., Slot, P.C., Wijn, G., Talens, R., Huisman, J., 2012. Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. Water Research, 46(5), 1460-1472. DOI: 10.1016/j.watres.2011.11.016

Mazur-Marzec, H., Krężel, A., Kobos, J., Pliński, M., 2006. Toxic *Nodularia spumigena* blooms in the coastal waters of the Gulf of Gdańsk: a ten-year survey. Oceanologia, 48(2), 255-273.

Mischke, C.C.,. Zimba P.V., 2004. Plankton community responses in earthen channel catfish nursery ponds under various fertilization regimes. Aquaculture, 233, 219-235. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.09.044

Mischke, C.C.,. Zimba P.V., 2010. Initial influence of fertilizer nitrogen types on water quality. Aquaculture Research, 41(7), 968-972. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02379.x

Moisander, P.H., Steppe, T.F., Hall, N.S., Kuparinen, J., Paerl, H.W., 2003. Variability in nitrogen and phosphorus limitation for Baltic Sea phytoplankton during nitrogen-fixing cyanobacterial blooms. Marine Ecology Progress Series, 262, 81-95. DOI: 10.3354/meps262081

Møller, M.S., Arvin, E., Pedersen, L.F., 2010. Degradation and effect of hydrogen peroxide in small-scale recirculation aquaculture system biofilters. Aquaculture Research, 41(8), 1113-1122. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02394.x

Nadarajah, S., Flaaten, O., 2017. Global aquaculture growth and institutional quality. Marine Policy, 84, 142-151. DOI:10.1016/j.marpol.2017.07.018

Pacheco, L.A., Kunrath, N., Costa, C.M., Costa, L.D.F., Fóes, G.K., Wasielesky, W., Yunes J.S., 2016. Identification of the toxic pentapeptide nodularin in a cyanobacterial bloom in a shrimp farm in South American Atlantic Coast. Pharmaceutica Analytica Acta, 7, 479. DOI: 10.4172/2153-2435.1000479

Prommana, R., Peerapornpisal, Y., Whangchai, N., Morrison, L.F., Metcalf, J.S., Ruangyuttikarn, W., Towprom, A., Codd G.A., 2006. Microcystins in cyanobacterial blooms from two freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) ponds in Northern Thailand. Science Asia, 32(6), 365-370. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2006.32.365

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., 2010. 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.

Saker, M.L., Eaglesham, G.K., 1999. The accumulation of cylindrospermopsin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the Redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Toxicon, 37(7), 1065-1077. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00240-2

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.

Samocha, T.M., Prangnell, D.I., Hanson T.R., Treece, G.D., Morris, T.C., Castro, L.F., Staresinic, N., 2017. Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* – The Texas A&M AgriLife Research Experience. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., Santo, C.M.E., Vinatea, L.A., 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.

Sinha, A.K., Romano, N., Eggleton, M., Howe, J., Lochmann, R., 2018. Removing cyanobacteria and associated toxins in aquaculture ponds. Global Aquaculture Advocate. Maio de 2018. Disponível em: https://www.aquaculturealliance.org/advocate/removing-cyanobacteria-toxins-aquaculture-ponds/

Smith, J.L., Boyer G.L.,. Zimba P.V., 2008. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: impacts and management alternatives in aquaculture. Aquaculture, 280, 5-20. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.05.007

Stal, L.J., Albertano, P., Bergman B., Von Bröckel K., Gallon, J.R., Hayes, P.K., Sivonen, K., Walsby, A.E., 2003. BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea — responses to a changing environment. Continental Shelf Research, 23, 1695-1714. DOI:10.1016/j.csr.2003.06.001

Thompson, F.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture, 203(3-4), 263-278.

Wasielesky Jr., W., Atwood, H., Stokes, A.L., 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.030

Xu, W.J., Morris T.C., Samocha, T.M., 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. Aquaculture, 453, 169-175. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021

Zimba, P.V., Camus, A., Allen E.H., Burkholder J.M., 2006. Co-occurrence of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, mortalities and microcystin toxin in a southeastern USA shrimp facility. Aquaculture, 261(3), 1048-1055. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.037

CAPÍTULO I

Fertilização inicial em viveiros de produção intensiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos

Zemor, J.C.[a*], Wasielesky, W.[a], Fóes, G.K.,[a] Poersch, L.H. [a]

[a] Instituto de Oceanografia – Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Cx. Postal 474, 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

*juliozemor@hotmail.com

Artigo submetido à Revista Aquacultural Engineering

Resumo

A fertilização inicial no cultivo de camarões em sistema de bioflocos, realizada através da elevação da relação C:N da água ainda é relativamente pouco compreendida no que se refere ao desenvolvimento dos bioflocos, e na dinâmica relacionada aos indicadores de qualidade de água e desempenho zootécnico. Fontes de nitrogênio e carbono orgânico como rações comerciais, farelos de grãos e melaço de cana de açúcar podem ser utilizados neste processo, assim como o reuso de água de cultivo rica em bioflocos como fonte de inóculo para iniciar um novo cultivo. Com o objetivo de comparar dois métodos diferentes de fertilização inicial, um estudo foi conduzido em escala comercial utilizando oito viveiros de 600 m^2 cada, em sistema intensivo com bioflocos. Foram estocados 70 camarões m^{-2} em cada unidade divididos em 2 tratamentos: *IB+FO* (inóculo de bioflocos + fertilização orgânica) e *FO* (fertilização orgânica). Diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos foram observadas em amônia total durante a décima e décima primeira semana e nitrito na décima primeira e décima quarta semana. As concentrações de clorofila *a* apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos durante a décima segunda e décima quarta semana. Frentes frias durante o estudo influenciaram a dinâmica de alguns parâmetros de qualidade de água tais como amônia total, nitrito, SST e clorofila *a*. Diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos também foram observadas no consumo total de carbono orgânico (melaço) e no uso total de água em reposições e renovações. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nos resultados de desempenho zootécnico entre os tratamentos. Ambas as estratégias utilizadas neste estudo foram benéficas. Contudo, a utilização de inóculo de bioflocos melhorou a resposta do sistema frente às condições ambientais adversas enfrentadas durante o cultivo.

Palavras-chave: bioflocos, fertilização, viveiros, temperatura, *Litopenaeus vannamei*

Abstract

The initial fertilization in shrimp cultivation in biofloc systems is carried out through the elevation of the water C:N ratio, but this process is still poorly understood with regard to the development of bioflocs related to the water quality parameters and zootechnical performance. As a source of inoculum for new cultivations, nitrogen and organic carbon sources such as commercial feed, grain meal and sugar cane molasses are used in this process, as well as biofloc-rich cultivation water. We compared two different methods of initial fertilization in an intensive biofloc system, on a commercial scale, using eight ponds of 600 m^2 each. A total of 70 shrimp m^{-2} were stored in each unit, distributed in two treatments: *IB+FO* (inoculation of bioflocs + organic fertilization) and *FO* (organic fertilization). Significant differences ($p<0,05$) were observed in total ammonia during the tenth and eleventh week and nitrite in the eleventh and fourteenth weeks. Chlorophyll *a* concentrations showed a significant difference ($p<0,05$) between treatments during the twelfth and fourteenth week. Cold fronts during the study influenced the dynamics of some water quality parameters, such as total ammonia, nitrite, TSS and chlorophyll *a*. Significant differences ($p<0,05$) between treatments were also observed in total organic carbon consumption (molasses) and total water use for renewals. The results of zootechnical performance were similar ($p>0,05$) between treatments. Both strategies used in this study were beneficial. However, the use of biofloc inoculum improved the response of the system to the adverse environmental conditions encountered during cultivation.

Keywords: bioflocs, fertilization, *Litopenaeus vannamei*, ponds, temperature

Introdução

A tecnologia de bioflocos (BFT) reúne características que possibilitam manter a qualidade de água adequada, juntamente com a oferta de proteína microbiana aos organismos cultivados (Wasielesky et al., 2006; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2012). Para alcançar este equilíbrio entre a oferta de proteína microbiana juntamente com a manutenção da qualidade de água, é necessário que exista a preparação prévia da água de cultivo. Basicamente, as técnicas utilizadas, envolvem o uso de rações comerciais, farelos e fontes lábeis de carbono orgânico para elevar a relação carbono:nitrogênio (C:N) da água (Jory et al., 2001). Este aumento oferece a combinação necessária dos componentes que as bactérias e outros microrganismos precisam para se desenvolver e crescer (Avnimelech, 1999). Entretanto, os efeitos da manipulação C:N no desenvolvimento dos bioflocos e sua dinâmica relacionados com os indicadores de qualidade de água e desempenho zootécnico ainda são pouco compreendidos (Xu et al., 2016). A habilidade em manipular a relação C:N pela formulação de rações, controle de sólidos ou adição de carbono orgânico, permite que o produtor possa administrar o tipo de sistema utilizado (Ebeling et al., 2006). Os protocolos referentes ao preparo de água são escassos e seus operadores comerciais desenvolvem técnicas próprias que são adquiridas através de árduas experiências ao longo do tempo na atividade (Hargreaves, 2013). Em estudos científicos dos mais variados temas investigados em sistema BFT, apesar dos pesquisadores utilizarem diferentes procedimentos de fertilização inicial, todos buscam criar condições igualmente adequadas ao desenvolvimento e estabelecimento microbiano. Por exemplo, Ballester et al. (2010) quando avaliaram a redução de proteína na dieta de camarões, combinaram três diferentes fontes de carbono e nitrogênio como metodologia inicial de preparo da água (melaço, farelo de trigo e ração comercial) para estimular o

desenvolvimento dos bioflocos. Diferentemente, Furtado et al. (2014) para avaliar os efeitos de diferentes níveis de alcalinidade no cultivo do *L. vannamei*, utilizaram inicialmente apenas o melaço para elevar a relação C:N em 15:1 e favorecer a formação dos bioflocos. Em outro estudo, Lara et al. (2016) avaliando os efeitos da adição de nitrito de sódio ($NaNO_2$) e substratos artificiais em sistema BFT, utilizaram a combinação de melaço e farelo de arroz como fontes de carbono orgânico para alcançar a relação C:N inicial entre 15 e 20:1.

Diferentes métodos podem ser aplicados com êxito na formação e desenvolvimento do bioflocos. Krummenauer et al. (2014) avaliaram o efeito de diferentes níveis de enriquecimento reutilizando água de cultivo como inóculo de bioflocos. Este procedimento proporcionou o rápido estabelecimento da comunidade microbiana no ambiente de cultivo, alcançando a estabilidade e o equilíbrio dos parâmetros de qualidade de água mais rapidamente. A reutilização de inóculo de bioflocos, também pode ser combinada à aplicações de fontes de carbono orgânico, como método de preparo da água. Gaona et al. (2011), Furtado et al. (2011) e Ferreira et al. (2016) utilizaram desta combinação em seus protocolos de preparo da água para potencializar a formação dos bioflocos e acelerar o amadurecimento do sistema para suas pesquisas.

Fertilizar a água constantemente durante a produção para garantir o fornecimento de carbono orgânico permanentemente ao cultivo parece não ser a melhor estratégia. Um estudo realizado para comparar os efeitos entre fertilização inicial e contínua de carbono orgânico demonstrou que apenas fertilizações iniciais foram mais eficientes. Arantes et al. (2017) demonstraram que o uso constante de carbono orgânico além de potencializar a produção de matéria orgânica, prejudicou o desempenho dos camarões, sendo melhor fazê-las apenas inicialmente ou quando as concentrações de

amônia estão elevadas Outras pesquisas têm concentrado esforços em ajustar a relação C:N do alimento comercial fornecido aos camarões, como medida de controle da qualidade de água, o que não exclui a preparação prévia da água do cultivo. Esta prática pode minimizar os riscos de aumento dos compostos nitrogenados através da redução nos níveis de proteína da ração, visando reduzir o acúmulo de nitrogênio na água (Correia et al., 2014). Em viveiros convencionais de produção, são comuns os procedimentos de fertilizações iniciais sendo que os diferentes métodos utilizados podem resultar em diferentes respostas da comunidade aquática e dos indicadores de qualidade de água (Mischke & Zimba, 2004; 2010). O resultado destes processos é dependente de uma gama de fatores tais como temperatura, taxa de alimentação, quantidade e composição de microrganismos na inoculação inicial e a adição de fontes de carbono orgânico, os quais irão influenciar no amadurecimento do sistema (Hargreaves, 2013). O aprimoramento destes métodos e o estabelecimento de protocolos podem melhorar as condições de cultivo, baseado em um preparo de água de acordo com as necessidades da produção. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de duas práticas de fertilização inicial sob os indicadores de qualidade de água e desempenho zootécnico do *L. vannamei* em viveiros de produção intensiva realizada no sistema BFT.

Material e Métodos

Delineamento experimental

O estudo foi desenvolvido na Estação Marinha de Aquacultura Prof. Marcos Alberto Marchiori (EMA), pertencente ao Instituto Oceanográfico (IO) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) localizada na Praia do Cassino, Rio Grande, RS, (32º12’16” S 52º10’38” W) no Sul do Brasil. Pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*, (PL

15) foram mantidas em uma estufa com tanques berçário com área de 35 m^2, onde permaneceram 40 dias em sistema BFT. Ao final da fase de berçário, os camarões foram transferidos para as unidades experimentais. Os juvenis, com peso médio de 1,01 ± 0,51 g foram estocados na densidade de 70 camarões m^{-2} em oito viveiros retangulares escavados com 600 m^2 cada, revestidos com polietileno de alta densidade (PEAD) em um sistema tipo *raceways*. Cada unidade foi preparada recebendo dois aeradores tipo *paddle wheel* (1.0 HP cada) para uma aeração equivalente a 33.3 HP ha^{-1}. Para o enchimento das unidades experimentais foi utilizada água marinha na salinidade 30, tratada com 12 mg L^{-1} de cloro e neutralizada após 24 h com o acionamento do sistema de aeração para a volatilização do cloro antes da estocagem. Foram propostos dois tratamentos com quatro repetições cada. No primeiro tratamento foi utilizada água de um berçário superintensivo de camarões em operação na EMA/IO-FURG, como fonte de inóculo de bioflocos, seguido de fertilização orgânica (*IB+FO*). No segundo tratamento foi utilizada somente a fertilização orgânica para formação dos bioflocos (*FO*). Cada unidade experimental do tratamento *IB+FO* recebeu inicialmente 30 m^3 de água com inóculo de bioflocos com 300 mg L^{-1} de sólidos suspensos totais (SST), no dia da estocagem dos camarões. Após 20 dias, mais 10 m^3 com 460 mg L^{-1} de SST, foram transferidos para as mesmas unidades, totalizando 40 m^3 de inóculo, representando 6,7% do volume total de cada unidade experimental.

Após a primeira semana da estocagem dos camarões, foi realizada a fertilização orgânica em ambos os tratamentos (*IB+FO* e *FO*) utilizando melaço de cana de açúcar como fonte de carbono e ração triturada para camarões com 28% de proteína bruta como fonte de nitrogênio, em três aplicações com intervalo de um dia entre cada aplicação para fornecer uma relação (C:N) aproximada de 20:1, baseado em Avnimelech (1999) e Ebeling et al. (2006). A relação nominal total das aplicações foi

de 42,61 g de carbono: 2,16 g de nitrogênio por m^3. Para correção das elevações de amônia durante o estudo foi utilizada a relação C:N de 6:1, baseado nestes mesmos autores. A concentração máxima de SST estabelecida para a engorda dos camarões foi de 500 mg L^{-1} para todos os tratamentos, baseado em estudos de Gaona et al. (2011) e Schveitzer et al. (2013).

Qualidade da água

Diariamente às 8:00 e 16:00 h foram monitorados os valores de temperatura e oxigênio dissolvido (YSI® modelo Pro 20) (YSI® Incorporated, Yellow Springs, OH, USA) e pH (Mettler Toledo®, modelo FE20). Semanalmente, salinidade através de refratômetro e análise de amônia total (N-AT) realizada através do método UNESCO (1983); nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) segundo Bendschneider & Robinson (1952); nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e ortofosfato ($P\text{-}PO_4$) conforme Aminot and Chaussepied (1983). Também semanalmente foi observada a transparência da água, utilizando disco de Secchi, determinadas as concentrações de sólidos suspensos totais (SST) (mg L^{-1}), (Strickland & Parsons, 1972; AOAC, 2000) e a alcalinidade segundo APHA (1998). A análise de clorofila *a* foi realizada a cada semana filtrando 20 ml de água e armazenado em 10 ml de acetona 90% (Merck® PA) em frascos escuros para a extração do pigmento fotossintético a -12 °C. Após 24 h, foram analisadas em fluorímetro Turner TD7200 (Turner Design, Inc., CA, EUA) (Welschmeyer, 1994).

Consumo de carbono orgânico e água

Para obter o consumo total de carbono orgânico sob a forma de melaço ao final do estudo foi calculada a soma das quantidades aplicadas nas unidades (kg) durante a fase de engorda para conter a amônia, juntamente com a quantidade utilizada na

fertilização inicial. Para obter o consumo total de água em reposições e renovações foi calculado o volume total de água bombeada para as unidades durante a fase de engorda dos camarões, com fluxo controlado a cada operação. Os resultados obtidos são expressos em m^3.

Desempenho zootécnico

O fornecimento de ração aos camarões foi realizado duas vezes ao dia (8:30 e 16:30 h), com ração comercial (Guabi® Potimar Active), contendo 38% de proteína bruta, seguindo orientação do artigo de revisão de Jory et al. (2001). Bandejas de alimentação foram utilizadas para auxiliar o controle do consumo aparente. Semanalmente, 100 camarões foram amostrados de forma aleatória de cada unidade experimental sendo pesados individualmente utilizando balança digital com precisão de 0,01 g (MARTE - AS 2000, Santa Rita do Sapucaí, Minas Gerais, Brasil). Após as biometrias, foi calculado o peso médio dos camarões, para o ajuste da quantidade de ração fornecida. Ao término do experimento, foi realizada uma biometria final com 200 camarões de cada unidade experimental. O ganho de peso dos camarões (G) de cada unidade experimental, a taxa de crescimento semanal (GS), a conversão alimentar aparente (CAA) e a sobrevivência (S) foram obtidos através das seguintes fórmulas:

(1) Ganho de peso (g) = peso médio final (g) – peso médio inicial (g).

(2) GS (g/semana) = (Pf (g) – Pi (g)) * 100 / NS;

onde Pf representa o peso final, Pi o peso inicial e NS o número de semanas do experimento.

(3) CAA = ração fornecida (g) / incremento de biomassa (g).

(4) S (%) = (peso total (g) / peso individual (g)) * 100.

Análise Estatística

A homocedasticidade das variâncias e normalidades dos dados obtidos foram verificados pelos testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. O teste-*t* de Student foi utilizado para detectar diferenças ($p<0,05$) entre os tratamentos (Sokal & Rohlf, 1969). Os dados de sobrevivências foram transformados (arco-seno da raiz quadrada) antes de serem analisados (Zar, 1996).

Resultados

Os resultados de qualidade de água dos tratamentos *IB+FO* e *FO*, após 105 dias de experimento estão expostos na tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos valores dos parâmetros físicos e químicos de qualidade de água monitorados durante a fase experimental do *L. vannamei* em viveiros no sistema BFT.

	Tratamentos	
	IB+FO	*FO*
Temperatura (°C)	25,6 ± 2,2	25,7 ± 2,1
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	6,83 ± 0,68	6,51 ± 0,60
pH	8,15 ± 0,24	8,06 ± 0,22
Salinidade	32,9 ± 2,0	33,1 ± 2,2
Amônia Total (mg L^{-1})	0,22 ± 0,18	0,36 ± 0,17
Nitrito (mg L^{-1})	0,66 ± 0,89	1,52 ± 1,95
Nitrato (mg L^{-1})	0,25 ± 0,17	1,00 ± 1,42
Ortofosfato (mg L^{-1})	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,06
SST (mg L^{-1})	279 ± 81	222 ± 100
Transparência	24,0 ± 8,5	28,5 ± 6,5
Clorofila *a* (µg L^{-1})	429,8 ± 147,3	320,2 ± 124,1
Alcalinidade (mg $CaCO_3$ L^{-1})	184 ± 16	170 ± 19

A temperatura média da água manteve-se pouco acima de 25,5 °C em ambos os tratamentos. Entretanto, durante a fase experimental, houve períodos de redução na

temperatura em decorrência de frentes frias, principalmente durante a sexta, oitava e décima semana do estudo. Após a redução da temperatura nestes períodos, foram observadas alterações na dinâmica de alguns parâmetros de qualidade de água tais como amônia total, nitrito, SST e clorofila *a*. As temperaturas mínimas da água registradas nos tratamentos durante estes períodos oscilaram em média entre 21 e 22 °C pela manhã. Após a décima segunda semana, a redução das temperaturas observada foi decorrente da entrada da estação seguinte (outono) (Fig. 1).

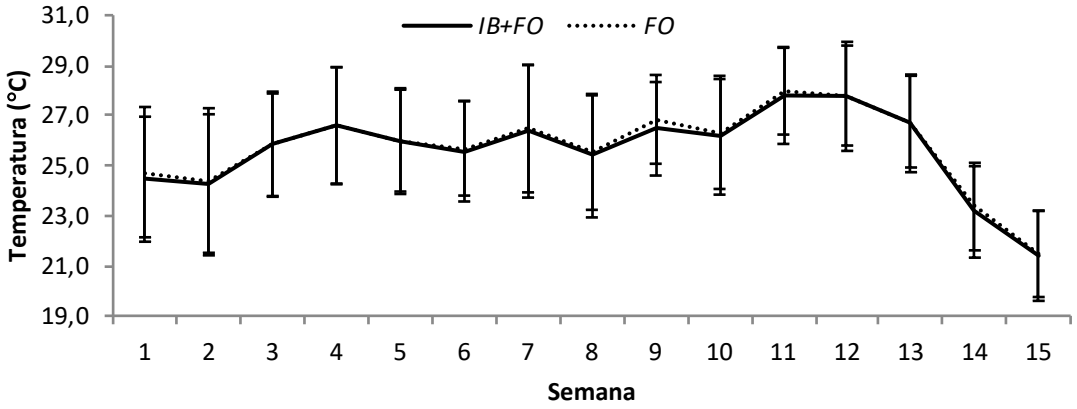


Figura 2: Variações das temperaturas em *IB+FO* e *FO* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

Diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos ocorreram para concentrações de amônia total, somente durante a décima e décima primeira semana do estudo e para o nitrito na décima primeira e décima quarta semana, sendo, os valores mais elevados observados no tratamento *FO* (Fig. 2 e 3).

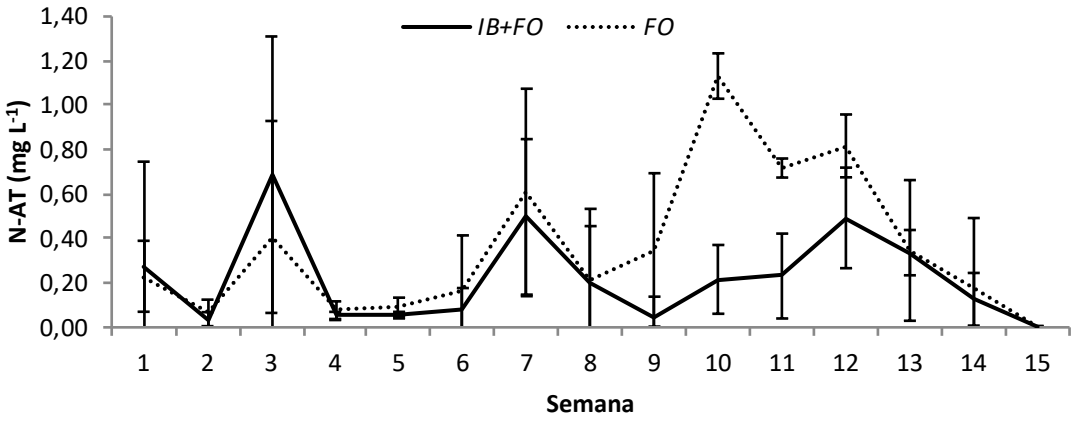


Figura 2: Variações das concentrações de amônia total em *IB+FO* e *FO*, durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

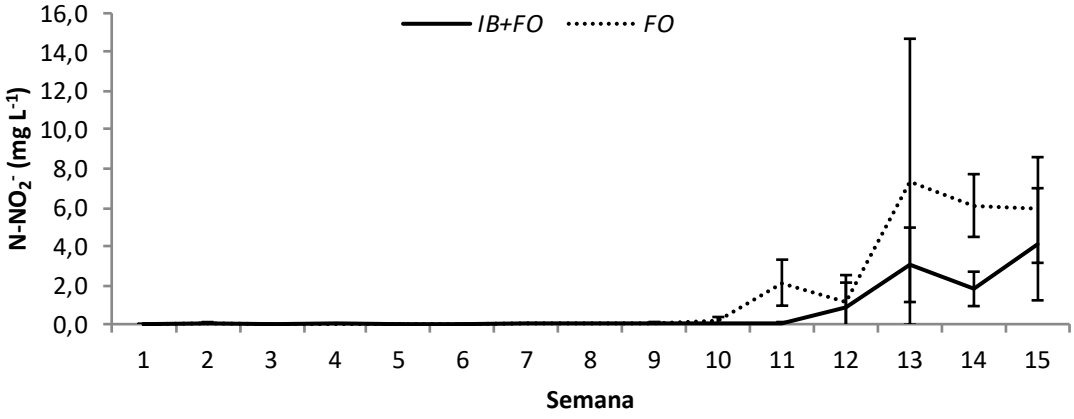


Figura 3: Variações das concentrações de nitrito em *IB+F*O e *FO* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

As concentrações de SST foram crescentes ao longo do tempo em ambos os tratamentos. Entretanto, apresentaram redução entre a sexta e sétima semana e entre a décima e décima primeira, causadas por entradas de frentes frias, porém sem apresentar diferenças significativas (P>0,05) (Fig. 4).

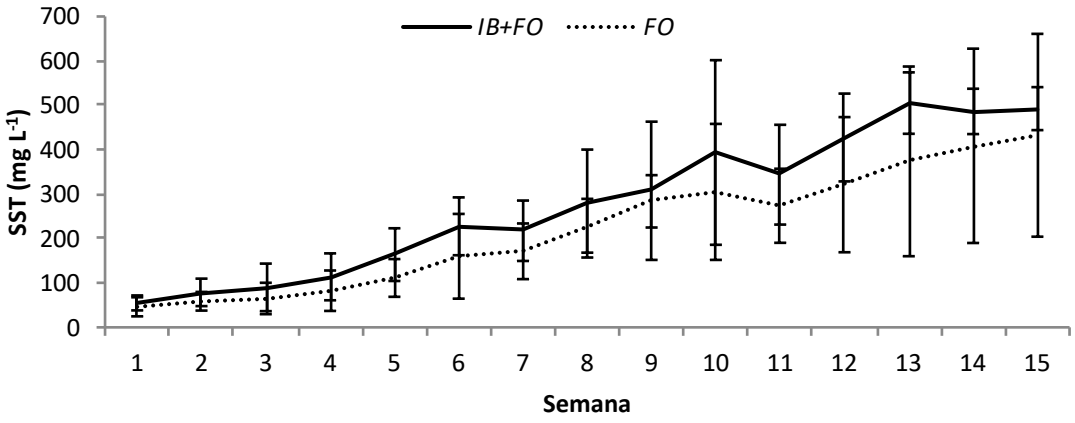


Figura 4: Variação das concentrações de SST em *IB+FO* e *FO* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

As concentrações de clorofila *a*, apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos durante a décima segunda e décima quarta semana, havendo aumento mais acentuado das concentrações a partir da décima segunda semana em ambos os tratamentos (Fig. 5).

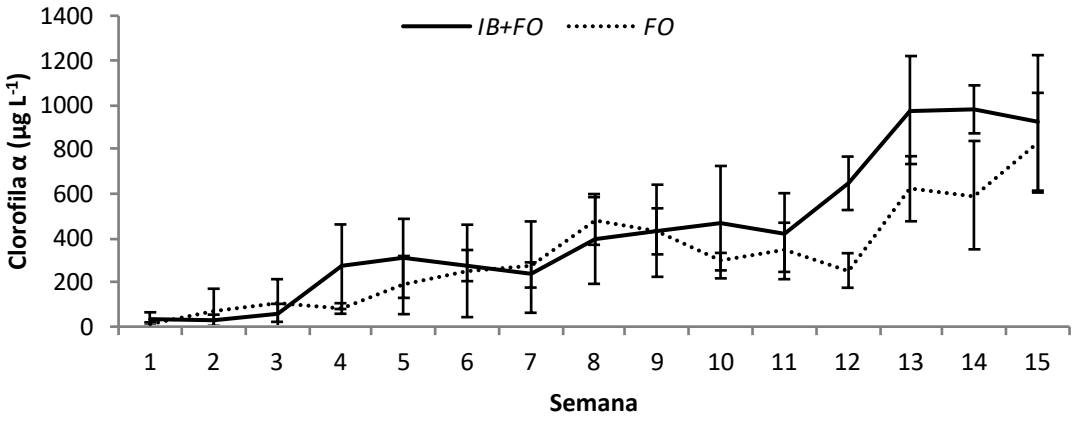


Figura 5: Variação das concentrações de clorofila *a* em *IB+FO* e *FO* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

Ao final do estudo, foi observado diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos no consumo total de carbono orgânico na forma de melaço (Tab. 2), que foi

maior em *FO*, utilizado para conter as concentrações de amônia, principalmente após a nona semana. Igualmente, o uso total de água em reposições e renovações (Tab. 2) foi significativamente maior ($p<0,05$) em *FO*, com relação ao tratamento *IB+FO*, influenciado pelas concentrações de nitrito mais elevadas durante a décima terceira semana.

Tabela 2: Média e desvio padrão do total de carbono orgânico consumido sob a forma de melaço e o total de água utilizado em reposições e renovações em *IB+FO* e *FO* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT em viveiros.

	Tratamentos	
	IB+FO	*FO*
Melaço (kg)	$147,0 \pm 24,5^{a}$	$254,0 \pm 46,6^{b}$
Uso de água (m^3)	$201,1 \pm 34,1^{a}$	$312,4 \pm 48,2^{b}$

Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferença significativa ($p<0,05$).

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nos resultados de desempenho zootécnico entre os tratamentos. Os camarões apresentaram crescimento semanal de 0,89 e 0,84 g nos tratamentos *IB+FO* e *FO*, respectivamente. A conversão alimentar aparente (CAA) foi menor que 1,3 kg de ração por kg de camarão produzido e a sobrevivência foi superior à 80% em ambos os tratamentos (Tab. 3).

Tabela 3: Média e desvio padrão dos índices de desempenho zootécnico do *L. vannamei* em *IB+FO* e *FO* no sistema BFT em viveiros.

	Tratamentos	
	IB+FO	*FO*
Peso inicial (g)	1,01 ± 0,51	1,01 ± 0,51
Peso final (g)	14,39 ± 2,23	13,65 ± 1,84
Ganho de peso semanal ($g\ s^{-1}$)	0,89 ± 0,42	0,84 ± 0,41
CAA *	1,13 ± 0,15	1,22 ± 0,14
Produtividade ($kg\ ha^{-1}$)	8.899 ± 1176	7.882 ± 1473

Sobrevivência (%)	88,2 ± 8,3	82,5 ± 8,6

*(CAA) conversão alimentar aparente.

Discussão

Os valores de oxigênio dissolvido e pH mantiveram-se dentro das faixas ideais para a espécie (5,0 – 9,0 mg L^{-1} e 7,0 – 8,3 respectivamente) , entretanto, a temperatura média em ambos os tratamentos, ficou abaixo da faixa ideal para o crescimento do *L. vannamei* (28 – 32 °C) (Van Wyk & Scarpa, 1999). No extremo sul do Brasil, mesmo durante a estação mais quente do ano, ocorre a incidência de sistemas frontais do quadrante sul (Möller et al., 2001). Apesar de ocorrer com menor frequência e intensidade que no inverno, eles causam a diminuição da temperatura da água em viveiros abertos, podendo resultar em efeitos negativos para a produção (Peixoto et al., 2003).

Inicialmente no presente estudo, foi observado o aumento das concentrações de amônia durante a segunda semana, em ambos os tratamentos, resultado dos procedimentos de fertilização orgânica (aplicação de melaço e ração comercial). Vilani et al. (2016) trabalhando com estratégias de preparo de água em sistema BFT, também observaram o rápido incremento da amônia durante a fase inicial do preparo, utilizando o mesmo tipo de fonte de carbono com relação C:N idêntica a aplicada no presente estudo (20:1). As fertilizações iniciais estavam programadas para acontecer juntamente com a estocagem dos camarões em ambos os tratamentos. Entretanto, devido a instabilidade da temperatura da água no início do estudo, efeito da mudança de estação (primavera/verão), as fertilizações aconteceram somente após a primeira semana da estocagem, quando houve a elevação da temperatura. Os aumentos nas concentrações de

amônia observados nas semanas seguintes a fertilização, foram posteriores aos períodos de redução na temperatura da água causados pelas frentes frias.

Estas frentes frias parecem ter afetado negativamente a comunidade microbiana da água, tanto na atividade quanto na sobrevivência dos organismos, que somado ao aumento das sobras de ração não consumidas pelos camarões, resultaram nas elevações das concentrações de amônia. Esta hipótese é reforçada baseado na observação da redução das concentrações de SST nestes períodos em decorrência das baixas temperaturas. Isso nos leva a acreditar que uma parcela da comunidade microbiana (bioflocos) possa ter sido perdida, liberando amônia. São fontes de nitrogênio a microbiota presente na água de cultivo, juntamente com os bioflocos (Silva et al., 2013) além do biofilme aderido e a ração fornecida aos camarões (Azim et al., 2008). O fornecimento de ração durante estes períodos foi ajustado ou até mesmo suspenso, de acordo com Jory et al. (2001), aliado ao monitoramento das bandejas de alimentação para evitar a elevação dos compostos nitrogenados por esta via.

O processo de nitrificação iniciou discretamente na sétima semana, sendo mais consistente a partir da décima e décima primeira semanas, provavelmente influenciado também pelas instabilidades na temperatura da água. Bactérias nitrificantes são capazes de nitrificar em uma ampla faixa de temperatura, desde que sejam lentamente aclimatadas, não tolerando mudanças bruscas (Timmons & Ebeling, 2010) como as observadas no presente estudo. Temperaturas flutuantes são estressantes tanto para os camarões quanto para as bactérias em geral (Van Wyk & Scarpa, 1999).

As diferenças significativas ($p<0,05$) observadas nos valores de amônia e nitrito entre os tratamentos demonstram que o resultado do impacto negativo causado pelas baixas temperaturas sobre estes parâmetros, foi maior no tratamento *FO* do que em *IB+FO*. A maior eficiência no processo de nitrificação observado em *IB+FO* pode ser

atribuída ao inóculo de bioflocos inicialmente recebido neste tratamento. Krummenauer et al. (2014) testaram diferentes percentuais de reutilização de água contendo bioflocos, e observaram o acelerado estabelecimento da comunidade nitrificante e a rápida remoção da amônia e nitrito da água. Ferreira et al. (2016) testando os efeitos da adição de substratos artificiais no sistema BFT, atribuíram ao inóculo de bioflocos o efetivo processo de nitrificação causado pela disseminação de bactérias nitrificantes da água. Hariati et al. (2017) em viveiros com bioflocos, também constataram que a adição de bactérias nitrificantes foi mais eficaz na redução da amônia e nitrito, resultando em melhor estabilidade dos parâmetros de qualidade de água.

Diferentemente de *IB+FO*, a nitrificação no tratamento *FO* pode ter sido prejudicada pelas aplicações mais elevadas e frequentes de carbono orgânico usadas para imobilizar a amônia, o que provavelmente foi responsável pela manutenção da relação C:N mais elevada no período. O carbono orgânico favorece o rápido desenvolvimento de bactérias heterotróficas (Avnimelech, 1999; Samocha et al., 2007), que competem com as bactérias nitrificantes (Zhu & Chen, 2001) por espaço, oxigênio dissolvido, amônia e micronutrientes (Luo et al., 2013), afetando negativamente o processo de nitrificação. Isso ficou demonstrado por Michaud et al. (2006) em sistema de recirculação que observaram o rápido aumento na abundância de bactérias heterotróficas e, consequentemente, a redução na eficiência da nitrificação em até 50% em biofiltros, proporcionalmente ao aumento de relação C:N da água.

No presente estudo, para evitar que as concentrações de nitrito afetassem negativamente os camarões, renovações pontuais de água foram feitas em *FO*, uma vez que mesmo concentrações abaixo de 10 mg L^{-1} de nitrito podem afetar negativamente a taxa de crescimento dos camarões (Vinatea et al., 2010). Entretanto, as concentrações de amônia e nitrito, mantiveram-se dentro dos níveis considerados seguros para o *L.*

vannamei segundo Lin & Chen (2001) e Lin & Chen (2003) respectivamente, em ambos os tratamentos durante toda fase experimental.

Não foi observado diferença significativa ($p>0,05$) nas concentrações de SST entre os tratamentos, apesar do uso de inóculo de bioflocos em *IB+FO*. Krummenauer et al. (2014), diferentemente do presente estudo, observaram o rápido incremento dos SST, utilizando diferentes percentuais de água enriquecida com bioflocos (25, 50, 75 e 100%). Provavelmente isso não ocorreu no presente estudo devido ao baixo percentual de inóculo utilizado no tratamento *IB+FO* (6,7%), somado as instabilidades na temperatura da água ao longo do tempo que reduzem o incremento de sólidos. A queda gradual da temperatura a partir da décima segunda semana até o final do estudo foi relacionada à entrada do outono com a chegada de massas de ar frio já no começo da estação, influenciado pelo evento de *La Niña* no período. Entretanto, os indicadores de qualidade de água não apresentaram alterações significativas durante este período, provavelmente devido ao amadurecimento alcançado pelo sistema em ambos os tratamentos.

Como esperado, a atividade fotossintética oscilou em ambos os tratamentos ao longo do tempo e apresentou atividade mais elevada próximo as semanas finais do experimento, até a chegada do frio do outono. A diferença significativa ($p<0,05$) observada na décima segunda e décima quarta semana foi atribuída ao maior uso do melaço em *FO*, que reduziu a transparência e consequentemente a entrada de luz na coluna d'água. A taxa de absorção de microalgas em sistema de bioflocos é influenciada principalmente pela intensidade da luz na coluna d'água que favorece o aumento da produtividade de organismos fotoautotróficos (Hargreaves, 2013).

As maiores quantidades de carbono orgânico consumidas, somado ao maior gasto de água em *FO* foram resultado do desequilíbrio apresentado nos compostos

nitrogenados causados pelas baixas temperaturas. De qualquer forma, o estimulo excessivo para formação de bactérias heterotróficas com o uso de carbono orgânico deve ser evitado, considerando que essa prática está associada a resultados zootécnicos negativos (Arantes et al., 2017) e pode ainda afetar negativamente os processos de nitrificação (Burford et al., 2003). A redução no uso de água durante a produção pode ser considerada benéfica e deve ser incentivada por estar associada ao aumento da biossegurança e redução na emissão de efluentes (Krummenauer et al., 2014). Entretanto, o uso de água nos tratamentos *IB+FO* e *FO* durante a produção, correspondeu à 0,3 e 0,5% ao dia, respectivamente, mantendo-se em uma faixa considerada aceitável para o sistema de bioflocos, pois o mesmo preconiza renovações na ordem de até 1,0% ao dia (Hargreaves, 2013).

Diferentes fatores bióticos e abióticos podem afetar o comportamento alimentar do camarão, incluindo idade, tamanho, disponibilidade de alimento natural, qualidade de água, ecdise, qualidade do alimento comercial fornecido, entre outros (Jory et al., 2001), resultando em diferentes respostas de desempenho zootécnico. O presente estudo foi principalmente influenciado pelas constantes oscilações na temperatura da água. A temperatura exerce um efeito pronunciado na alimentação do *L. vannamei*, que pode reduzir o consumo em até 50% com temperatura da água à 24 °C em comparação a temperatura considerada ideal (28 °C) (Van Wyk & Scarpa, 1999). Quando a 20 °C, os camarões reduzem a atividade de uma forma geral e apresentam baixo consumo alimentar e redução no crescimento (Ponce-Palafox et al., 1997). O gerenciamento no fornecimento de ração de acordo com o consumo permite que as conversões não sejam prejudicadas. É importante considerar também que os bioflocos são fonte constante de alimento adicional aos camarões (Burford et al., 2003; Burford et al., 2004) principalmente durante os períodos de restrição no fornecimento da ração. De maneira

geral, os resultados zootécnicos obtidos no presente estudo apresentaram desempenho satisfatório em ambos os tratamentos. Apesar da taxa de crescimento ficar abaixo de 1 g por semana em ambos os tratamentos, as conversões em *IB+FO* e *FO* foram de 1,13 e 1,22, com sobrevivências de 88,2 e 82,5% e produtividades de 8.899 e 7.882 kg ha^{-1} respectivamente. Krummenauer et al. (2011) no mesmo centro de pesquisa do presente estudo (EMA/IO/FURG), obtiveram crescimento semanal similar ao do presente estudo na engorda do *L. vannamei*, com densidade elevada (150 camarões m^{-2}). Provavelmente este resultado foi alcançado pelo efeito do uso de estufa que manteve a temperatura da água mais estável e reduziu os efeitos negativos das baixas temperaturas, comuns no extremo sul do Brasil. Xu et al. (2016) testando os efeitos de diferentes relações C:N em juvenis de *L. vannamei* em tanques ao ar livre, experimentaram condições muito similares do presente estudo, com elevadas flutuações de temperatura e média de 25 °C. Contudo, estes autores também obtiveram resultados considerados regulares de desempenho, compatíveis com o sistema BFT.

Conclusão

Ambas as estratégias de preparo da água utilizada neste estudo em viveiros intensivos com bioflocos foram benéficas. Contudo, a utilização de um percentual de inóculo de bioflocos, mesmo que inferior a 7,0% do volume da área de produção, associado a fertilização orgânica, pode melhorar a resposta do sistema frente às condições ambientais adversas enfrentadas durante o cultivo.

Referências Bibliográficas

Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, CNEXO, 395p.

AOAC (Association of Official Analitycal Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16th edition. Patricia Cunniff (editora), Washington, DC.

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

Arantes, R., Schveitzer R., Seiffert W.Q., Lapa K.R., Vinatea L., 2017. Nutrient discharge, sludge quantity and characteristics in biofloc shrimp culture using two methods of carbohydrate fertilization. Aquacultural engineering, 76, 1-8. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.11.002

Avnimelech, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176, 227-235. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X

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(9), 3590-3599. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.07.063

Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli R.O., Emerenciano M., Abreu L.D., Wasielesky, Jr. W., 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. Aquaculture Nutrition, 16(2), 163-172. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x

Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Journal of Marine Research, 11, 87-96.

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 high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture, 232, 525-537. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00541-6

Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh R.P., Bauman R.H., Pearson, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219, 393-411. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00575-6

Correia, E.S., Wilkenfeld J.S., Morris T.C., Wei, L., Prangnell D.I., Samocha, T.M., 2014. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. Aquacultural Engineering, 59, 48-54. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2014.02.002

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture, 356-357, 351-356. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046

De Schryver, P.D., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture, 277, 125-137. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.019

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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.019

Ferreira, L.M.H., Lara G., Wasielesky Jr., W., Abreu, P.C. 2016., Biofilm versus biofloc: Are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT

system? Aquaculture International, 24(4), 921-930. DOI: 10.1007/s10499-015-9961-0

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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.08.034

Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2014. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). Aquaculture International, 23, 345-358. DOI: 10.1007/s10499-014-9819-x

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 Recirculating Aquaculture, 12, 54-73. DOI: 10.21061/ijra.v12i1.1354

Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.

Hariati, A.M., Aulaniam, Herawati, E.Y., Wiadnya, D.G.R., 2017. Effect of immobilized bacteria on TAN suppression, survival rate, and biomass harvest of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, grown in biofloc culture system. Nature Environment and Pollution Technology, 16(4), 995-1002.

Intergovernamental Oceanographic Commission. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, UNESCO, 53p.

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. In: Browdy, CL and Jory, DE (Eds.),

The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 104-152.

Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R.O., Poersch L., Wasielesky, 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, 732-739. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2011.00507.x

Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L.H., Lara, G., Wasielesky, 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. DOI: 10.1111/jwas.12093

Lara, G., Furtado, P.S., Hostins, B., Poersch, L., Wasielesky Jr., W., 2016. Addition of sodium nitrite and biofilm in a *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system. Latin American Journal of Aquatic Research, 44(4), 760-768. DOI: 10.3856/vol44-issue4-fulltext-11

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 (1), 109-119. DOI: 10.1016/S0022-0981(01)00227-1

Lin, Y.C., Chen, J.C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture, 224, 193-201. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00220-5.

Luo, G.Z., Avnimelech, Y., Pan, Y.F., Tan, H.X., 2013. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. Aquacultural Engineering, 52, 73-79. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2012.09.003

Michaud, L., Blancheton, J.P., Bruni, V., Piedrahita R. 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. Aquacultural Engineering, 34(3), 224-233. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2005.07.005

Mischke, C.C., Zimba P.V., 2004. Plankton community responses in earthen channel catfish nursery ponds under various fertilization regimes. Aquaculture, 233, 219-235. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.09.044

Mischke, C.C., Zimba P.V., 2010. Initial influence of fertilizer nitrogen types on water quality. Aquaculture Research, 41(7), 968-972. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02379.x

Möller Jr., O.O., Castaing, P., Salomon J.C., Lazure P., 2001. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of Patos Lagoon. Estuaries, 24(2), 297-311. URI: http://repositorio.furg.br/handle/1/2867

Peixoto Jr., S., Wasielesky Jr., W., Louzada Jr., L., 2003. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme southern Brazil. Journal of Applied Aquaculture, 14, (1-2), 101-111. DOI: 10.1300/J028v14n01_07

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(1-2), 107-115. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00148-8

Samocha, T.M., Patnaik S., Speed M., Ali A.M., Burger J.M., Almeida RV., 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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2006.10.004

Schveitzer, R., Arantes R., Costódio, P.F.S., Santo C.M.D.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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2013.04.006

Silva, K.R.D., Wasielesky Jr., W, Abreu P.C., 2013. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society, 44, 30-41. DOI: 10.1111/jwas.12009

Sokal, R.R., F. Rohlf, J., 1969. Biometry principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman & Company: San Francisco, California, 776p.

Strickland, J.D.H., Parsons T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p.

Timmons, M.B., Ebeling, J.M., 2010. Recirculating Aquaculture. 2ª ed. Cayuga Aqua Ventures, 948p.

Van Wyk, P., Scarpa, J., 1999. Water quality and management. In: Peter Van Wyk, Megan Davis-Hodgkins, Rolland Laramore, Kevan L. Main, Joe Mountain, John Scarpa (Eds.). Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Harbor Branch Oceanographic Institution. Chap. 06, 128-138.

Vilani, F.G., Schveitzer, R., Arantes, R.D.F., Vieira, F.D.N., Santo, C.M.D.E., Seiffert, W.Q., 2016. Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. Aquacultural Engineering, 74, 70-75. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.06.002

Vinatea, L., Galvez, A.O., Browdy, C.L., Stokes, A.L., 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 DOI: 10.1016/j.aquaeng.2009.09.001

Wasielesky Jr., W., Atwood, H., Stokes, A.L., 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.030

Welschmeyer, N.A., 1994. Fluorimetric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. Limnology and Oceanography, 39(8), 1985-1992. DOI: 10.4319/lo.1994.39.8.1985.

Xu, W.J., Morris, T.C., Samocha, T.M., 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. Aquaculture, 453, 169-175. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021

Zar, J.H., 1996. Biostatistical analysis, 3rd edition. Prentice Hall International, INC, Upper Saddle River, New Jersey, 662p.

Zhu, S., Chen, S., 2001. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. Aquacultural Engineering. 25, 1-11. DOI: 10.1016/S0144-8609(01)00071-1

CAPÍTULO II

Remoção e controle de sólidos suspensos totais em escala produtiva do *Litopenaeus vannamei* no sistema de bioflocos em viveiros

Zemor, J.C.[a*], Wasielesky, W.[a], Fóes, G.K.,[a] Poersch, L.H. [a]

[a] Instituto de Oceanografia – Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Cx. Postal 474, 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

*juliozemor@hotmail.com

Artigo submetido à Revista Aquaculture International

Resumo

Elevadas concentrações de sólidos suspensos totais (SST), devido ao excesso de partículas na coluna d'água, podem prejudicar a produção de camarões e precisam ser controladas. A renovação de água e a clarificação são alternativas que podem ser utilizadas para a redução de SST. No intuito de comparar qual o melhor método de controle de SST, um estudo foi conduzido em escala comercial utilizando nove viveiros de 600 m^2 cada, em sistema intensivo com bioflocos, utilizando renovações de água e a clarificação. Foram estocados 87 camarões m^{-2} em cada unidade divididos em 3 tratamentos: *R* (renovação de água), *C1* (um clarificador) e *C2* (dois clarificadores em série). Cada tratamento contou com 3 repetições e o experimento teve duração de 105 dias. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nos parâmetros de qualidade de água e no desempenho zootécnico. Diferenças significativas ($p<0,05$) foram observadas no desempenho dos clarificadores e na eficiência do uso de água e geração de efluente. Todos os tratamentos mantiveram os níveis de SST controlados, porém a taxa de remoção de SST no tratamento *C2* foi de 71,2% e apresentou melhor capacidade de remoção comparado ao tratamento *C1*, que foi de 47,9%. Esta diferença resultou na redução de 160 horas no tempo total de operação em *C2*. A economia total de água ao final da produção em *C1* e *C2* foi de 50,7 e 51,3% respectivamente, em relação ao tratamento *R* e o percentual de efluente gerado foi 97% menor em *C1* e 96% em *C2*, comparado ao tratamento com renovação de água. O uso de clarificadores auxilia na manutenção de SST, facilitando o gerenciamento das concentrações. Além disso, ele reduz o uso de água em renovações, diminuindo as descargas de efluentes, aumentando a biossegurança, reforçando as características do sistema de bioflocos.

Palavras-chave: sólidos suspensos, bioflocos, *Litopenaeus vannamei*, viveiros, clarificação.

Abstract

High concentrations of total suspended solids (TSS) need to be controlled, as they can affect shrimp production due to the excess of particles in the water column. Water renewal and clarification are alternatives used to reduce TSS. In order to determine the best method of TSS control, we carried out a study using water renewals and clarification on a commercial scale with nine ponds (600 m^2 each) in an intensive biofloc system. A total of 87 shrimp m^{-2} were stocked in each unit divided into three treatments: *R* (water renewal), *C1* (one clarifier) and *C2* (two clarifiers in series). Each treatment had three replicates, and the experiment lasted 105 days. There were no significant differences ($p>0,05$) in the parameters of water quality and zootechnical performance. Significant differences ($p<0,05$) were observed in the performance of clarifiers and in the efficiency of water use and effluent generation. All treatments maintained controlled TSS levels, although *C2* showed a better removal capacity than *C1*, with removal rates of 71,2 and 47,9%, respectively. This difference resulted in a 160-hour reduction in the total operating time in *C2*. Compared to the *R* treatment, the percentages of water saved in *C1* and *C2* were 50,7 and 51,3% higher, respectively, and the percentages of effluent generated in *C1* and *C2* were 97 and 96% lower, respectively. The use of clarifiers helps to control TSS concentrations. In addition, they reduce both the amount of water used for renewals and the effluent discharges into the environment, thereby increasing biosafety in the biofloc system.

Keywords: suspended solids, bioflocs, *Litopenaeus vannamei*, ponds, clarification

Introdução

A produção de camarões em sistemas que utilizam a tecnologia de bioflocos (BFT), tem como característica a mínima ou nenhuma renovação de água, sustentado por uma comunidade microbiana que mineraliza e assimila os nutrientes da produção (Ray et al., 2010). Altos níveis de nitrogênio na forma de amônia são excretados devido ao elevado teor de proteína da alimentação e a alta densidade de estocagem. Os nitrogenados são assimilados por bactérias heterotróficas, microalgas ou transformados por bactérias nitrificantes em compostos menos tóxicos (Ebeling et al., 2006). Basicamente o sistema fornece uma combinação entre a remoção de nutrientes da produção com o incremento de biomassa microbiana (Krummenauer et al., 2011). Esse incremento das populações microbianas resulta em efeitos positivos na melhoria da qualidade da água e ainda fornece um complemento alimentar aos camarões (Wasielesky et al., 2006; De Schryver et al. 2008). Fontes externas de carbono orgânico também são utilizadas para estimular a produção de bactérias heterotróficas e acelerar a imobilização do nitrogênio inorgânico e alcançar a estabilidade do sistema (Avnimelech, 1999). Neste contexto, o correto gerenciamento das concentrações de sólidos suspensos totais (SST) é fundamental para manter o bom funcionamento do sistema e proporcionar um ambiente de cultivo mais equilibrado. Os SST associados aos bioflocos, agregam o fitoplâncton, zooplâncton, bactérias e detritos na forma de partículas em suspensão (Krummenauer et al., 2011). As concentrações de SST tendem a aumentar constantemente durante o ciclo de produção onde as renovações de água são baixas ou nulas (Krummenauer et al., 2014, Gaona et al., 2016a). Concentrações acima de 100 mg L^{-1}, já podem apresentar algum impacto positivo sobre os parâmetros de qualidade da água (Gaona et al., 2015) e desempenho zootécnico. Contudo, a faixa mais habitual de operação para o sistema de bioflocos tem sido entre 400 e 600 mg L^{-1} (

Samocha et al., 2007; Gaona et al., 2011; Avnimelech, 2012; Schveitzer et al., 2013). Quando as concentrações de sólidos ultrapassam esta faixa, elas podem causar efeitos adversos aos camarões. Em sistemas convencionais, os efeitos mais observados devido o excesso de sólidos são danos às brânquias, infecções por bactérias patogênicas, depleção nos níveis de oxigênio e até sabor desagradável no consumo do crustáceo (Van Wyk & Scarpa, 1999). Já em sistema BFT, algumas informações são contraditórias no que se refere aos efeitos negativos sobre a produção. Em um estudo para avaliar os efeitos físicos das altas concentrações de sólidos (até 4000 mg L^{-1}), foi observado que não houve perda no desempenho dos camarões nestas condições, mesmo em concentrações muito superiores à faixa de operação habitual (Gaona et al., 2016a). Entretanto, em outro trabalho foi observado uma relação direta entre altas concentrações de sólidos e um maior grau de oclusão de brânquias e menor sobrevivência (Schveitzer et al., 2013). Segundo Ray et al. (2010), o acúmulo de partículas em excesso na coluna de água, além de aumentar a demanda bioquímica de oxigênio, pode obstruir as brânquias dos camarões, interferindo no seu crescimento. Foi observado também que elevadas concentrações de sólidos podem apresentar interferências no processo de estabelecimento e atividade de bactérias nitrificantes (Gaona et al., 2015). Já quando as concentrações de SST são baixas, elas podem limitar a eficiência de remoção dos compostos nitrogenados da água pela reduzida concentração dos bioflocos no meio (Gaona et al., 2016a). Devido aos diversos fatores envolvidos, tanto diretamente quanto indiretamente na relação entre os SST e o desempenho dos camarões, é necessário que exista certo grau de controle das concentrações durante o processo produtivo. O aprimoramento das técnicas de gerenciamento de sólidos tem sido abordado em sistemas de troca zero ou limitada, utilizando clarificadores como forma prática de remoção de partículas (Ray et al., 2010; 2011; Gaona et al., 2011; 2016b), porém com

enfoque principalmente em sistemas superintensivos. Sendo assim, é necessário investigar melhor a dinâmica de remoção dos SST em clarificadores que operam em viveiros intensivos com bioflocos, e que podem apresentar uma composição de água diferente. Sistemas intensivos expostos a luz natural apresentam maior predomínio de organismos fotossintetizantes (*greenwater*) diferente de sistemas superintensivos ou com luminosidade controlada onde geralmente ocorre o predomínio bacteriano (*brownwater*) (Hargreaves, 2013). As características dos clarificadores também diferem tanto no modelo da câmara de sedimentação, quanto na velocidade do fluxo de água aplicado, além das relações entre volume do sistema de clarificação e volume do tanque de produção. Estas relações têm variado aproximadamente entre 1,0 e 5,0% (Hargreaves, 2013) e podem resultar em diferentes taxas de remoção de SST. Este estudo tem como objetivo avaliar a eficiência do uso de dois sistemas de clarificação comparado à prática de renovação de água, na manutenção de SST no sistema BFT, e seus efeitos na qualidade de água e desempenho zootécnico do *Litopenaeus vannamei* em viveiros intensivos.

Material e Métodos

Delineamento experimental

O estudo foi realizado na Estação Marinha de Aquacultura Prof. Marcos Alberto Marchiori (EMA), pertencente ao Instituto Oceanográfico (IO) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), localizado na Praia do Cassino, Rio Grande, RS, (32º12'16" S 52º10'38" W) no Sul do Brasil. Pós-larvas (PL 15) de *Litopenaeus vannamei* foram transferidas para uma estufa contendo tanques berçário com área de 35 m^2, onde permaneceram 30 dias em sistema de bioflocos. Ao final deste período, os camarões foram transferidos para as unidades experimentais de engorda. Os juvenis, com peso

médio de 0,83 ± 0,41g foram estocados na densidade de estocagem de 87 m^{-2}, em nove viveiros retangulares escavados de 600 m^2, revestidos com polietileno de alta densidade (PEAD) em sistema de *raceways*. Em cada unidade foram utilizados dois aeradores tipo *paddle wheel* (1.0 HP cada) correspondendo a 33.3 HP ha^{-1}. Foram propostos três tratamentos como estratégias para a remoção de SST, com três repetições. Um tratamento com renovação de água (*R*) e dois tratamentos utilizando clarificadores (*C1* e *C2*), sendo o modelo do clarificador baseado em Gaona et al. (2011). No tratamento *C1* foi utilizado um clarificador com volume útil de 2.792 L, e *C2* foi utilizado dois clarificadores, idênticos ao do tratamento *C1* conectados em série (totalizando 5.584 L), onde a água clarificada do primeiro foi direcionada por gravidade para o segundo clarificador e, posteriormente, retornando ao viveiro (Fig. 1). O volume útil dos clarificadores em *C1* e *C2* correspondeu a 0,46 e 0,93% respectivamente, em relação ao volume dos viveiros de engorda. Para cada sistema de clarificação foi utilizado uma bomba de 0.73 HP, e o fluxo de água para ambos os clarificadores, foi ajustado em 2.000 L h^{-1} por meio de um registro a cada operação realizada.

A água utilizada para o enchimento das unidades experimentais antes da estocagem foi tratada com 10 mg L^{-1} de cloro e neutralizada completamente após 24 h com o acionamento do sistema de aeração para volatilização do cloro. Antes da estocagem, cada unidade experimental recebeu 6.000 L (1,0%) de inóculo de bioflocos, procedente de tanques de cultivo que estavam em andamento da EMA/IO/FURG. Para a fertilização orgânica inicial foi utilizado melaço de cana de açúcar contendo 37,4% de carbono. As fertilizações ocorreram assumindo a relação C:N de 15:1, baseado em Ebeling et al. (2006) e Avnimelech (1999) para a conversão de amônia em proteína microbiana. Para conter as elevações da amônia durante a fase de engorda foram realizadas fertilizações orgânicas seguindo a relação C:N de 6:1, baseado nos mesmos

autores. Semanalmente foi adicionado probiótico (0,5 ppm de PRO-W INVE®) na água dos viveiros, de acordo com as normas indicadas pelo fabricante.

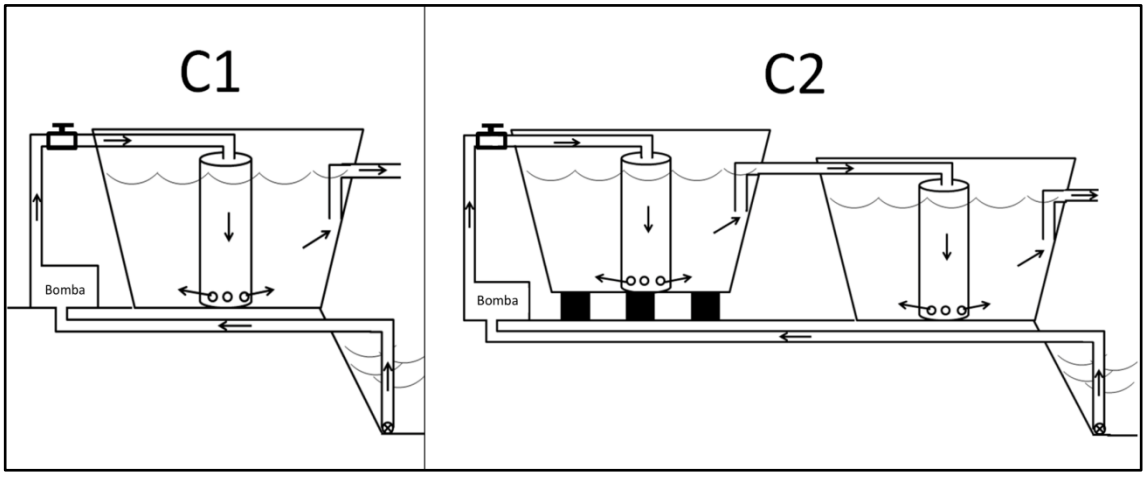


Figura 3: Sistema de clarificação em *C1* e *C2*, montado em caixas plásticas de água de 3.000 L, com fluxo de entrada da água controlado (2.000 L h^{-1}) em um tubo central para redução da turbulência, retornando ao viveiro por gravidade.

Qualidade da água

Diariamente foi monitorado a temperatura, oxigênio dissolvido (YSI® modelo Pro 20) e pH (YSI® modelo 60) às 8:00 e 16:00 h. Três vezes por semana foi observada a transparência da água, utilizando disco de Secchi e determinadas as concentrações de SST (mg L^{-1}) (Strickland & Parsons, 1972; AOAC, 2000). Semanalmente foi determinada a salinidade (YSI® modelo 556) (YSI® Incorporated, Yellow Springs, OH, USA); feita análise de amônia total (N-AT), através do método UNESCO (1983); Nitrito ($N\text{-}NO_2^-$), de acordo com Bendschneider & Robinson (1952); nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e ortofosfato ($P\text{-}PO_4$) por Aminot & Chaussepied (1983); e alcalinidade (APHA 1998). A análise de clorofila *a*, foi realizada semanalmente filtrando 20 ml de água e o material armazenado em 10 ml de acetona 90% (Merck® PA) em frascos escuros para a extração do pigmento fotossintético a -12 °C. Após 24 h foram analisadas em fluorímetro Turner TD7200 (Turner Design, Inc., CA, EUA) (Welschmeyer, 1994).

Manejo das concentrações de SST

A concentração máxima de SST proposta durante a fase de engorda dos camarões foi de 500 mg L^{-1} baseado em Gaona et al. (2011) e Schveitzer et al. (2013). Quando ultrapassado a concentração máxima estabelecida para os tratamentos: em *R*, renovações de água foram efetuadas drenando parte do efluente do viveiro; e em *C1* e *C2* os clarificadores foram acionados operando durante 48 h contínuas, e quando necessário, o tempo de operação foi estendido. Para os clarificadores foi calculado:

(1) tempo acumulativo em horas de operação = (número de processos $*$ tempo de operação (h)),
(2) percentual de remoção de SST = (% SST entrada – % SST saída do clarificador);
(3) matéria seca removida = (tempo de operação (h) $*$ fluxo do clarificador $*$ taxa média de remoção de SST).

No tratamento *R* era removido aproximadamente 20% do volume do viveiro para redução de 100 mg L^{-1} de SST, sempre que era atingido o nível máximo de SST estabelecido, sendo em seguida feita a reposição de água com fluxo controlado até a retomada do nível inicial ao procedimento. Para estimar a quantidade em quilogramas de sólidos (matéria seca removida) nas renovações em *R* foi calculado:

(4) (concentração de SST mg L^{-1} $*$ total de água removida (L))

Eficiência do uso de água

Para a análise da eficiência do uso de água em cada tratamento foi calculado o total de água utilizada no cultivo durante todo o período experimental (enchimento +

renovações em *R*), total de efluente produzido ao longo do estudo (drenagem em *R* e drenagem dos clarificadores em *C1* e *C2*), total de água utilizada por kg de camarões produzido (água / kg camarão) e efluente gerado durante a produção por kg de camarões produzido (efluente / kg camarão). Os resultados obtidos são expressos em m^3.

Desempenho zootécnico

Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia (8:30 e 16:30 h), com ração comercial (Guabi® Potimar Active), contendo 38% de proteína bruta, de acordo com as tabelas do artigo de revisão de Jory *et al*. (2001). A ração foi fornecida com auxílio de bandejas de alimentação para controlar o consumo aparente. Semanalmente, 100 camarões foram amostrados aleatoriamente de cada unidade experimental e pesados individualmente utilizando balança digital com precisão de 0,01 g (MARTE - AS 2000, Santa Rita do Sapucaí, Minas Gerais, Brasil). Através das biometrias, foi calculado o peso médio dos camarões, ajustando-se semanalmente a quantidade de ração fornecida. Ao término do experimento, foi realizada uma biometria final com 200 camarões de cada unidade. O ganho de peso dos camarões (G) de cada unidade experimental, a taxa de crescimento semanal (GS), a conversão alimentar aparente (CAA) e a sobrevivência (S) foram obtidas através das seguintes fórmulas:

(1) Ganho de peso (g) = peso médio final (g) – peso médio inicial (g).

(2) GS (g/semana) = (Pf (g) – Pi (g)) * 100 / NS;

onde Pf representa o peso final, Pi o peso inicial e NS o número de semanas do experimento.

(3) CAA = ração fornecida (g) / incremento de biomassa (g).

(4) S (%) = (peso total (g) / peso individual (g)) * 100.

Análise Estatística

Para os parâmetros de qualidade de água, eficiência do uso de água, kg de sólidos removidos e desempenho zootécnico foram verificadas a homocedasticidade (teste de Levene) e normalidade (Kolmogorov-Smirnov) dos dados e submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido por teste de Tukey, quando observado diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos. Os resultados de sobrevivências foram transformados (arco-seno da raiz quadrada) antes de serem analisados (Zar, 1996). Para as análises do tempo acumulativo em horas de operação dos clarificadores e taxa percentual de remoção de SST para *C1* e *C2,* os dados foram submetidos ao teste-*t* de comparação entre médias (Sokal & Rohlf, 1969), utilizando as mesmas premissas da ANOVA.

Resultados

Temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade da água, apresentaram similaridade entre os tratamentos e não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$), assim como para os demais parâmetros relacionados na tabela 1. As concentrações de amônia total apresentaram valores mais elevados na sexta semana de experimento em todos os tratamentos, após alguns dias de redução na temperatura da água no período. A partir da nona semana até o término do estudo estas concentrações não ultrapassaram de 0,03 mg L^{-1} (Fig. 2). Concentrações de nitrito e nitrato não foram detectadas nas análises ao longo de todo o experimento. As médias de clorofila *a* foram superiores a 750 µg L^{-1}, indicando intensa atividade fotossintética ao longo do experimento (Fig. 3) e a alcalinidade manteve médias acima de 190 mg $CaCO_3$ L^{-1} em todos os tratamentos.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade de água monitorados em *R, C1* e *C2*, durante a fase de engorda do *L. vannamei* em viveiros no sistema BFT.

	Tratamentos		
	R	*C1*	*C2*
Temperatura °C	25,8 ± 2,3	25,8 ± 2,2	25,8 ± 2,3
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	7,35 ± 0,89	7,48 ± 1,00	7,39 ± 0,81
pH	8,63 ± 0,30	8,62 ± 0,32	8,48 ± 0,30
Salinidade	12,8 ± 1,2	12,1 ± 0,6	12,6 ± 1,2
Amônia Total (mg L^{-1})	0,19 ± 0,11	0,12 ± 0,06	0,08 ± 0,12
Nitrito (mg L^{-1})	nd*	nd*	nd*
Nitrato (mg L^{-1})	nd*	nd*	nd*
Ortofosfato (mg L^{-1})	0,34 ± 0,27	0,25 ± 0,14	0,26 ± 0,18
SST (mg L^{-1})	366 ± 88	397 ± 56	370 ± 53
Transparência	21,5 ± 4,4	20,5 ± 2,8	19,8 ± 4,7
Clorofila *a* (µg L^{-1})	757,8 ± 169,5	771,0 ± 91,7	766,3 ± 225,1
Alcalinidade (mg $CaCO_3$ L^{-1})	195 ± 29	193 ± 21	199 ± 22

nd* (não detectado)

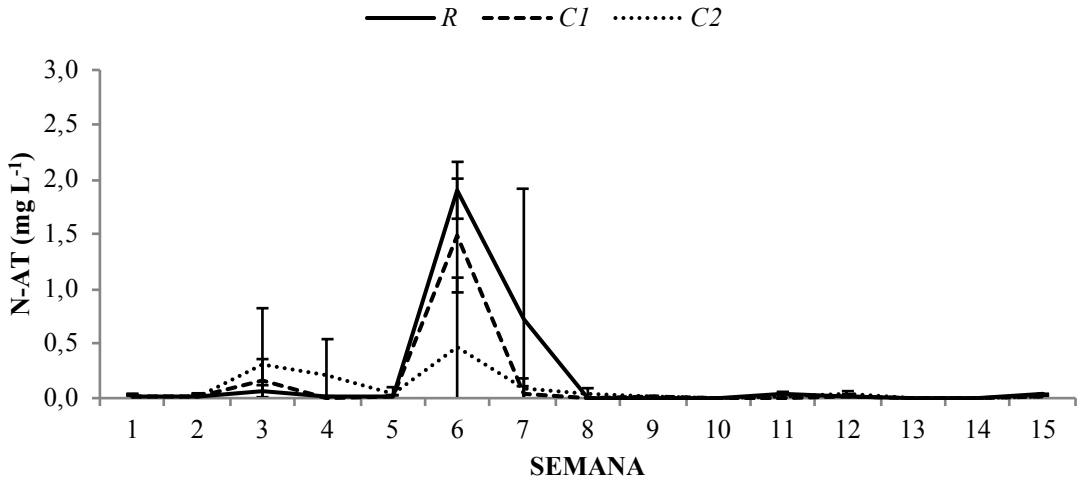


Figura 2: Variações nas concentrações de amônia total durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

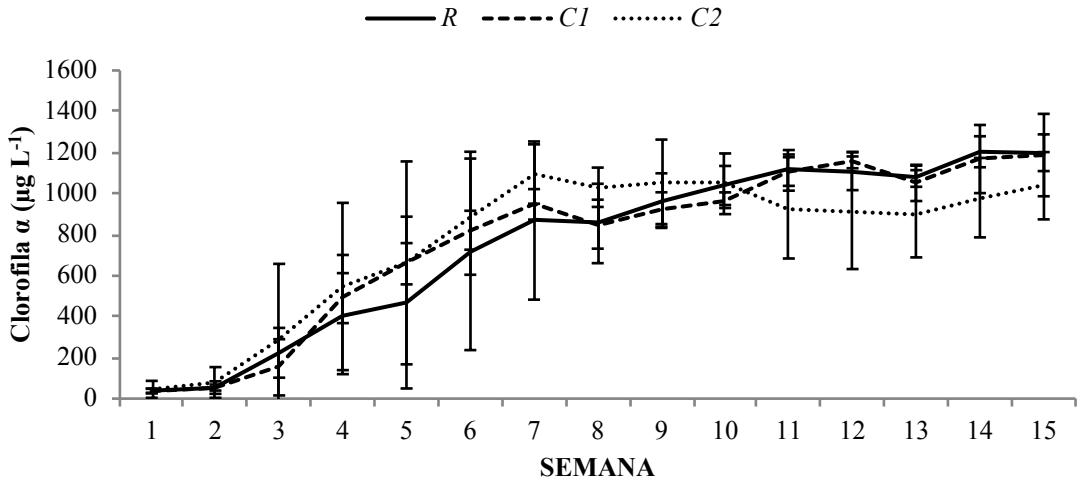


Figura 3: Concentrações de clorofila *a* registradas durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

As concentrações de SST foram crescentes ao longo do tempo e atingiram a concentração máxima estabelecida para os tratamentos durante a oitava e a nona semana de experimento, quando foram iniciados os processos de remoção de sólidos por renovação de água em *R* e clarificação em *C1* e *C2*. Os tratamentos *C1* e *C2* foram capazes de remover os SST utilizando clarificadores com volumes menores que 1,0% em relação ao volume da área de produção em sistema intensivo. A partir da décima semana é possível observar o início da redução dos valores de SST, e posteriormente o restabelecimento das concentrações em todos os tratamentos (Fig. 4). Nas semanas seguintes as concentrações foram mantidas próximas à 500 mg L^{-1} até o término do experimento, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$). Diferenças significativas ($p<0,05$) foram observadas entre os tratamentos *C1* e *C2* para, tempo acumulativo (h) e taxa de remoção de SST (%), e também entre *C2* e os tratamentos *R* e *C1* no total de sólidos removido (matéria seca (kg)) (Tab. 2). A taxa de remoção de SST em *C2* foi de 72%, o que representou uma melhor capacidade de remoção na comparação com *C1*, que foi de 47,9%, ou seja, *C2* foi 48,6% mais eficaz.

Com este resultado, o processo de clarificação em *C2* apresentou uma redução de 160 horas no tempo total de operação em relação a *C1*. A quantidade de sólidos removidos dos clarificadores foi significativamente ($p<0,05$) maior em *C2* comparado a *R* e *C1*.

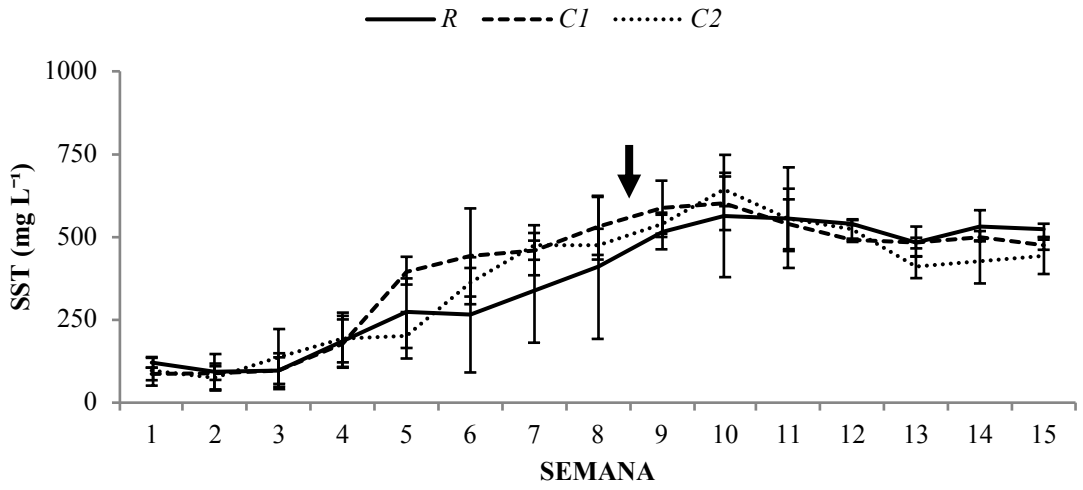


Figura 4: Variação das concentrações de SST durante a engorda do *L. vannamei* em viveiros revestidos no sistema BFT. A seta acima do gráfico indica o início dos processos de renovação de água e clarificação em *R, C1* e *C2*.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos resultados de desempenho dos clarificadores e de renovação de água entre os tratamentos *R, C1* e *C2* no gerenciamento dos SST na produção do *L. vannamei* em viveiros revestidos no sistema BFT.

	Tratamentos		
	R	*C1*	*C2*
Tempo acumulativo (h)	-	832 ± 60^{a}	672 ± 48^{b}
Fluxo de água (L h^{-1})	-	2.000	2.000
Taxa de remoção (%)	-	$47,9 \pm 4,7^{a}$	$71,2 \pm 7,2^{b}$
Sólidos removidos (kg) *	$364,4 \pm 33,6^{a}$	$399,3 \pm 29,0^{a}$	$483,8 \pm 34,6^{b}$

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$).
*Peso seco total estimado em (kg) de SST removidos na clarificação e renovação.

Diferenças significativas ($p<0,05$) foram observadas entre o tratamento *R* e os tratamentos *C1* e *C2* nos parâmetros relacionados na tabela 3. A economia total de água ao final da produção em *C1* e *C2* foi de 50,7 e 51,3% respectivamente, em relação ao

tratamento *R*. O percentual de efluente gerado resultante dos processos de clarificação foi 97% menor em *C1* e 96% em *C2*, comparado a *R*.

Tabela 3: Média e desvio padrão do total de água utilizada nos viveiros, total de efluente gerado e total de água e efluente por kg de camarão produzido. Os valores na tabela estão expressos em m^3.

	Tratamentos		
	R	*C1*	*C2*
Total de água utilizada	1.220,50 ± 19,29[a]	618,61 ± 4,26[b]	626,06 ± 8,53[b]
Total de água kg^{-1} de camarão	2,22 ± 0,20[a]	1,18 ± 0,06[b]	1,20 ± 0,08[b]
Total de efluente gerado[*]	620,50 ± 19,29[a]	18,61 ± 4,26[b]	26,06 ± 8,53[b]
Total de efluente kg^{-1} de camarão	1,13 ± 0,12[a]	0,04 ± 0,01[b]	0,05 ± 0,02[b]

[*]Total de efluente gerado durante a fase de produção.

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nos índices de desempenho zootécnico dos animais. Os camarões ao final de 105 dias atingiram peso considerado comercial para a espécie, com crescimento médio semanal entre 0,72 e 0,79 g e sobrevivências acima de 80% em todos os tratamentos (Tab. 4).

Tabela 4: Média e desvio padrão da performance do camarão *L. vannamei* entre *R, C1* e *C2* em viveiros revestidos no sistema BFT.

	Tratamentos		
	R	*C1*	*C2*
Peso inicial (g)	0,83 ± 0,41	0,83 ± 0,41	0,83 ± 0,41
Peso final (g)	12,74 ± 2,75	12,14 ± 2,35	11,89 ± 2,34
Ganho de peso semanal (g s^{-1})	0,79 ± 0,05	0,75 ± 0,07	0,72 ± 0,06
CAA[*]	1,32 ± 0,09	1,32 ± 0,06	1,32 ± 0,07
Produtividade (kg ha^{-1})	9.212 ± 715	8.721 ± 482	8.694 ± 473
Sobrevivência (%)	83,1 ± 2,3	82,6 ± 5,5	84,0 ± 8,1

[*](CAA) Conversão alimentar aparente.

Discussão

A temperatura média registrada nos três tratamentos foi de 25,8 °C, valor considerado aceitável para o cultivo do *L. vannamei*, porém, um pouco abaixo da faixa ideal para proporcionar o máximo potencial de crescimento da espécie (Van Wyk & Scarpa, 1999). As médias de oxigênio dissolvido e pH entre os tratamentos, mantiveram-se dentro da faixa ideal, entre 5,0 e 9,0 mg L^{-1} e 7,0 e 9,0 respectivamente (Van Wyk & Scarpa, 1999). Os valores de amônia total no presente estudo mantiveram-se dentro dos níveis de segurança segundo Lin & Chen (2001) para *L. vannamei*. Apesar da diminuição da temperatura da água poder provocar instabilidades na comunidade microbiana e a sobra ração não consumida elevar os níveis de compostos nitrogenados, todos os tratamentos responderam as fertilizações orgânicas realizadas para reduzir as concentrações de amônia, conforme sugerido por Avnimelech (1999). Cabe ressaltar que as sobras de ração, juntamente com os microrganismos e partículas floculadas (bioflocos) são fontes de nitrogênio (Silva et al., 2013) no ambiente de cultivo.

A partir da oitava semana não foram observadas concentrações significativas de amônia e não detectamos em nenhum momento a ocorrência do processo de nitrificação nos três tratamentos, o que não é comum em sistemas de bioflocos. A ausência destes compostos, coincidem com a intensificação da atividade fotossintética. A amônia quando encontrada em pequenas concentrações, o fitoplâncton pode ser mais eficaz na competição deste composto do que as bactérias nitrificantes (Hargreaves, 1997). Isso sugere que os compostos nitrogenados possam ter seguido a via algal como principal rota de remoção. Os elevados valores de clorofila *a* observados reforçam esta hipótese, considerando que as concentrações máximas ultrapassaram as 1.000 µg L^{-1} em todos os tratamentos, e as médias foram superiores a valores observados em outros estudos em sistema de bioflocos. Burford et al. (2003), durante 118 dias em viveiros revestidos e

sistema intensivo com bioflocos, observaram valores entre 134 e 435 µg L^{-1}. Gaona et al. (2011) trabalhando em *raceways* superintensivos com bioflocos, comparando sistemas com e sem remoção de sólidos através de clarificadores, também observaram médias de clorofila *a* inferiores ao presente estudo, de 378 e 282 µg L^{-1}, respectivamente. Fertilizações com carbono orgânico otimizam o crescimento de bactérias heterotróficas (Krummenauer et al., 2011) entretanto, no presente estudo, elas ocorreram apenas na primeira metade do experimento, quando a amônia se elevou. Após a redução da amônia, a entrada de carbono foi limitada somente através da ração, já que no restante do experimento os níveis permaneceram controlados. A alcalinidade foi elevada entre os tratamentos, com média superior a 190 mg $CaCO_3$ L^{-1}. Sistemas com pouca ou nenhuma renovação de água devem manter a alcalinidade elevada, entre 100 e 150 mg $CaCO_3$ L^{-1} (Ebeling et al., 2006), o que segundo Furtado et al. (2014), favorece a formação dos bioflocos e o estabelecimento das bactérias nitrificantes. Cabe ressaltar que apesar de considerarmos o controle exercido por processos fotoautotróficos como principal rota de remoção dos compostos nitrogenados neste estudo, deve-se também considerar as outras vias de remoção acontecendo em menor grau, tanto por bactérias heterotróficas (Avnimelech, 1999) quanto por bactérias nitrificantes (Ebeling et al., 2006). Não foram observadas mudanças na dinâmica algal ao longo do estudo como, alterações no incremento de SST, redução na transparência ou diminuição da atividade fotossintética. Estas alterações são mais comuns em sistemas convencionais de produção, causados por florações e mortalidades massivas de fitoplâncton (Burford et al., 2003), caracterizando que tínhamos um sistema de bioflocos do tipo *greenwater*, comum na maioria dos sistemas BFT comerciais devido a exposição dos viveiros a intensa luminosidade natural (Hargreaves, 2013).

O manejo de sólidos está associado a melhor qualidade de água e desempenho zootécnico no sistema BFT, sendo indicadas ações preventivas para manter a concentração de SST por meio de clarificação (Ray et al., 2010; Gaona et al., 2011; 2015). As metodologias empregadas na manutenção das concentrações de SST mostraram-se eficientes ao longo do estudo e foram capazes de manter as concentrações dentro do estipulado em *R*, *C1* e *C2*, assim como observado em Gaona et al. (2011) utilizando clarificadores e Arantes et al. (2016) comparando renovações de água com clarificação. No presente estudo foi possível verificar também que a clarificação mesmo em sistemas dominados por microalgas, considerados como fotoautotróficos, é capaz de remover os SST com sucesso. Fatores ambientais, muitas vezes, podem influenciar na dinâmica da composição celular de algumas microalgas, resultando em acúmulo de lipídio de reserva em frações que podem chegar até 85% do seu peso seco (Richmond, 2004) dificultando a sedimentação.

A diferença significativa observada no tempo acumulativo de clarificação foi atribuída a melhor taxa de remoção de SST obtida em *C2*, comparado a *C1*, que permitiu maior autonomia no controle de operação, com menor tempo de clarificação. Os tratamentos *C1* e *C2*, mantiveram as concentrações de SST controladas, operando com uma relação de volume do clarificador em relação ao volume da área de produção, menor que a aplicada em outros estudos (Ray et al., 2010; 2011; Gaona et al., 2011; 2016b; Schveitzer et al., 2013; Arantes et al., 2016). Contudo devemos considerar que operamos os clarificadores em sistema intensivo onde a geração de SST tende a ser menor do que em sistemas mais intensificados de produção. Ray et al. (2010) utilizando clarificação no cultivo do *L. vannamei*, obtiveram uma redução de 45% de SST, similar ao resultado observado em *C1*, porém inferior ao obtido em *C2*. Estes autores utilizaram clarificador cilíndrico cônico com relação volume do clarificador / volume área de

produção, maior que três vezes (3,2%) e fluxo de água quase seis vezes menor que no presente estudo, na comparação com *C2*. No presente estudo, foi mantido o mesmo fluxo de água em *C1* e *C2*, e aumentamos o volume total em *C2*, conectando um segundo clarificador. A configuração utilizada em *C2* melhorou a taxa de remoção visto que, além do maior volume total em relação a *C1*, o processo de clarificação era repetido ao passar pelo segundo clarificador instalado em série neste tratamento. Diferente do presente estudo, Ray et al. (2011) observaram relação inversa com o aumento do volume do clarificador e do fluxo, onde a taxa de remoção de sólidos reduziu com clarificador e fluxo maiores.

As causas da diferença significativa observada na quantidade total de sólidos removidos dos tratamentos *R* e *C1*, em relação a *C2* não ficaram muito claras. Devido o nível de concentração máxima de SST ser o mesmo entre os tratamentos no presente estudo, com densidades de estocagem e manejo alimentar iguais, era esperado que a quantidade total de sólidos removidos pelos clarificadores em *C1* e *C2,* e pela renovação de água em *R*, também fossem similares, o que acabou não ocorrendo. A melhor taxa de remoção de sólidos observada em *C2* pode ter influenciado na maior quantidade de sólidos removido neste tratamento, visto que, durante os processos de remoção de SST, os clarificadores de *C2*, podem ter operado mais que o tempo necessário. Ajustes foram realizados para otimizar o tempo de operação ao longo do experimento de acordo com a capacidade de remoção de SST observada em *C2*, evitando assim que o clarificador removesse uma quantidade de sólidos maior que a necessária. Outra hipótese, e que pode também estar associada a primeira, é que, a melhor taxa de remoção de sólidos ocorrida em *C2* possa ter proporcionado maior penetração de luz na coluna d'água, favorecendo o aumento da produtividade de

organismos fotoautotróficos (Gaona et al., 2016b) e, consequentemente, resultando em maior quantidade de biomassa de fitoplâncton incorporada aos SST removido ao final.

Contudo, espera-se que em ensaios futuros, a partir desta primeira experiência com clarificação em viveiros, as técnicas de manejo possam ser aprimoradas melhorando a eficiência de operação. A aquicultura tem procurado aumentar a produtividade aliada à redução do uso de água e emissão de efluente. Uma fazenda convencional de produção semi-intensiva pode consumir entre 40 e 80 m^3 de água para produzir um kg de camarão (Boyd & Clay, 2002). Neste estudo em sistema intensivo com bioflocos em viveiros, foi possível produzir o mesmo kg consumindo 2,22 m^3 em *R,* usando renovações de água, e 1,18 e 1,20 m^3 em *C1* e *C2* respectivamente, com a clarificação, gerando menos efluente e aumentando a biossegurança. A redução nas renovações de água pode minimizar os riscos de entrada de organismos patogênicos por essa via (Lightner, 2005), melhorando os protocolos de biossegurança, principalmente em viveiros de produção que necessitam de maiores volumes de água. O uso da clarificação pode ser aplicado também como alternativa para sistemas emergentes de produção de camarões afastados da linha de costa, que utilizam a salinização artificial da água, evitando assim, o descarte de efluentes salgados ou salobros nestes ambientes, e principalmente, sem perdas significativas de água que é extremamente onerosa ao produtor.

Os índices zootécnicos obtidos podem ser diferentes, de acordo com o manejo, densidade de estocagem, peso inicial e as condições físicas e químicas que cada estudo é submetido (Gaona et al., 2016b). O crescimento semanal apesar da temperatura média não ter atingido a faixa ideal em nosso estudo, foi similar a outros estudos que utilizaram métodos de clarificação (Ray et al., 2010; Gaona et al., 2016b) e dentro do intervalo dos resultados obtidos no estudo de Ray et al. (2012), apesar destes autores

usarem densidades de estocagem muito superior a nossa. A CAA não foi afetada pela temperatura devido à restrição na oferta de ração imposta aos camarões durante a engorda, aliado a disponibilidade constante dos bioflocos. Este manejo permitiu uma CAA similar a outros estudos que utilizaram clarificadores tanto em sistema intensivo (Arantes et al., 2016) quanto em sistema superintensivo (Gaona et al., 2016b). As sobrevivências obtidas no presente estudo apresentaram valores dentro da faixa observada em diferentes trabalhos em sistema BFT (Ray et al., 2010; 2011; 2012; Gaona et al., 2016b). A dinâmica do sistema BFT, está extremamente relacionada ao tipo de comunidade predominante (bactérias autotróficas, heterotróficas ou microalgas) e estas, refletem diferentemente nos indicadores de qualidade de água (Schveitzer et al., 2013) e desempenho dos camarões (Xu et al., 2016). O uso do clarificador não determina qual comunidade irá prevalecer, mas é uma ferramenta capaz de realizar a manutenção e controle do equilíbrio das concentrações de SST, seja qual for a predominância microbiana e as necessidades do produtor.

Conclusão

A utilização de clarificadores auxilia na manutenção de SST, facilitando o gerenciamento das concentrações. Além disso, ele reduz o uso de água em renovações, diminuindo as descargas de efluentes, aumentando a biossegurança, reforçando as características do sistema BFT. O uso de clarificadores em viveiros com volumes menores que um 1,0% em relação ao volume da área de produção podem atender as necessidades da produção na manutenção dos SST em sistemas intensivos, entretanto, a utilização de percentuais mais elevados, garantem maior autonomia de operação.

Referências Bibliográficas

Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, CNEXO, 395p.

AOAC (Association of Official Analitycal Chemists), 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16th edition. Patricia Cunniff (editora), Washington, DC.

APHA (American Public Health Association). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. APHA, Washington,DC: 1193p.

Arantes, R., Schveitzer, R., Magnotti, C., Lapa, K.R., Vinatea, L., 2016. A comparison between water exchange and settling tank as a method for suspended solids management in intensive biofloc technology systems: effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) performance, water quality and water use. Aquaculture Research, 48, 1478-1490. DOI: 10.1111/are.12984

Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176, 227-235. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X

Avnimelech, Y., 2012. Biofloc technology - A practical guide book. 2ª edition. The World Aquaculture Society, Louisiana, United States. 272 pp.

Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Journal of Marine Research, 11, 87-96.

Boyd, C.E., Clay J.W., 2002. Evaluation of Belize aquaculture, Ltd: A superintensive shrimp aquaculture system. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium. Program on shrimp farming and the environment. Washington, FAO. 17p.

Burford, M.A., Thompson, P.J., Mcintosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219, 393-411. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00575-6

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture, 277, 125-137. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.019

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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.03.019

Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr.,W., 2014. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). Aquaculture International, 23, 345-358. DOI: 10.1007/s10499-014-9819-x

Gaona, C.A.P., Almeida, M.S.D., Viau, V., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2015. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. Aquaculture Research, 1-10. DOI:10.1111/are.12949

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. DOI: 10.21061/ijra.v12i1.1354

Gaona, C.A.P., Serra, F.D.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2016a. Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. Aquacultural Engineering, 72, 65-69. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.03.004

Gaona, C.A.P., Serra, F.D.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr., W., 2016b. Biofloc management with different flow rates for solids removal in the *Litopenaeus vannamei* BFT culture system. Aquaculture International, 24, 1263-1275. DOI: 10.1007/s10499-016-9983-2

Hargreaves, J.A., 1997. A simulation model of ammonia dynamics in commercial catfish ponds in the southeastern United States. Aquacultural Engineering, 16, 27-43. DOI: 10.1016/S0144-8609(96)01013-8

Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.

Intergovernamental Oceanographic Commission. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, UNESCO, 53p.

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. In: Browdy, CL and Jory, DE (Eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 104-152.

Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R.O., Poersch L., Wasielesky, 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, 732-739. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2011.00507.x

Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L.H., Lara, G., Wasielesky, 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. DOI: 10.1111/jwas.12093

Lightner, D.V. 2005. Biosecurity in shrimp farming: pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. Journal of the World Aquaculture Society, 36, 229-248. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2005.tb00328.x

Lin, Y.C., Chen, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus* v*annamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 259 (1), 109-119. DOI: 10.1016/S0022-0981(01)00227-1

Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L., Leffler, J.W., 2010. 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.11.021

Ray, A.J., Seaborn G., Vinatea, L., Browdy, C.L., Leffler, J.W., 2012. Effects of biofloc reduction on microbial dynamics in minimal-exchange, superintensive shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture systems. Journal of the World Aquaculture Society, 43, 790-801. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2012.00607.x

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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2011.09.001

Richmond, A., 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science, 566p. DOI: 10.1002/9780470995280

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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2006.10.004

Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., Santo, C.M.D.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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2013.04.006

Silva, K.R.D., Wasielesky Jr., W., Abreu, P.C., 2013. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society, 44, 30-41. DOI: 10.1111/jwas.12009

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. 1969. Biometry Principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman & Company: San Francisco, California, 776p.

Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p.

Van Wyk, Scarpa, P.J., 1999. Water Quality and Management. In: Peter Van Wyk, Megan Davis-Hodgkins, Rolland Laramore, Kevan L. Main, Joe Mountain, John Scarpa (Eds.). Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Harbor Branch Oceanographic Institution. Chap. 06, 128-138.

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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.030

Welschmeyer, N.A., 1994. Fluorimetric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. Limnology and Oceanography, 39(8), 1985-1992. DOI: 10.4319/lo.1994.39.8.1985.

Xu, W.J., Morris, T.C., Samocha, T.M., 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. Aquaculture, 453, 169-175. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021

Zar, J.H. 1996. Biostatistical analysis, 3rd edition. Prentice Hall International, INC, Upper Saddle River, New Jersey, 662p.

CAPÍTULO III

Estratégia de manejo para minimizar problemas com florações de cianobactéria *Nodularia spumigena* em viveiros de camarões no sistema BFT

Zemor, J.C.[a*], Costa, L.D.F.[b], Magalhães, V.B.L.[b], Yunes, J.S.[b], Fóes, G.K.[a], Wasielesky, W.[a], Poersch, L.H. [a]

[a] Instituto de Oceanografia – Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Cx. Postal 474, 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

*juliozemor@hotmail.com

Artigo submetido à Revista Aquaculture International

Resumo

Florações de cianobactérias potencialmente tóxicas causam elevadas perdas de produtividade na aquicultura em diferentes partes do mundo. Em 2010, viveiros de produção do camarão *Litopenaeus vannamei* na Estação Marinha da Aquacultura da FURG, registraram pela primeira vez perdas por florações de *Nodularia spumigena* que passaram a ser recorrentes nos anos seguintes. Esta espécie, potencialmente produtora da toxina nodularina (NOD) é capaz de afetar significativamente a alimentação, taxa de crescimento e provocar elevadas mortalidades dos animais cultivados. Com o objetivo de mitigar o problema, um estudo foi conduzido em escala comercial utilizando seis viveiros de 600 m^2 cada, em sistema intensivo com bioflocos, divididos em: Viveiros não afetados, *SN* (sem nodulária), e afetados *CN* (com nodulária). Foram estocados 70 camarões m^{-2} em cada unidade e durante a manifestação das florações, fertilizações orgânicas a base de melaço e ração triturada foram aplicadas para estimular o desenvolvimento da comunidade microbiana benéfica. Cada tratamento contou com 3 repetições e o experimento teve duração de 15 semanas. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$) nos parâmetros de qualidade de água. Entretanto, diferença significativa ($p<0,05$) foi observada na composição da comunidade microbiana ao longo do tempo em ambos os tratamentos passando a predominar as clorofíceas. A presença da toxina NOD em *N. spumigena* (66,37 ± 20,87 $\mu g\ L^{-1}$) afetou o consumo alimentar dos camarões em *CN* durante a segunda semana, porém, não foi novamente detectada após as fertilizações e os animais apresentaram recuperação. Diferenças significativas ($p<0,05$) também foram observadas entre os tratamentos, nos indicadores de desempenho zootécnico para conversão alimentar, produtividade e sobrevivência. A fertilização orgânica demonstrou ser uma alternativa viável para conter florações de *N. spumigena*, atuando no favorecimento de microalgas

como as clorofíceas. Esta técnica contribuiu significativamente para reduzir as perdas, melhorando a sobrevivência e produtividade de *L. vannamei* em viveiros afetados.

Palavras chave: Nodulária, cianobactéria, toxinas, bioflocos, florações, *Litopenaeus vannamei*.

Abstract

Blooms of potentially toxic cyanobacteria cause high losses in aquaculture worldwide. At the Marine Aquaculture Station of FURG, losses in *Litopenaeus vannamei* ponds due to *Nodularia spumigena* blooms happened for the first time in 2010, becoming recurrent in the following years. This species produces nodularin (NOD), a toxin capable of significantly affecting feeding and growth rates and causing high mortality in farmed animals. A study was conducted on a commercial scale using six 600 m^2 ponds with 70 shrimp m^{-2} each, in a biofloc intensive system divided into unaffected (*SN* - without nodularia) and affected ponds (*CN* - with nodularia). During algal blooms, organic fertilizations with molasses and ground ration were applied to stimulate the development of beneficial microbial communities. Each treatment had 3 replicates and the experiment lasted 15 weeks. The water quality parameters were similar among treatments ($p>0,05$). The microbial community composition was significantly different over time in both treatments ($p<0,05$), with the predominance of chlorophytes. The presence of NOD toxin in *N. spumigena* (66,37± 20,87 mg L^{-1}) affected the dietary intake of the shrimp in *CN* during the second week. The toxin was not detected again after fertilizations and the recovery of the animals. Feed conversion, productivity and survival rates were significantly different ($p<0,05$) between treatments. The organic fertilization is a viable alternative to suppress *N. spumigena* blooms and stimulate microalgae such as chlorophytes. This technique reduced losses and improved the survival and productivity of *L. vannamei* in affected ponds.

Keywords: Nodularia, cyanobacteria, toxins, bioflocs, blooms, *Litopenaeus vannamei*.

Introdução

O crescimento da demanda mundial de produtos da aquicultura impulsionou os sistemas de produção antes extensivos para sistemas mais intensificados. Como consequência desta mudança, houve o aumento da eutrofização dos cultivos, favorecendo o surgimento de florações de cianobactérias (Smith et al., 2008). Condições físicas e químicas, somadas ao aporte de nutrientes da fertilização e alimentação, podem desencadear a ocorrência de organismos indesejados no cultivo (Alonso-Rodríguez & Paéz-Osuna, 2003). Cianobactérias estão distribuídas em praticamente todos os tipos de ambientes, tanto aquáticos quanto terrestres (Rodgers, 2008). Na aquicultura, os maiores riscos associados a presença destes organismos está relacionado a espécies que são potencialmente produtoras de toxinas. Florações de cianobactérias tóxicas já causaram muitos transtornos e perdas na produção de diferentes espécies de crustáceos (Lirås et al., 1998; Saker & Eagleshamb, 1999; Alonso-Rodríguez & Paéz-Osuna, 2003; Kankaanpää et al., 2005; Prommana et al., 2006; Zimba et al., 2006) e também de peixes (Reyssac & Pletikosic, 1990; Ploeg & Boyd, 1991; Zimba et al., 2001; Jewel et al 2003; Mohamed et al., 2003). A maioria destes casos está diretamente relacionado a cianobactérias produtoras de hepatotoxinas do tipo microcistina (MC) e nodularina (NOD). Estas toxinas são metabólitos secundários bioquimicamente ativos, capazes de afetar desde a nutrição e as taxas de crescimento, chegando a provocar elevadas mortalidades, aumentando a manutenção e os custos de produção dos empreendimentos (Smith et al., 2008).

No sul do Brasil, o primeiro registro de cianobactéria tóxica em cultivos foi provocado pela espécie *Nodularia spumigena* que ocorreu no ano de 2010 em viveiros experimentais de produção intensiva do *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos (Costa et al., 2013). As florações ocorreram na Estação Marinha de Aquacultura da

Universidade Federal do Rio Grande (EMA/IO-FURG) e causaram elevadas perdas de produtividade nos verões de 2010 e 2011 comparado a viveiros não afetados nos mesmos períodos (Pacheco et al., 2016). Nos anos seguintes, florações desta espécie seguiram afetando a produção dos viveiros de camarões, reduzindo significativamente o crescimento e também as sobrevivências (Da Silveira et al., 2017). No entanto, a manifestação destes organismos não ocorreu em outros sistemas de cultivos da EMA/IO-FURG, como *raceways* superintensivos cobertos por estufas onde a luminosidade e as variações climáticas são menores, e o aporte de nutrientes é maior. A *N. spumigena* é uma espécie fitoplanctônica do tipo filamentosa, capaz de fixar nitrogênio e formar grandes proliferações quando as condições ambientais são favoráveis ao seu desenvolvimento (Shehawy & Gorokhova, 2013). Produtora da hepatotoxina NOD (Mazur-Marzec et al., 2006) ela está distribuída por todos os continentes (Hallegraeff et al., 2003) e se desenvolve em diferentes salinidades (Bicudo & Menezes, 2006).

Alguns estudos têm demonstrado que, o uso do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pode ser utilizado como alternativa para removê-las, tanto na aquicultura (Sinha et al., 2018) quanto em lagos recreativos (Matthijs et al., 2012) e em águas residuais (Barrington et al., 2013). Entretanto, especificamente na aquicultura, a faixa das concentrações de aplicação de H_2O_2 utilizadas são estreitas, porém, somadas ao tempo de exposição, podem causar efeitos negativos às comunidades e processos microbianos que compõem o biofloco (Møller et al., 2010). Desta forma, o H_2O_2 quando aplicado no sistema de bioflocos pode oferecer riscos, considerando que o sistema BFT é justamente dependente da comunidade microbiana ativa para manter a qualidade de água e oferecer alimento adicional aos camarões (Wasielesky et al., 2006; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2012). Diferentemente do uso do H_2O_2, a fertilização orgânica é uma

abordagem menos agressiva, que pode ser realizada sem o risco de afetar negativamente a comunidade microbiana benéfica do sistema, bem como os organismos cultivados e os bioflocos. Alguns estudos apontam que cianobactérias fixadoras de nitrogênio são favorecidas em ambientes aquáticos com ausência de nitrogênio e a presença de fósforo (em baixas relações N:P) devido a sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (N_2) (Smith, 1983; Mazur-Marzec et al., 2006). Com isso, a entrada de nitrogênio na água pode favorecer outros procariontes e todos os eucariontes que não são capazes de fixar N_2 (Pearl & Tucker, 1995) oferecendo condições ao desenvolvimento dos demais grupos do fitoplâncton. Este estudo teve como objetivo realizar fertilizações orgânicas em viveiros de produção intensiva que foram afetados e não afetados pela cianobactéria *N. spumigena*, e avaliar os efeitos na qualidade de água, comunidade microbiana, produção de toxina e desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei* no sistema de bioflocos.

Material e Métodos

Delineamento experimental

O estudo foi realizado na Estação Marinha de Aquacultura Prof. Marcos Alberto Marchiori (EMA), pertencente ao Instituto de Oceanografia (IO) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil (32°12'16" S 52°10'38" W). Pós-larvas de *L. vannamei*, foram mantidas até o estágio de PL 15 no setor de larvicultura, sendo transferidas para uma estufa contendo tanques berçário com área de 35 m^2, onde permaneceram 35 dias em sistema de bioflocos. Após este período os camarões foram transferidos para as unidades experimentais. Juvenis, com peso médio de 0,98 ± 0,41g foram estocados na densidade de 70 m^{-2} em seis viveiros retangulares escavados de 600 m^2, revestidos com polietileno de alta densidade (PEAD) em sistema

de *raceways*. Cada unidade contou com dois aeradores tipo *paddle wheel* (1.0 HP cada), correspondendo a 33.3 HP ha^{-1}. As unidades experimentais antes da estocagem receberam água marinha na salinidade 30, tratada com 12 mg L^{-1} de cloro e neutralizada após 24h da aplicação com o acionamento do sistema de aeração para volatilização do cloro. Após este procedimento, cada unidade recebeu água de um cultivo de camarões contendo bioflocos totalizando 20 m^3 de inóculo de bioflocos juntamente com 120 L de inóculo de microalgas *Conticribra weissflogi* ($5x10^4$ cel. mL^{-1}) seguido da estocagem dos camarões. Para conter as elevações da amônia durante a fase de engorda foram realizadas fertilizações orgânicas seguindo a relação de 6:1, baseado em Avnimelech (1999) e Ebeling et al. (2006). A concentração máxima de SST proposta durante a fase de engorda foi de 500 mg L^{-1} baseado em Gaona et al. (2011) e Schveitzer et al. (2013). Quando ultrapassado a concentração máxima estabelecida, clarificadores com volume útil de 2.792 L foram acionados para realizar a manutenção das concentrações de SST.

Durante a preparação dos viveiros experimentais, mesmo após os processos de cloração das unidades foi detectado o reaparecimento de cianobactérias da espécie *N. spumigena* parcialmente em algumas unidades. As unidades não afetadas e afetadas foram então divididas em dois tratamentos em triplicata. O primeiro tratamento, sem *Nodularia* (*SN*), e o segundo tratamento com *Nodularia* (*CN*). Como estratégia de manejo para conter as florações, o tratamento *CN* recebeu aplicações de melaço como fonte de carbono orgânico, juntamente com aplicações de ração comercial triturada (28% PB) como fonte de carbono e nitrogênio, sendo aplicadas por três dias consecutivos, durante a terceira semana do estudo, quando as florações se intensificaram. A relação C:N foi baseada nas quantidades de carbono e nitrogênio contidas em ambas as fontes usadas na fertilização para chegar a uma relação aproximada de 20:1. A relação nominal total das aplicações foi de 42,61 g de carbono:

2,16 g de nitrogênio por m^3. O objetivo das fertilizações foi fornecer nutrientes aos demais microrganismos presentes no cultivo aumentando a disponibilidade de nitrogênio na água. O tratamento *SN* recebeu igualmente a mesma fertilização, preventivamente, devido à proximidade entre as unidades afetadas e não afetadas.

Qualidade da água

Diariamente às 8:00 e 16:00 h foram monitorados temperatura e oxigênio dissolvido (YSI® modelo Pro 20) (YSI® Incorporated, Yellow Springs, OH, USA) e pH (Mettler Toledo®, modelo FE20). Semanalmente a salinidade através de refratômetro e a análise de amônia total (N-AT) realizada através do método UNESCO (1983), nitrito ($N\text{-}NO_2^-$) (Bendschneider & Robinson, 1952), nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) e ortofosfato ($P\text{-}PO_4$) (Aminot & Chaussepied, 1983). Uma vez por semana foi observada a transparência da água, utilizando disco de Secchi e determinadas as concentrações de SST (mg L^{-1}), (Strickland & Parsons, 1972; AOAC, 2000), e a alcalinidade (APHA, 1998). A cada quinze dias foi realizada a extração e determinação das concentrações de clorofila *a*, utilizado metodologia descrita por Mackinney (1941).

Microrganismos

Amostras de água foram coletadas de cada unidade experimental em três diferentes tempos (inicial, intermediário e final) e levadas ao Laboratório de Cianobactérias e Ficotoxinas da FURG (LCF-FURG) no qual alíquotas de 2,1mL preservadas em lugol foram colocadas em câmaras de sedimentação em microscópio invertido e realizada a composição e a quantificação da abundância de microrganismos pelo método de Utermöhl (1958). A metodologia usada na quantificação foi realizada

através da contagem completa da câmara de sedimentação, deslocando a câmara no sentido esquerda-direita e vice-versa.

Amostragem e quantificação da toxina Nodularina (NOD)

As amostras foram coletadas em baldes e levadas ao (LCF-FURG) com volume total de 10 L de cada unidade experimental. Para o processo de purificação da *N. spumigena* utilizou-se uma característica morfológica da espécie dominante: as vesículas de gás. Estas vesículas permitem a suspensão das células na água contribuindo assim para uma otimização da fotossíntese. Sendo assim, foram realizadas centrifugações (MLW modelo K70D) a 2000 rpm em baterias de 30 minutos em que as células saudáveis da *N. spumigena* foram separadas dos demais organismos. Posteriormente, o sobrenadante foi colocado em buretas para repouso pelo período de um dia. Filamentos saudáveis flutuantes foram filtrados em uma rede fitoplanctônica de 50 μm e lavados três vezes com o meio de cultura F/2 (Guillard, 1975) preparado para a salinidade marinha. O concentrado resultante alcançou 100% de pureza das células sendo congelado em freezer convencional e posteriormente liofilizado a -30 ºC (Micromodulyo-Edwards, Inglaterra).

Para quantificar a toxina nodularina (NOD) foi utilizado 500 mg de biomassa liofilizada de *N. spumigena* e extraído com metanol e água (1:1) com duração de 24 horas a frio em um agitador orbital (Aros 160, Thermolyne-USA). Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 6000 rpm por 20 minutos (Hermle Labnet-centrifuga-USA), o sobrenadante foi então concentrado em um evaporador rotatório. A amostra resultante foi homogeneizada usando um dispositivo ultrassônico (Hielsher, Germany®) três vezes durante 30 segundos, com intervalos de 30 segundos. Após isso, uma alíquota de 1,0 mL de água Milli-Q foi utilizada para ressuspender o concentrado e então foi levado

para análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a um detector UV-DAD. Os padrões utilizados nesta análise foram padrões comerciais para detecção de nodularina (Sigma-Aldrich® e Abraxis®).

As duas fases móveis utilizadas foram ácido trifluoroacético 0,05 M (Merck®) em acetonitrila (Merck®) e ácido trifluoroacético 0,05 M em água Milli-Q. O cromatógrafo CLAE-DAD (Shimadzu, Japão) consiste em um controlador CBM-20A, um detector SPD-M20 (200-400 nm), uma lâmpada de deutério (D2), duas bombas binárias LC-20AD e forno de coluna CTO-20A em 40 °C controlado através da Labsolution Software 5.41.240. A coluna analítica utilizada para análise foi uma Luna C18 (2), (250 x 4,6 mm, 5 μ) (Phenomenex®). O limite de detecção, resultante do padrão SIGMA-Aldrich® analisado por CLAE-DAD para nodularina, foi de 0,025 μg L^{-1}. A análise de Elisa para NOD também foi feita usando o teste de imunoensaio específico para nodularina na faixa de: 0,25 a 1 μg L^{-1} (Beacon® (ME, RUA) seguindo as instruções do fornecedor. Os valores finais de concentração encontrados na análise foram calculados com a integração das áreas e tempos de retenção dos picos encontrados (238 nm) em comparação com as áreas e tempos de retenção dos picos (238 nm) encontrados nos padrões de nodularina utilizados.

Desempenho zootécnico

Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia (8:30 e 16:30 h) com ração comercial (Guabi® Potimar Active), contendo 38% de proteína bruta, seguindo artigo de revisão de Jory et al. (2001), fornecida a lanço e com auxilio de bandejas de alimentação para controlar o consumo aparente. Semanalmente, 100 camarões foram amostrados aleatoriamente de cada viveiro experimental e pesados individualmente utilizando uma balança digital com precisão de 0,01g (MARTE - AS 2000, Santa Rita

do Sapucaí, Minas Gerais, Brasil). Conforme as biometrias, foi calculado o peso médio dos camarões, para o ajuste semanal da quantidade de ração fornecida. Ao término do experimento, foi realizada uma biometria com 200 camarões de cada unidade. O ganho de peso dos camarões (G) de cada unidade, a taxa de crescimento semanal (GS), a conversão alimentar aparente (CAA) e a sobrevivência (S) foram obtidos através das seguintes fórmulas:

(1) Ganho de peso (g) = peso médio final (g) – peso médio inicial (g).

(2) GS (g semana^{-1}) = (Pf (g) – Pi (g)) * 100 / NS;

onde Pf representa o peso final, Pi o peso inicial e NS o número de semanas do experimento.

(3) CAA = ração fornecida (g) / incremento de biomassa (g).

(4) S (%) = (peso total (g) / peso individual (g)) * 100.

Análise Estatística

Para os parâmetros de qualidade de água e desempenho zootécnico foram verificadas a homocedasticidade das variâncias e normalidades dos dados obtidos sendo submetidos ao teste de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. O teste *t* de Student foi utilizado para detectar possíveis diferenças ($p<0,05$) entre os tratamentos (Sokal & Rohlf, 1969). Os dados de sobrevivência foram transformados em (arcoseno da raiz quadrada) antes da análise (Zar, 1996).

Possíveis diferenças de composição de microrganismos ao longo do tempo e entre tratamentos foram avaliadas através de um Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), usando Bray-Curtis como índice de similaridade (Anderson, 2001). Para detectar as diferenças na composição da comunidade foi aplicada a Análise de

Variância com Permutação (PERMANOVA), usando também a similaridade de Bray-Curtis (9999 permutações).

Resultados

Os parâmetros físicos e químicos de qualidade de água monitorados durante a fase de engorda do *L. vannamei* não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos e são exibidos na tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade de água monitorados em *SN* e *CN*, durante a fase experimental do *L. vannamei* em viveiros no sistema BFT.

	Tratamentos	
	SN	*CN*
Temperatura °C	25,8 ± 2,2	25,9 ± 2,2
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	6,77 ± 0,63	6,70 ± 0,73
pH	8,12 ± 0,22	8,17 ± 0,25
Salinidade	33,1 ± 2,2	32,3 ± 2,0
Amônia Total (mg L^{-1})	0,11 ± 0,09	0,17 ± 0,18
Nitrito (mg L^{-1})	0,46 ± 0,36	0,95 ± 0,92
Nitrato (mg L^{-1})	0,23 ± 0,21	0,81 ± 1,19
Ortofosfato (mg L^{-1})	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,06
SST (mg L^{-1})	267 ± 76	272 ± 142
Transparência	26,2 ± 8,4	23,8 ± 7,1
Clorofila *a* (µg L^{-1})	725,5 ± 377,9	837,1 ± 616,8
Alcalinidade (mg $CaCO_3$ L^{-1})	182 ± 17	178 ± 23

As concentrações de amônia oscilaram ao longo do tempo em ambos os tratamentos sem apresentar diferença significativa ($p>0,05$) (Fig. 1). O tratamento afetado por *N. spumigena* (*CN*) recebeu fertilizações durante a terceira semana e apresentou incremento nas concentração de amônia no período. Da mesma forma

ocorreu com o tratamento não afetado pela *N. spumigena* (*SN*) que recebeu fertilizações como medida preventiva.

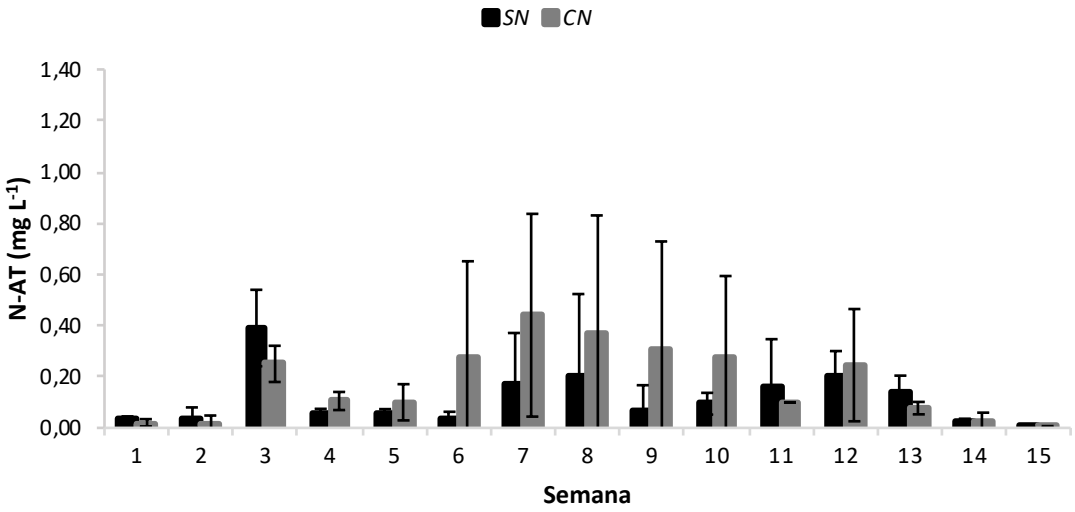


Figura 1: Variações nas concentrações de amônia total durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

O processo de nitrificação foi observado somente a partir da segunda metade do estudo, porém apresentando baixas concentrações de nitrito e nitrato em ambos os tratamentos (Fig. 2 e 3).

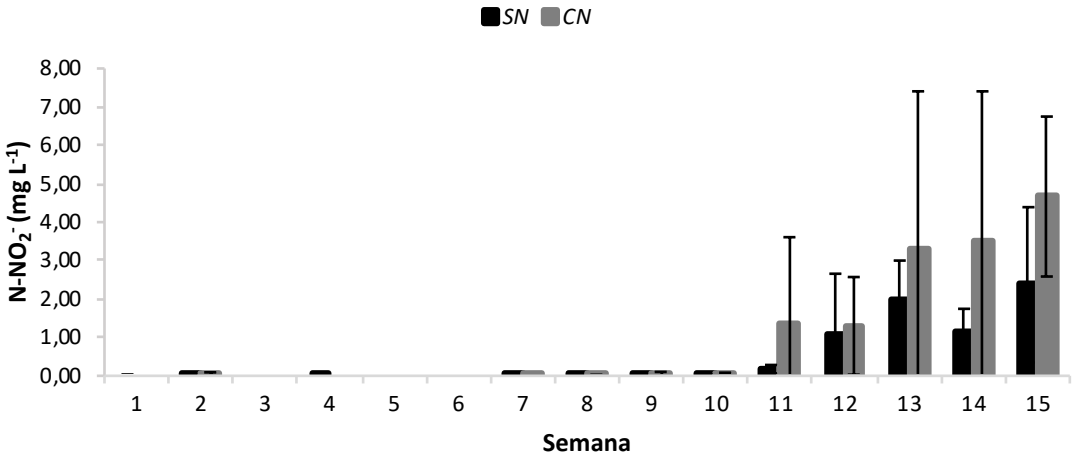


Figura 2: Variações nas concentrações de nitrito durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

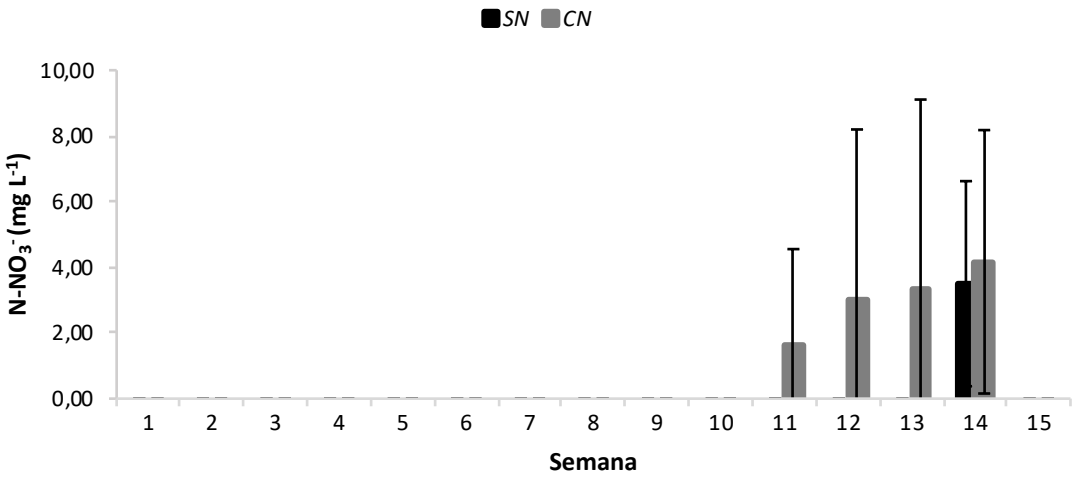


Figura 3: Variações nas concentrações de nitrato durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

Concentrações de ortofosfato foram observadas durante a sétima semana e a partir da décima semana, apresentando oscilações em ambos os tratamentos até o final do estudo (Fig. 4).

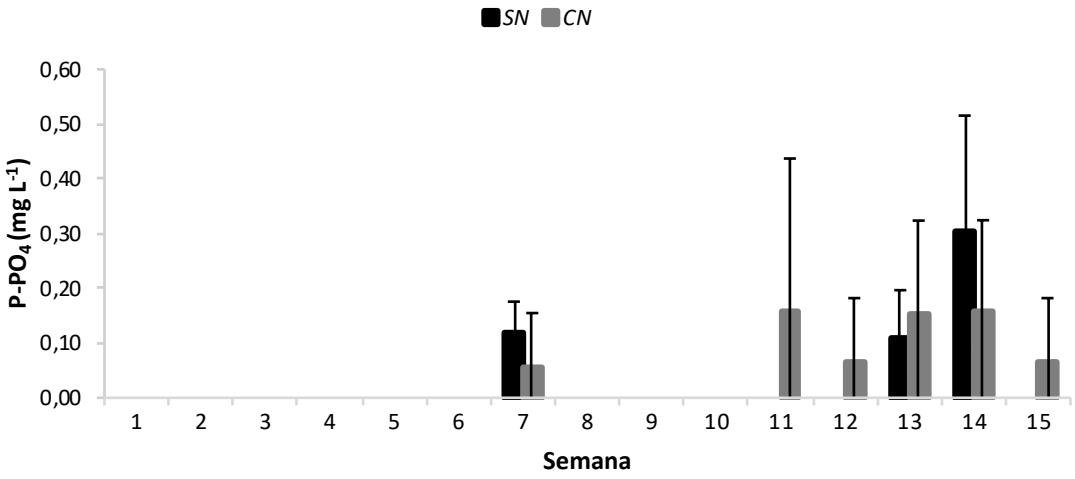


Figura 4: Variações nas concentrações de ortofosfato durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

A atividade fotossintética inicialmente foi baixa, intensificando-se somente a partir da nona semana do estudo, juntamente com o aumento da abundância de clorofíceas em ambos os tratamentos (Fig. 5).

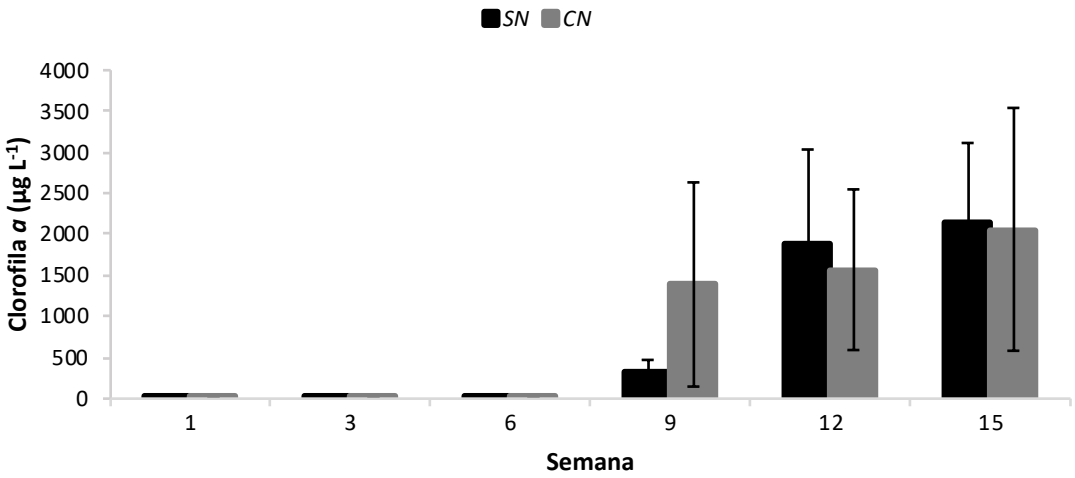


Figura 5: Variações nas concentrações de clorofila *a* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT.

Os tratamentos *SN* e *CN* apresentaram uma comunidade microbiana diversificada durante o estudo por grupos que compõem o plâncton, tais como, cianobactérias, diatomáceas, clorofíceas, protozoários, rotíferos e copépodos. Diferenças significativas ($p<0,05$) foram observadas quanto a composição microbiana em ambos os tratamentos ao longo do tempo (Fig. 6). As diatomáceas foram mais abundantes inicialmente e as clorofíceas foram mais abundantes na coleta final nos tratamentos *SN* e *CN*. Não foi observada diferença significativa na composição da comunidade entre os tratamentos ($p>0,05$) nos três tempos avaliados (Fig. 7). A presença da cianobactéria *N. spumigena* foi detectada somente na amostragem inicial no tratamento *CN*.

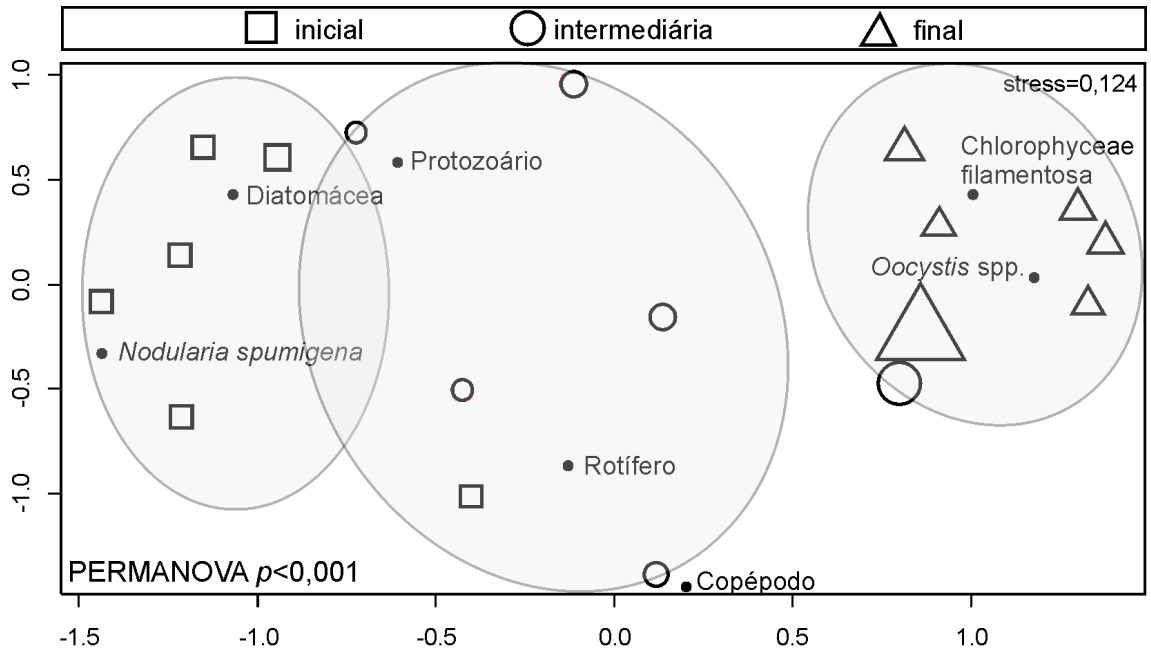


Figura 6: Ordenação NMDS representando a composição de microrganismos ao longo do tempo durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT. O tamanho dos símbolos reflete proporcionalmente a abundância dos organismos.

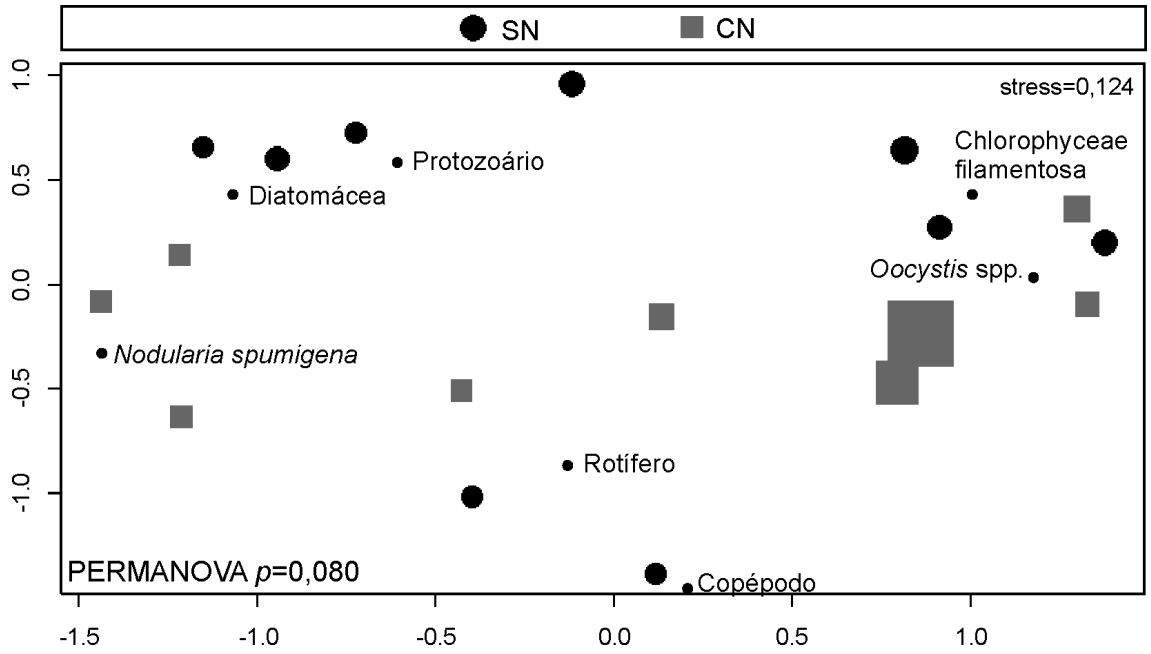


Figura 7: Ordenação NMDS representando a composição de microrganismos nos tratamentos com (*CN*) e sem (*SN*) a cianobactéria *N. spumigena* durante a fase de engorda do *L. vannamei* em sistema BFT. O tamanho dos símbolos reflete proporcionalmente a abundância dos organismos.

A presença da toxina NOD foi detectada em *N. spumigena* a partir das amostras de água da coleta inicial no tratamento *CN*. A concentração encontrada foi de 66,37 ± 20,87 μg L^{-1} de NOD. Nas coletas intermediária e final não foi detectada a presença da *N. spumigena.*

Durante a segunda semana do estudo, os camarões das unidades afetadas por florações de *N. spumigena* no tratamento *CN* reduziram gradativamente o consumo alimentar à medida em que as florações se intensificaram. Também foi constatado no mesmo período, através de biometrias, que os camarões não apresentaram incremento de peso em comparação a semana anterior (Fig. 8). Após os camarões cessarem o consumo alimentar e não apresentar incremento de peso, as fertilizações orgânicas foram realizadas. Durante o período das fertilizações orgânicas os camarões dos viveiros afetados (*CN*) não foram alimentados. Após as fertilizações orgânicas, uma fração mínima do total da ração que deveria ser ofertada normalmente aos camarões (1,0% do cálculo total diário) foi fornecida somente nas bandejas de alimentação para avaliar a retomada do consumo. Esta estratégia foi adotada com o objetivo de impedir a elevação dos compostos nitrogenados, já que os camarões não estavam mais consumindo a ração fornecida e evitar que a conversão alimentar fosse afetada. Após 96 horas do início das fertilizações orgânicas, os camarões do tratamento *CN* retomaram gradativamente o consumo da ração nas bandejas de alimentação que passou a ser ofertada também proporcionalmente a lanço nos viveiros. O consumo alimentar se reestabeleceu normalmente duas semanas após o início da intervenção (Fig. 9).

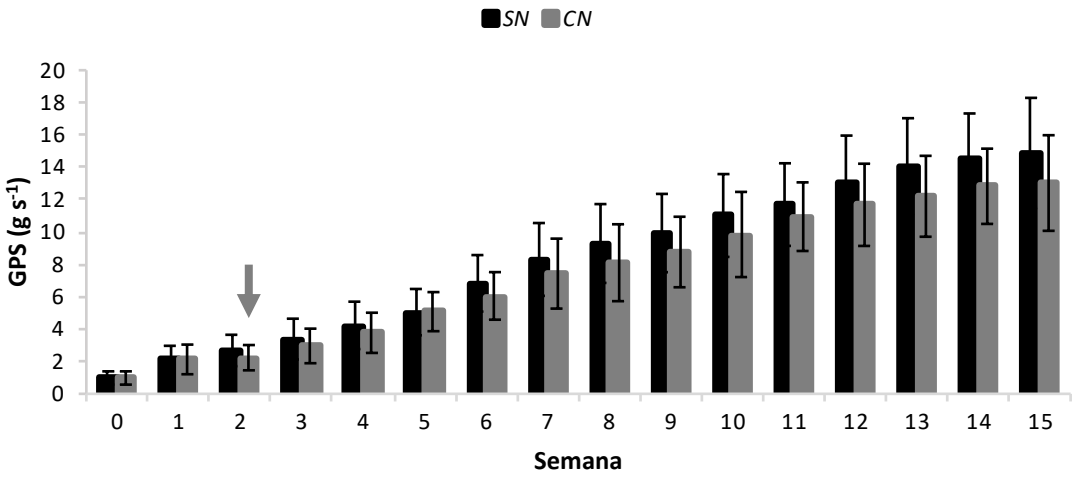


Figura 8: Ganho de peso semanal do *L. vannamei* em viveiros intensivos, durante a fase de engorda em sistema BFT. Identificado pela seta, na segunda semana os camarões do tratamento *CN* não apresentaram ganho do peso em relação a semana anterior. Na terceira semana é possível observar a retomada do incremento de peso em *CN*, após as fertilizações.

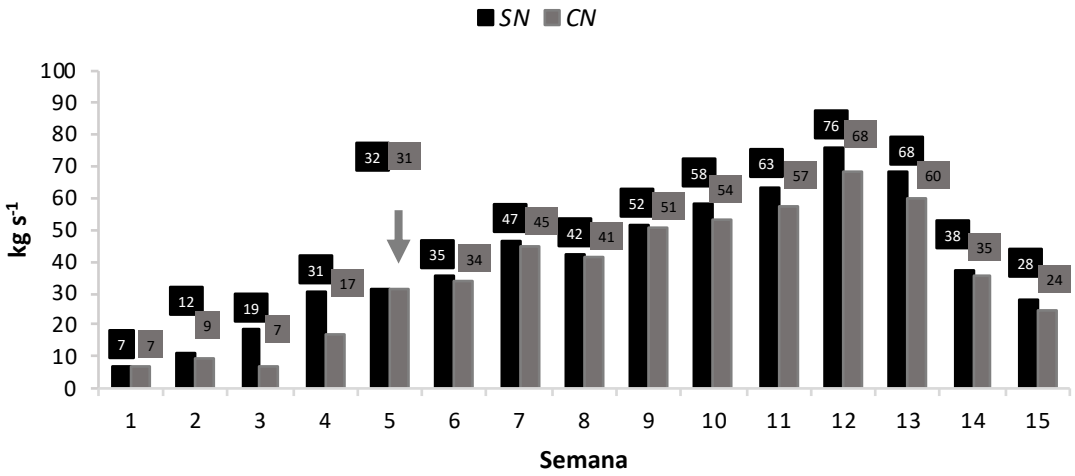


Figura 9 : Consumo médio semanal de ração durante a fase de engorda do *L. vannamei* em viveiros intensivos no sistema BFT. Após a segunda semana, é possível observar a redução no consumo de ração no tratamento afetado (*CN*) em comparação ao tratamento não afetado (*SN*). A seta indica a fase em que a alimentação foi reestabelecida normalmente em *CN*, duas semanas após o manejo de fertilizações orgânicas. A redução no consumo nas semanas finais em ambos os tratamentos foi devido redução das temperaturas.

Os resultados de desempenho zootécnico apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ao final do experimento (Tab. 2). A conversão alimentar aparente

(CAA) em *CN* foi significativamente ($p<0,05$) maior que *SN*. A produtividade e a sobrevivência dos camarões foram significativamente menores ($p<0,05$) em *CN* em relação a *SN*.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos parâmetros de desempenho zootécnico monitorados em *SN* e *CN*, durante a fase experimental do *L. vannamei* em viveiros no sistema BFT. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$).

	Tratamentos	
	SN	*CN*
Peso inicial (g)	0,98 ± 0,48[a]	0,98 ± 0,48[a]
Peso final (g)	14,88 ± 3,41[a]	13,03 ± 2,95[a]
Ganho de peso semanal (g s^{-1})	0,93 ± 0,35[a]	0,80 ± 0,31[a]
CAA*	1,10 ± 0,04[a]	1,34 ± 0,05[b]
Produtividade (kg ha^{-1})	9.441 ± 559[a]	6.878 ± 692[b]
Sobrevivência (%)	90,6 ± 1,8[a]	76,0 ± 7,5[b]

* Conversão alimentar aparente.

Discussão

Com exceção da temperatura, que se manteve em média abaixo do intervalo recomendado para o alto crescimento da espécie (28 – 30 °C), o oxigênio dissolvido, pH, salinidade e alcalinidade, mantiveram-se dentro dos intervalos e valores indicados para o cultivo do *L. vannamei* (Van Wyk & Scarpa, 1999). A amônia total apresentou incremento inicial durante a terceira semana em ambos os tratamentos, resultado das fertilizações (melaço e ração comercial). Nas semanas seguintes, as concentrações oscilaram, mas não atingiram valores significativos e mantiveram-se dentro dos níveis seguros para a espécie, segundo Lin & Chen (2001) durante todo o estudo. A nitrificação é diretamente influenciada pela temperatura (Timmons & Ebeling, 2010), principalmente em viveiros abertos que são expostos as oscilações climáticas. Entretanto, o atraso observado no processo de nitrificação pode estar mais relacionado a

assimilação dos compostos causada pelo fitoplâncton (Ebeling et al., 2006) e pela entrada de carbono orgânico das fertilizações, o qual desvia a amônia para a rota heterotrófica (Zhu & Chen, 2001).

Algum acúmulo de ortofosfato foi observado nas semanas finais do estudo quando as quantidades diárias de ração fornecida foram mais elevadas. O incremento do fosfato acontece através da ração não consumida e pela excreção dos animais cultivados (Barak et al., 2003). Entretanto, não foi observado o acúmulo que é característico deste composto em sistemas com pouca ou nenhuma troca de água, provavelmente influenciado pela absorção do fitoplâncton (Burford et al., 2003) e também pela remoção de SST através da clarificação que contribui para redução destas concentrações (Gaona et al., 2011). A atividade fotossintética foi intensa na segunda metade do estudo como pôde ser observado, compatível com o aumento da biomassa fitoplanctônica, principalmente devido a abundância do grupo das clorofíceas em ambos os tratamentos durante esta fase.

Durante o presente estudo, não quantificamos o nitrogênio e fósforo totais (NT e PT), entretanto, é fato que a fertilização realizada durante três dias consecutivos na terceira semana, aumentou a disponibilidade de nitrogênio na água, elevando a relação N:P existente. Após as fertilizações em *CN*, células de *N. spumigena* não foram mais detectadas nas amostragens seguintes (intermediária e final), passando a predominar as clorofíceas. Sendo assim, pode-se presumir que houve o favorecimento à substituição de espécies por interações entre populações, influenciada pela fertilização, alterando significativamente a composição da comunidade ao longo do tempo. Diferentes autores relatam que a baixa relação N:P é um dos principais fatores responsáveis por florações de *N. spumigena* em estuários (Kiirkki et al., 2001; Stal et al., 2003; Moisander et al., 2003; Mazur-Marzec et al., 2006) principalmente devido a capacidade que esta espécie

possui em fixar o nitrogênio atmosférico (N_2). A fixação biológica do N_2 por algumas espécies de cianobactérias é uma fonte direta de nitrogênio, que para outros procariotos e todos os eucariotos não está disponível (Pearl & Tucker, 1995). Segundo estes autores, em períodos de limitação do nitrogênio na água, as cianobactérias possuem uma larga vantagem competitiva. Na nossa interpretação, a entrada de nitrogênio pela fertilização no presente estudo trouxe certo equilíbrio à competição, modificando a condição extremamente favorável para *N. spumigena,* passando a estimular o desenvolvimento das microalgas clorofíceas. Somado a isso, quando há nitrogênio biodisponível na água, ele automaticamente exerce um efeito inibitório pronunciado sobre a atividade de fixação do N_2 em *N. spumigena* (Vintila & El-Shehawy, 2007). Estes autores avaliaram a resposta inicial à suplementação de nitrogênio na água, com foco na fixação de N_2 e constataram que a presença de amônia inibiu a fixação pela via atmosférica.

Particularmente, a relação competitiva entre estes dois grupos (clorofíceas e cianobactérias) já foi relatada em diferentes estudos, tanto em lagos naturais quanto em experimentos de laboratório e são discutidas em artigo de revisão de Bulgakov & Levich (1999). Segundo estes autores, razões N:P elevadas, favorecem o desenvolvimento de clorofíceas, enquanto que a redução desta razão favorece as comunidades de cianobactérias. Sommer (1996), em experimentos de laboratório com água coletada de um ambiente estuarino, na Baía de Kiel, Alemanha, também observou que cianobactérias foram desfavorecidas com relação N:P elevada e as clorofíceas beneficiadas. O mesmo foi discutido por Reyssac & Pletikosic (1990) relatando diversos eventos ocorridos em viveiros de peixes em diferentes países.

Em ambientes naturais, geralmente as concentrações de *N. spumigena* e de toxina NOD costumam ser baixas (Mazur-Marzec et al., 2006). Contudo, em cultivos

além das densas florações, existe uma maior tendência por parte dos organismos em acumular concentrações elevadas de toxina nos tecidos em níveis superiores aos observados na natureza devido ao cativeiro (Smith et al., 2008). No presente estudo, não foi avaliada a concentração de toxina NOD nos tecidos dos camarões, mas avaliamos em *N. spumigena* a partir das amostras de água coletadas do tratamento *CN*. Estas amostras da coleta inicial apresentaram elevada concentração de toxina (66,37 ± 20,87 μg L^{-1} de NOD). Zimba et al. (2006), após um evento de mortalidade de camarões *L. vannamei,* em viveiros de cultivo no Texas, EUA, igualmente observaram elevadas concentrações em amostras de água e também nos tecidos dos animais. Estes autores encontraram níveis da hepatotoxina microcistina (MC) de 45 μg MC L^{-1} na água e de 55 μg g^{-1} de peso fresco no hepatopâncreas, porém, em baixa concentração no tecido muscular (0,1 μg g^{-1} de peso fresco). Os resultados encontrados por Zimba et al. (2006) demonstram que apesar das elevadas concentrações de toxina estarem presentes na água e hepatopâncreas, esta é pouco acumulada no abdômen do crustáceo, principal parte consumida. Kankaanpää et al. (2005) também observaram em *Penaeus monodon* que maiores concentrações da toxina NOD se acumulam em tecidos da região do cefalotórax em geral, enquanto que baixas concentrações são observadas no tecido muscular. Quanto a cinética de acumulação e depuração de toxinas em invertebrados tais como os camarões, parece que esta ocorre de forma acelerada. No presente estudo os camarões retomaram a alimentação 96 h após o início das fertilizações e reestabeleceram normalmente o consumo alimentar duas semanas após o início da intervenção. Kankaanpää et al. (2005) observaram que níveis de NOD administrados via oral em *P. monodon* apresentaram rápida redução no hepatopâncreas 96 h após a exposição (de 830 para 250 μg kg^{-1} de peso seco). Acreditamos com isso, que os danos causados ao hepatopâncreas em camarões quando expostos por um curto período

possam ser revertidos. O hepatopâncreas é um órgão interno do camarão responsável pela produção de enzimas digestivas (Samocha et al., 2017) e também pela absorção, acúmulo e metabolismo de nutrientes importantes para o camarão (Barbieri & Ostrensky, 2002). Estudos como os de Kankaanpää et al. (2005) e Zimba et al. (2006) demonstram que este órgão apresenta um elevado grau de acúmulo de toxina, e que esta, afeta diretamente o consumo alimentar e o crescimento dos camarões (Smith et al., 2008). Por estes fatores, é muito provável que os menores índices de CAA, produtividade e sobrevivência, obtidos no tratamento *CN* comparados à *SN*, foram decorrentes destes efeitos causados pela NOD nos camarões. Contudo, os índices zootécnicos obtidos no tratamento afetado (*CN*) foram superiores aos obtidos anteriormente por Costa et al. (2013) nas mesmas unidades experimentais em 2010 quando não houve manejo algum. A CAA em *CN* foi de 1,34 ± 0,05 enquanto que a conversão alimentar obtida por aqueles autores em viveiros afetados pela *N. spumigena* foi pior (1,70 ± 0,16). Segundo relatado por Pacheco et al. (2016) as perdas de produtividade nos anos de 2010 e 2011 na EMA/IO-FURG, chegaram a 47,8 e 60,9%, respectivamente, comparado à viveiros não afetados no mesmo período. No presente estudo, fazendo a mesma comparação, a perda de produtividade em *CN* foi significativamente menor (27,2%). Do mesmo modo, a sobrevivência obtida no presente estudo em *CN* (76,0 ± 7,5%) foi superior à obtida por Costa et al. (2013) (56,0 ± 0,07%). Comparando os resultados de sobrevivência obtidos em *CN* com o nosso tratamento não afetado (*SN*), essa redução foi de apenas 14,6%.

Ainda não se sabe de que maneira ocorre a contaminação por *N. spumigena* em viveiros de cultivo intensivo de camarões, que algumas vezes floresce na fase de enchimento das unidades ou no decorrer do ciclo de produção. Mesmo após os processos de cloração da água durante o preparo das unidades, as células

completamente eliminadas reaparecem. É muito provável que isso ocorra a partir de células de resistências (acinetos) que podem se formar devido à condições físicas e químicas adversas (Da Silveira et al., 2017) e posteriormente florescer em condições favoráveis.

Conclusão

A fertilização orgânica demonstrou ser uma alternativa viável para conter florações de *N. spumigena*, atuando no favorecimento das microalgas presentes nos viveiros, no nosso caso, as clorofíceas. Esta técnica é de fácil manejo, podendo reduzir significativamente as perdas na aquicultura. Contudo os procedimentos aplicados neste estudo estiveram sujeitos às variáveis físicas, químicas e biológicas locais e devem ser melhor investigadas, assim como os complexos gatilhos que desencadeiam as florações e a produção da toxina NOD em *N. spumigena* em viveiros e que causam sérios prejuízos na aquicultura.

Referências Bibliográficas

Alonso-Rodriguez, R., Páez-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, 1-4. 317-336. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00509-4

Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, CNEXO, 395p.

Anderson, J.M., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecology, 26, 32-46.

AOAC (Association of Official Analitycal Chemists), 2000. Official Methods of Analysis of AOAC, 16th edition. Patricia Cunniff (editora), Washington, DC.

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

Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176, 227-235. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X

Barak, Y., Gelfand, E.C.I., Krom, M., Rijn, J.V. 2003. Phosphorus removal in a marine prototype, recirculating aquaculture system. Aquaculture, 220(1-4), 313-326. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00342-3

Barbieri, R.C., Ostrensky Neto, A., 2002. Camarões marinhos: engorda. Aprenda Fácil, Viçosa. 370p.

Barrington, D.J., Reichwaldt, E.S., Ghadouani, A. 2013. The use of hydrogen peroxide to remove cyanobacteria and microcystins from waste stabilization ponds and hypereutrophic systems. Ecological Engineering, 50, 86-94. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2012.04.024

Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. Journal of Marine Research, 11, 87-96.

Bicudo, C.E.M., Menezes, M. 2006. Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil – Chave para Identificação e Descrições 2º Ed. Rima, São Carlos. 508p.

Bulgakov, N.G., Levich, A.P., 1999. The nitrogen: phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure. Archiv für Hydrobiologie, 3-22.

Burford, M.A., Thompson, P.J., Mcintosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219, 393-411. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00575-6

Costa, C., Wasielesky, W., Odebrecht, C. 2013. Impacto da Presença da Cianobacteria *Nodularia spumigena* em cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos. Reunião Latina Americana Sobre Algas Nocivas, 7-9.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture 356-357, 351-356. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046

Da Silveira, S.B., Wasielesky, W., Andreote, A.P.D., Fiore, M.F., Odebrecht, C., 2017. Morphology, phylogeny, growth rate and nodularin production of *Nodularia spumigena* from Brazil. Marine Biology Research, 13(10), 1095-1107. DOI: 10.1080/17451000.2017.1336587

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture, 277, 125-137. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.019

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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.03.019

El-Shehawy, R., Gorokhova, E., 2013. The bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena*: a peculiar nitrogen-fixer in the Baltic Sea food webs. Cyanobacteria: Ecology, Toxicology and Management. Nova publisher, USA, 47-71.

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. DOI: 10.21061/ijra.v12i1.1354

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Culture of marine invertebrate animals. Springer, Boston, MA, 29-60.

Hallegraeff, G.M. 2003. Harmful algal blooms: a global overview. Manual on harmful marine microalgae, 33, 1-22.

Intergovernamental Oceanographic Commission. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, UNESCO, 53p.

Jewel, M.A.S., Affan, M.A., Khan, S., 2003. Fish mortality due to cyanobacterial bloom in an aquaculture pond in Bangladesh. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6(12), 1046-1050. DOI: 10.3923/pjbs.2003.1046.1050

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. In: Browdy, CL and Jory, DE (Eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 104-152.

Kankaanpää, H.T., Holliday J., Schröder H., Goddard T.J., Von Fister, R., Carmichael, W.W., 2005. Cyanobacteria and prawn farming in northern New South Wales, Australia - a case study on cyanobacteria diversity and hepatotoxin bioaccumulation. Toxicology and Applied Pharmacology, 203(3), 243-256. DOI:10.1016/j.taap.2004.04.012

Kiirikki, M., Inkala, A., Kuosa H., Pitkänen, H., Kuusisto, M., Sarkkula, J., 2001. Evaluating the effects of nutrient load reductions on the biomass of toxic nitrogen-fixing cyanobacteria in the Gulf of Finland, Baltic Sea. Boreal Environment Research, 6(2), 131-146.

Lin, Y.C., Chen, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus* v*annamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 259 (1), 109-119. DOI: 10.1016/S0022-0981(01)00227-1

Lirås, V., Lindberg M., Nyström P., Annadotter H., Lawton, L.A., Graf B., 1998. Can ingested cyanobacteria be harmful to the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*)? Freshwater Biology, 39(2), 233-242. DOI: 10.1046/j.1365-2427.1998.00278.x

Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. Journal of Biological Chemistry, 140(2), 315-322.

Matthijs, H.C.P., Visser, P.M., Reeze, B., Meeuse, J., Slot, P.C., Wijn, G., Talens, R., Huisman, J., 2012. Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. Water Research, 46(5), 1460-1472. DOI: 10.1016/j.watres.2011.11.016

Mazur-Marzec, H., Krężel, A., Kobos, J., Pliński, M., 2006. Toxic *Nodularia spumigena* blooms in the coastal waters of the Gulf of Gdańsk: a ten-year survey. Oceanologia, 48(2), 255-273.

Mohamed, Z.A., Carmichael, W.W., Hussein, A.A., 2003. Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a Microcystis bloom. Environmental toxicology, 18(2), 137-141. DOI: 10.1002/tox.10111

Moisander, P.H., Steppe, T.F., Hall, N.S., Kuparinen, J., Paerl, H.W., 2003. Variability in nitrogen and phosphorus limitation for Baltic Sea phytoplankton during nitrogen-fixing cyanobacterial blooms. Marine Ecology Progress Series, 262, 81-95. DOI: 10.3354/meps262081

Møller, M.S., Arvin, E., Pedersen, L.F., 2010. Degradation and effect of hydrogen peroxide in small-scale recirculation aquaculture system biofilters. Aquaculture Research, 41(8), 1113-1122. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02394.x

Pacheco, L.A., Kunrath, N., Costa, C.M., Costa, L.D.F., Fóes, G.K., Wasielesky, W., Yunes J.S., 2016. Identification of the toxic pentapeptide nodularin in a cyanobacterial bloom in a shrimp farm in South American Atlantic Coast. Pharmaceutica Analytica Acta, 7, 479. DOI: 10.4172/2153-2435.1000479

Paerl, H.W.,. Tucker, C.S. 1995. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. Journal of the World Aquaculture Society, 26(2), 109-131. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1995.tb00235.x

Ploeg, M.V.D., Boyd, C.E., 1991. Geosmin production by cyanobacteria (blue-green algae) in fish ponds at Auburn, Alabama. Journal of the World Aquaculture Society, 22(4), 207-216. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1991.tb00736.x

Prommana, R., Peerapornpisal, Y., Whangchai, N., Morrison, L.F., Metcalf J.S., Ruangyuttikarn, W., Towprom, A., Codd G.A., 2006. Microcystins in cyanobacterial blooms from two freshwater prawn (*Macrobrachium*

rosenbergii) ponds in Northern Thailand. Science Asia, 32(6), 365-370. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2006.32.365

Reyssac, J.S., Pletikosic M., 1990. Cyanobacteria in fish ponds. Aquaculture, 88(1), 1-20. DOI: 10.1016/0044-8486(90)90315-E

Rodgers, J.H. Jr. 2008. Algal toxins in pond aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 4605.

Saker, M.L., Eaglesham, G.K.. 1999. The accumulation of cylindrospermopsin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the Redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Toxicon, 37(7), 1065-1077. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00240-2

Samocha, T.M., Prangnell, D.I., Hanson T.R., Treece, G.D., Morris, T.C., Castro, L.F., Staresinic, N., 2017. Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* – The Texas A&M AgriLife Research Experience. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., Santo, C.M.D.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. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2013.04.006

Sinha, A.K., Romano, N., Eggleton, M., Howe, J., Lochmann, R., 2018. Removing cyanobacteria and associated toxins in aquaculture ponds. Global Aquaculture Advocate. Maio de 2018. Disponível em: https://www.aquaculturealliance.org/advocate/removing-cyanobacteria-toxins-aquaculture-ponds/

Smith, J.L., Boyer G.L.,. Zimba P.V., 2008. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: impacts and management alternatives in aquaculture. Aquaculture, 280: 5-20. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.05.007

Smith, V.H., 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. Science, 221(4611), 669-671. DOI: 10.1126/science.221.4611.669

Sokal, R.R., F. Rohlf, J., 1969. Biometry principle and practices of statistics in biological research. W. H. Freeman & Company: San Francisco, California, 776p.

Sommer, U. 1996. Nutrient competition experiments with periphyton from the Baltic Sea. Marine Ecology Progress Series, 140: 161-167. DOI: 10.3354/meps140161

Stal, L.J., Albertano, P., Bergman B., Von Bröckel K., Gallon, J.R., Hayes, P.K., Sivonen, K., Walsby, A.E., 2003. BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea — responses to a changing environment. Continental Shelf Research, 23, 1695-1714. DOI:10.1016/j.csr.2003.06.001

Strickland, J.D.H., Parsons T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p.

Timmons, M.B., Ebeling, J.M.. 2010. Recirculating Aquaculture. 2ª Ed. Cayuga Aqua Ventures, 948p.

Utermöhl, H., 1958. Zur Ver vollkommung der quantitativen phytoplankton-methodik. Mitteilung Internationale Vereinigung Fuer Theoretische unde Amgewandte Limnologie, 9, 39p.

Van Wyk, Scarpa, P.J., 1999. Water Quality and Management. In: Peter Van Wyk, Megan Davis-Hodgkins, Rolland Laramore, Kevan L. Main, Joe Mountain, John

Scarpa (Eds.). Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Harbor Branch Oceanographic Institution. Chap. 06, 128-138.

Vintila, S., Shehawy, R.E., 2007. Ammonium ions inhibit nitrogen fixation but do not affect heterocyst frequency in the bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena* strain AV1. Microbiology, 153(11), 3704-3712. DOI: 10.1099/mic.0.2007/007849-0

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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.030

Zar, J.H. 1996. Biostatistical analysis. 3rd ed. Prentice Hall International, INC, Upper Saddle River, New Jersey, 662p.

Zhu, S., Chen S., 2001. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. Aquacultural Engineering. 25, 1-11. DOI: 10.1016/S0144-8609(01)00071-1

Zimba, P.V., Camus, A., Allen E.H., Burkholder J.M., 2006. Co-occurrence of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, mortalities and microcystin toxin in a southeastern USA shrimp facility. Aquaculture, 261(3), 1048-1055. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.037

Zimba, P.V., Khoo, L., Gaunt, P.S., Brittain, S., Carmichael, W.W., 2001. Confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from Microcystis toxins. Journal of Fish Diseases, 24(1), 41-47. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2001.00273.x

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados alcançados no presente estudo contribuem para o aprimoramento das técnicas de manejo de produção em larga escala do *L. vannamei* em viveiros intensivos com bioflocos. Os resultados reforçam as características que destacam este sistema conhecido pelo reduzido uso de água, baixa emissão de efluentes e aumento da biossegurança com produção elevada. Com os experimentos realizados concluímos que:

1. A utilização de um percentual de inóculo de bioflocos de aproximadamente 6,7% do volume da área de produção, associado à fertilização orgânica, pode melhorar a resposta do sistema frente às condições adversas enfrentadas durante o cultivo como as oscilações climáticas e na manutenção dos compostos nitrogenados em níveis controlados.

2. A utilização de clarificadores foi capaz de gerenciar as concentrações de SST em sistema intensivo com predomínio do fitoplâncton. A clarificação reduziu o uso de água em renovações, diminui as descargas de efluentes, reforçando a biossegurança do sistema BFT. O uso de clarificadores com volume mínimo de 0,46% em relação ao volume da área de produção atendeu as necessidades da produção em sistema intensivo.

3. A fertilização orgânica minimizou os problemas causados por florações de *N. spumigena*, atuando no favorecimento das microalgas presentes nos viveiros (clorofíceas), e contribuiu significativamente para reduzir as perdas na produção do *L. vannamei* causadas por cianobactérias tóxicas no sistema de bioflocos.