

Fundação Universidade Federal do Rio Grande  
Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura

Influência do Biofilme na Sobrevivência e no Crescimento  
de juvenis do Camarão-Rosa *Farfantepenaeus paulensis*  
Cultivados em Sistema de Berçário no Estuário da Lagoa dos  
Patos

Eduardo Luis Cupertino Ballester

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Aqüicultura como parte  
dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Aqüicultura.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr.  
Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo César Abreu

Rio Grande – RS – Brasil

Maio, 2003

## Resumo

Uma série de experimentos foi realizada com o objetivo de avaliar a influência do biofilme sobre a sobrevivência e o crescimento de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em gaiolas fixas em uma enseada estuarina rasa da Lagoa dos Patos – RS – Brasil. O primeiro experimento avaliou a capacidade de fixar biofilme de seis tipos de materiais: telas de polietileno verde e branca (malha 1mm), sacos de alinhagem do tipo usado para embalagem de ração, telas de poliamida (malha 12mm) e telas de polyester revestido de PVC (malhas de 1,5 e 5mm). Panagens de 1m<sup>2</sup> destes materiais foram imersas *in situ* durante 28 dias e foram retiradas amostras semanalmente para estimar a quantidade de clorofila *a*. Os valores finais encontrados variaram entre 3,68 e 9,34 µg/cm<sup>2</sup> de clorofila *a* com as redes de polietileno apresentando os maiores resultados. O segundo experimento avaliou a sobrevivência e o crescimento de camarões cultivados durante trinta dias em dois tratamentos. Três gaiolas foram instaladas no estuário 15 dias antes do início da fase de cultivo do experimento e foi permitida a fixação de biofilme nelas durante todo o período experimental. Outras três gaiolas foram instaladas no dia da estocagem dos camarões (início da fase de cultivo) e foram trocadas a cada dez dias com o objetivo de limitar a fixação de biofilme. Ao final do experimento foi constatado que os camarões cultivados nas gaiolas onde não houve limitação da fixação de biofilme tiveram crescimento significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em relação ao outro tratamento. Não foi constatada diferença significativa em relação à sobrevivência nos dois tratamentos ( $p > 0,05$ ). O terceiro experimento avaliou os efeitos do aumento da área para fixação de biofilme na sobrevivência e crescimento dos camarões. Todas as gaiolas foram instaladas na água 15 dias antes do início da fase de cultivo do experimento. Em três gaiolas foram adicionadas 8m<sup>2</sup> de telas de polietileno. Ao final do experimento foi constatado que os camarões cultivados nas gaiolas onde foram colocados substratos extras para fixação de biofilme tiveram sobrevivência e crescimento significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em relação ao outro tratamento. No primeiro e no terceiro experimento foi analisada a composição microbiana do biofilme. Os resultados destes experimentos demonstraram a importância do biofilme e do uso de substratos extras no cultivo de juvenis de *F. paulensis* em sistemas de berçário realizados no estuário da Lagoa dos Patos.

## Abstract

A series of trials evaluated the attachment of biofilm to different substrates and the influence of biofilm in the survival and growth of the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis* reared in nursery cages in a shallow estuarine inlet of Patos Lagoon, southern Brazil. The first trial tested the capacity of six types of net material to fix biofilm: white and green polyethylene nets (1mm mesh size), sack cloth from commercial shrimp diets, polyamide nets (12mm mesh size), and PVC-coated polyester nets (1.5 and 5mm mesh size). These materials were immersed in water *in situ* during 28 days and were sampled weekly to estimate the chlorophyll *a* content. The final chlorophyll *a* content values ranged from 3.68 to 9.34  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , with the polyethylene nets producing the best results. The second trial evaluated the survival and growth of shrimp reared in cages during 30 days. Three 4m<sup>2</sup> cages were installed in the estuary 15 days before the beginning of the trial and the biofilm attached to them was not cleaned off throughout the experimental period. Three other cages were exchanged every 10 days in an attempt to limit biofilm attachment. At the end of the trial, there was no significant difference in survival, but postlarvae from the treatment with biofilm had a significantly ( $p < 0,05$ ) higher growth than those reared in cages where biofilm attachment was reduced. The third trial assessed the effects of increasing the surface available for biofilm fixation in the survival and growth of shrimps. Cages were placed in the water 15 days before stocking. Two treatments were applied: in the first one 8m<sup>2</sup> of polyethylene nets were placed inside the cages, while in the other no extra substrates were added. At the end of the trial postlarvae from the treatment with added substrates had a significantly ( $p < 0,05$ ) higher survival and growth than those reared in cages with no extra substrate. In the first and the third trial the microbial composition of the biofilm was evaluated. The results of these trials showed the importance of the biofilm and the use of extra substrates in *F. paulensis* nursery systems.

## **1 - INTRODUÇÃO**

### **1.1 – A Importância da Pesca e da Aqüicultura**

Apesar das flutuações de suprimento e demanda causadas pelas variações nos estoques dos recursos pesqueiros, as atividades de pesca e aqüicultura continuam sendo importantes fontes de alimento, emprego e recursos ao redor do mundo. Ao final da década de 90 estas atividades somadas foram responsáveis pela produção de cerca de 120 milhões de toneladas de organismos aquáticos por ano (FAO 2002). O número de empregos gerados por estas duas atividades em 1998 foi estimado em cerca de 36 milhões, sendo de 15 milhões em tempo integral, 13 milhões em meio turno e mais 8 milhões como trabalhadores ocasionais. Destes últimos, 25% foram gerados por atividades de aqüicultura e 75% em atividades de pesca. O volume de recursos gerados neste período foi estimado em mais de 50 bilhões de dólares/ano (FAO 2002).

Ao focarmos nosso interesse no desenvolvimento destas atividades, chama a atenção o fato das capturas por pesca terem se estabilizado nos últimos dez anos, enquanto a produção relacionada ao cultivo esta em ascensão. A pesca teve um grande impulso nas décadas de 50 e 60 crescendo em uma taxa de cerca de 6% ao ano, aumentando de 18 milhões de toneladas capturadas em 1950 para um total de 56 milhões de toneladas em 1969. Durante as décadas de 70 e 80 a taxa de crescimento ficou em torno de 2% ao ano, caindo para quase zero nos anos 90 (FAO 2002) (figura 1).

O volume total capturado em 1998 foi de 86 milhões de toneladas, abaixo dos 93 milhões de toneladas registrados em 1996 e 1997, os dados mais recentes da FAO (2002) apontam um total capturado em 1999 de 93,2 milhões, 94,8 milhões de toneladas capturadas em 2000 e uma estimativa de captura de 91,3 milhões de toneladas em 2001, dando sinais de recuperação das capturas em relação a 1998, mas também indicando que as oscilações devem permanecer dentro desta ordem, não demonstrando perspectivas de um grande aumento no montante total obtido por captura. Segundo Costa-Pierce (2002) a pesca tradicional não deve exceder a produção de 100 milhões de toneladas

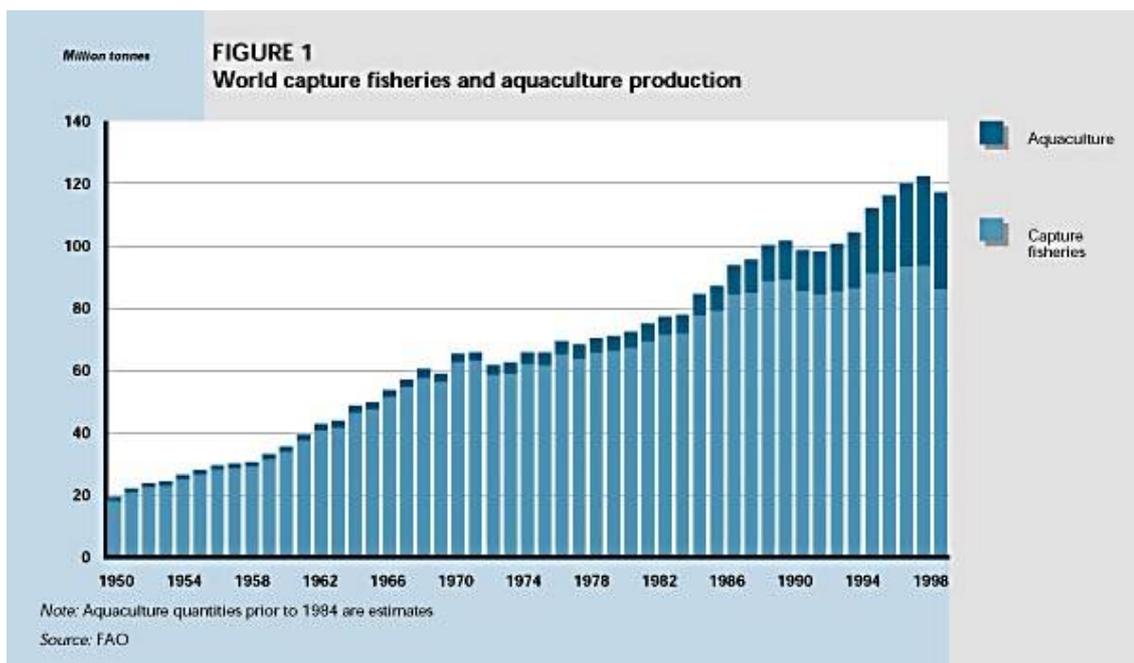


Figura 1- Produção mundial de pescado por captura e cultivo (Copiado de FAO 2000).

Esta estabilização dos números referentes à captura de pescado segue os padrões demonstrados na maioria das áreas pesqueiras mundiais, onde o potencial aparentemente alcançou o rendimento máximo sustentável. Dentre os fatores que contribuem para esta tendência, podemos salienta a sobrepesca sofrida por alguns estoques de importantes espécies, os efeitos ambientais como o fenômeno El Niño e a degradação ambiental que atinge principalmente espécies de água doce, rios, lagos, marismas e mangues, as quais perfazem menos de 1% da superfície global, mas são responsáveis por mais de 8% da produção de pescado (FAO 2002).

Em contraste, a aqüicultura cresceu cerca de 5% ao ano entre 1950 e 1969 e cerca de 8% ao ano durante as décadas de 70 e 80 aumentando sua taxa de crescimento para quase 10% nos anos 90, atingindo uma produção de mais de 30 milhões de toneladas em 1998 (figura 1) (FAO 2000). O crescimento da aqüicultura é maior do que qualquer outra forma de produção animal, como por exemplo à produção de carne bovina que teve uma taxa de 2,8% de crescimento anual nas últimas décadas (FAO 2002).

Entre os fatores que tem impulsionado o crescimento da atividade podemos destacar o crescimento populacional e conseqüente aumento da demanda por alimento. Segundo a FAO (2002), o consumo de pescado neste século deve alcançar 150–160

milhões de toneladas. A própria estabilização da produção por captura acaba se transformando em um incentivo para a aqüicultura.

Os dados mais recentes da FAO (2002), reportaram uma produção total originada de aqüicultura em 2000 de 45,7 milhões de toneladas avaliadas em US\$56,5 bilhões. O crescimento da produção das principais espécies continua a ser rápido não demonstrando tendências de diminuição.

Em 2000, mais da metade da produção foi originada de águas marinhas ou estuarinas. Apesar da produção originada de estuários representar apenas 4,6% da produção total por peso, ela compreende mais de 15,7% do valor total produzido, principalmente devido à produção de crustáceos e peixes de alto valor.

## **1.2 – A Carcinicultura no Mundo**

Segundo a FAO (2002), o camarão é a principal mercadoria em termos de valor econômico, representando cerca de 20% do valor total de produtos de pesca comercializados.

Em nível mundial o cultivo de camarão marinho teve seu crescimento acelerado nas duas últimas décadas principalmente nos países costeiros tropicais da Ásia e das Américas. Os fatores que estão impulsionando este crescimento são principalmente o aumento da demanda do produto no mercado mundial, sua alta rentabilidade e sua capacidade de geração de renda e empregos e de produzir divisas para apoiar o crescimento tecnológico dos países produtores. Além disso, a FAO tem registrado o declínio da produção de camarão por captura o que também contribui para a ascensão do produto cultivado (Rodrigues 2001).

A produção mundial de camarão cultivado cresceu de cerca 215.000 toneladas em 1985 para 865.000 toneladas no ano 2000, representando 43% do total produzido em todo mundo (cerca de 2 milhões de toneladas). Os países do oriente são responsáveis pela maior parte da produção de camarão cultivado no mundo, sendo o sudoeste da Ásia o principal centro produtor. No ano de 2000 a produção nesta região chegou a 750.000 toneladas representando 87% do total mundial. A Tailândia neste ano produziu 250.000 toneladas, mantendo sua posição de líder mundial, seguida pela China com 110.000

toneladas e a Indonésia com 100.000 toneladas. Ainda se destacam países como Filipinas, Vietnã, Taiwan, Índia e Bangladesh (Rodrigues 2001).

No Ocidente a produção em 2000 chegou a 115.000 toneladas sendo os principais produtores o Equador com 54.500 toneladas, Panamá, Peru e Colômbia. Brasil e México têm demonstrado acentuado crescimento com uma produção anual acima de 25.000 toneladas (Rodrigues 2001).

### **1.2.1 – A Carcinicultura no Brasil**

Em 1999 o crescimento da aqüicultura no Brasil foi de 35%, gerando cerca de US\$ 30 milhões devido, principalmente, as vendas para empresas de Pesque-pague e ao começo do processamento de peixes de cultivo. Em 2001, a produção total da aqüicultura brasileira foi de 204.000 toneladas (Roubach *et al.* 2003).

Por ser um país tropical que dispõe de ecossistemas estuarinos planos resultantes do encontro dos rios com a água do mar movida pelo regime de marés, o Brasil possui um extraordinário potencial para o cultivo de camarões (Rodrigues 2001).

A seguir serão descritos os processo pelos quais se deu o início da atividade de carcinicultura em nosso país, segundo Rodrigues (2001):

“Os primeiros passos em direção do cultivo de camarão marinho no Brasil foram dados na década de 70, quando o governo do Rio Grande do Norte criou o “Projeto Camarão”, que almejava estudar a viabilidade do cultivo como uma alternativa para a atividade de extração de sal, a qual enfrentava uma séria crise na época..

Entre 1978 e 1984 foi realizado o primeiro esforço organizado e orientado para a produção comercial de camarão, também uma iniciativa do governo do RN. A espécie *Marsupenaeus japonicus* foi importada e foram realizados trabalhos com o objetivo de adaptar esta espécie às condições locais. Neste período inicial predominaram os cultivos extensivos.

Apesar do sucesso inicial do cultivo do *M.japonicus*, ocorreu à falta de um plano mais abrangente de pesquisa e validações tecnológicas. Outro fator importante foi que este período inicial, quando foram obtidos resultados promissores do cultivo desta espécie, coincidiu com uma das estiagens mais prolongadas ocorridas no Nordeste. Quando a partir de 1984 a ocorrência de chuvas intensas causou amplas variações na

salinidade estuarina, ficaram evidentes as dificuldades para assegurar a viabilidade econômica do cultivo do *M. japonicus* e em 1986 foi descartada a possibilidade do cultivo desta espécie.

Apesar do insucesso desta fase inicial, estava criado o ponto de apoio para continuar desenvolvendo a carcinicultura comercial no Nordeste. Em uma segunda fase de tentativas foi dada atenção às espécies nativas (*Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus paulensis* e *Farfantepenaeus subtilis*). Também a partir desta fase foi iniciada uma semi-intensificação dos cultivos a partir do uso de densidades mais elevadas, maior renovação de água e ração.

Apesar dos esforços feitos durante dez anos de trabalho a produtividade média destas espécies não ultrapassou as médias de 400 a 600 kg/ha/ano, inviabilizando o cultivo em termos econômicos. O fator principal que causou isto foi à falta de rações que atendessem os requerimentos nutricionais destas espécies.

A terceira fase da carcinicultura brasileira aconteceu quando ainda na década de 80 foi introduzida a espécie *Litopenaeus vannamei*. Nos primeiros anos da década de 90 foram acentuados os trabalhos do cultivo desta espécie. O principal incentivo foi o êxito do cultivo do *L. vannamei* no Equador e Panamá onde foi demonstrada a capacidade desta espécie de se adaptar as condições de diferentes partes do hemisfério ocidental.

A partir do momento em que os laboratórios brasileiros dominaram a reprodução e larvicultura do *L. vannamei* e iniciaram a comercialização de pós-larvas na primeira metade da década de 90, as fazendas em operação ou semiparalisadas adotaram o cultivo desta espécie e obtiveram resultados satisfatórios, sendo correto afirmar que a partir de 1996 ficou demonstrada a viabilidade comercial de sua produção em nosso país.”

A produção de camarões marinhos no Brasil cresceu cerca de 83% entre os anos de 1997 e 2001, subindo de 3.600 toneladas para 40.000 toneladas/ano. A região nordeste é a maior produtora de camarão marinho do país, principalmente devido ao clima quente que possibilita o cultivo durante o ano inteiro. Em 2001 a produção no Nordeste foi de cerca de 37.000 toneladas representando 94% da produção nacional. A produtividade média atualmente nesta região é de cerca de 4.700 Kg/ha/ano demonstrando o uso de tecnologia avançada no setor. Esta tecnologia envolve o controle de todas as fases da produção, desde a produção das pós-larvas, passando pela utilização

de tanques de berçário até o manejo nos viveiros de engorda (Roubach *et al.*2003). Por outro lado, outros estados como Espírito Santo e Santa Catarina estão demonstrando com êxito a viabilidade técnica e econômica da carcinicultura comercial em suas áreas litorâneas, com elevadas taxas de produção (Rodrigues 2001).

Na região Sul, durante anos o cultivo de camarões marinhos esteve direcionado para espécies nativas, principalmente devido a sua capacidade de tolerar baixas temperaturas. Entretanto, o sucesso do cultivo destas espécies acabava por esbarrar na falta de um pacote tecnológico completo que garantisse a viabilidade econômica da produção. A principal restrição que limitou a produtividade das espécies nativas estava relacionada com a falta de alimentos que atendessem suas exigências nutricionais (Roubach *et al.*2003).

A partir do sucesso do cultivo de *L. vannamei* no Nordeste, produtores da região Sul, principalmente de Santa Catarina decidiram fazer uma aposta nesta espécie. Novamente o *L. vannamei* obteve êxito e a área de cultivo nesta região atualmente é de cerca de 800 ha. A maioria dos produtores se encontra no município de Laguna - SC, entretanto, os avanços na atividade de cultivo de camarão já estão atingindo o estado do Rio Grande do Sul, com as primeiras fazendas sendo projetadas e instaladas nos municípios de Rio Grande e São José do Norte (Roubach *et al.*2003).

Apesar do aspecto positivo que a expansão da carcinicultura traz na forma de maior geração de alimento rico em proteína e da conseqüente geração de recursos e empregos, é necessário que se adotem práticas as quais possibilitem o desenvolvimento desta atividade sem comprometer a boa qualidade ambiental, garantindo desta forma o futuro da mesma.

### **1.3 – Carcinicultura Sustentável**

Durante as últimas três décadas, a aqüicultura se expandiu, diversificou, intensificou e fez avanços tecnológicos. O potencial deste desenvolvimento para aumentar o fornecimento de alimento, diminuir a pobreza e melhorar as condições de vida nas áreas rurais tem sido bem reconhecido (FAO 2002).

Atualmente a carcinicultura vem sofrendo, tanto no Brasil como em todo o mundo, severas críticas, sendo acusada de ser uma atividade danosa ao meio ambiente.

Entre as principais acusações estão: ocupação de ecossistemas costeiros alagados e destruição de manguezais, alteração de fluxos hidrológicos em estuários, introdução de espécies exóticas, poluição química e orgânica, disseminação de enfermidades, entre outras (Rodrigues 2001, Ostrensky & Barbieri 2002).

Apesar de muitos destes impactos serem meramente especulativos, há inúmeros casos comprovados que parte desses efeitos podem realmente ocorrer e causar danos ao meio ambiente. Entretanto, na maioria das vezes estes problemas são causados pela falta de planejamento e gerenciamento por parte de alguns produtores e pela omissão das instituições governamentais envolvidas (Rodrigues 2001).

Existem exemplos ao redor do mundo de que, se conduzida apropriadamente, a carcinicultura marinha não é prejudicial ao meio ambiente (Rodrigues 2001). Portanto, o que se deseja como futuro para a atividade de carcinicultura em nosso país é o seu desenvolvimento sustentável, ou seja, um desenvolvimento que provê, a todos, os serviços econômicos e ambientais básicos, sem ameaçar a viabilidade dos sistemas natural, social e construído, dos quais estes serviços dependem (Ostrensky & Barbieri 2002).

O desenvolvimento de uma carcinicultura sustentável e responsável pode ser alcançado através da atuação organizada de técnicos e produtores qualificados comprometidos com o desenvolvimento de tecnologias ecologicamente apropriadas e economicamente viáveis, aplicáveis a situações específicas (Queiroz & Kitamura 2001).

Vinatea (1997) enfatiza a questão social, que não deve ser negligenciada quando se fala em “sustentabilidade”. Este autor apresenta como meta para o desenvolvimento da aqüicultura a idéia da divisão em três dimensões:

- Dimensão Social – geração de emprego com salário justo e inserção da comunidade no processo de desenvolvimento, respeitando a cultura local;
- Dimensão Ambiental – uso racional dos recursos naturais e desenvolvimento de tecnologias ecologicamente coerentes;
- Dimensão Econômica – adoção de critérios de economia ecológica no processo de produção e inclusão das externalidades no preço do produto para seu posterior repasse ao setor afetado.

Segundo New (1996), todos os usuários de recursos em comum deveriam estar representados para não só promover a produção de alimentos e divisas, mas discutir e tomar medidas que garantam a viabilidade das suas atividades. Este autor cita um estudo realizado na Ásia, onde foi traçado um “Plano de Ação para Sustentabilidade da Aqüicultura”. Neste documento estão mencionadas as principais medidas que deveriam ser adotadas pelo governo com o objetivo de priorizar o desenvolvimento da atividade baseado em medidas que garantissem as viabilidades ambientais, econômicas e sociais dos cultivos.

Os órgãos governamentais têm papel fundamental para a determinação de normas que regulem a instalação e funcionamento de sistemas de cultivo os quais visem não somente a geração de lucro, mas também tenham definida a sua função social, quer seja na geração de empregos ou na integração das comunidades adjacentes aos locais onde ocorrem os cultivos. Cabe a eles determinar através de zoneamento áreas passíveis de utilização para a carcinicultura, monitoramento ambiental e controle sanitário e penalização daqueles produtores que não respeitarem as normas estabelecidas. Ao setor privado cabe a implementação de códigos de conduta que preconizem procedimentos e práticas ambientalmente responsáveis.

Gomes (2000) cita que a pressão exercida sobre os produtores para proteger o meio ambiente e a necessidade econômica de um menor uso de água e energia devem funcionar como um incentivo para a utilização de práticas de produção que enfatizem o cultivo da água e a manutenção da sua estabilidade, as quais vão beneficiar tanto os produtores quanto o meio ambiente.

Dentro desta ótica, a pesquisa científica vem buscando o desenvolvimento de técnicas as quais propiciem uma capacidade de produção sustentável e que esteja ao acesso dos produtores. Paiva (2001) sugere uma série de pesquisas com o objetivo de desenvolver o cultivo do camarão marinho de maneira responsável, em uma tentativa de dissociar ao desenvolvimento da carcinicultura com a degradação do meio ambiente entre elas, destacamos:

- Avaliação do potencial do cultivo semi-intensivo de espécies nativas;
- Avaliação das possibilidades de recirculação plena de água nas fases de berçário e engorda dos cultivos semi-intensivos através do uso de

substratos artificiais e da reciclagem de nutrientes com o emprego de moluscos, peixes filtradores e plantas aquáticas;

- Estudos sobre o desenvolvimento e aplicação de probióticos em larvicultura e nos viveiros de produção;
- Estratégias de alimentação e o equilíbrio da produtividade natural com o objetivo de reduzir custos e o impacto ambiental.

Com base nesta última colocação, discutiremos no próximo item, a importância da utilização do alimento natural.

#### **1.4 – A Importância do Alimento Natural nos Sistemas de Cultivo**

Um dos maiores obstáculos enfrentados para a produção de organismos aquáticos é a utilização de rações artificiais, pois seus custos perfazem cerca de 50–60% dos custos totais da produção. Além disso, no cultivo de camarões apenas cerca de 15-30% do alimento fornecido se converte em biomassa dos organismos cultivados, o restante acaba sendo perdido para os sedimentos, efluentes e a atmosfera (Ostrensky & Barbieri 2002, Horowitz & Horowitz 2001). Este fato muitas vezes pode causar severos danos ao meio ambiente, através da eutrofização dos corpos de água naturais, que recebem os efluentes e também degradando o sedimento do próprio local do cultivo (Ostrensky & Barbieri 2002, Boyd 1999).

Alguns estudos já determinaram que, mesmo em sistemas de cultivo semi-intensivos e intensivos, o alimento natural contribui significativamente para o crescimento dos organismos cultivados (Wyban & Sweeney 1991, Hennig & Andreatta 1998, Moriarty 1997). Anderson *et al.* (1987) determinaram que de 53 a 77% do crescimento de *L. vannamei* cultivado em viveiros foi devido à ingestão do alimento natural disponível.

Segundo Lawrence & Lee (1997), quanto maior a intensificação do cultivo, menor deve ser a contribuição do alimento natural, entretanto esta contribuição não deve nunca ficar abaixo dos 25%. Como exemplo da importância do alimento natural estes autores citam um experimento onde He & Lawrence (1993) obtiveram baixas

taxas de sobrevivência (<50%) cultivando camarões em laboratório com uma ração sem vitamina C, enquanto que utilizando o mesmo tipo de ração para o cultivo em viveiros, onde havia disponibilidade de alimento natural, foram produzidas mais de 6 ton./ha com uma sobrevivência acima de 80%.

Com o objetivo de aumentar a disponibilidade de alimento natural, a fertilização é largamente utilizada, pois estimula a produção de organismos autotróficos e heterotróficos incrementando a cadeia alimentar nas unidades de produção e, conseqüentemente, aumentando a produção dos organismos cultivados.

#### **1.4.1 – O Papel dos Microorganismos na Aqüicultura**

Segundo Horowitz & Horowitz (2001), os microorganismos são fundamentais para a aqüicultura, eles estão presentes no sedimento, na água e em outros substratos presentes nas unidades de cultivo assim como nos próprios organismos cultivados. Segundo estes autores, os microorganismos podem ter efeitos positivos e negativos nos resultados obtidos nos cultivos. Entre os efeitos positivos destacam-se a eliminação de compostos nitrogenados tóxicos como a amônia, a degradação de restos de alimento não consumido e o papel nutricional desempenhado pelos microorganismos, entre os efeitos negativos citados estão às enfermidades causadas por bactérias e vírus, a produção de amônia e o consumo excessivo de oxigênio.

Moriarty (1997) descreveu a função dos microorganismos nas cadeias alimentares aquáticas salientando sua importância como parte da dieta dos organismos cultivados. Neste trabalho o autor cita que as bactérias podem ser ingeridas diretamente pelas espécies cultivadas ou indiretamente através do consumo de protozoários presentes nos viveiros de cultivo que se alimentam das bactérias.

Montoya & Velasco (2001) sugerem que os aquacultores podem se beneficiar do manejo da comunidade microbiana presente nas unidades de cultivo para reduzir os níveis de nutrientes na ração oferecida, diminuir o consumo de água e melhorar a qualidade do ambiente de cultivo.

Horowitz & Horowitz (2001) destacam que as bactérias e microalgas podem utilizar o alimento desperdiçado pelos camarões cultivados com alta eficiência, e que estes microorganismos se convertem em alimento para os camarões, portanto através de

um manejo alimentar correto, o aproveitamento geral da alimentação fornecida é incrementado permitindo um melhor retorno econômico e diminuindo a quantidade de Nitrogênio e Fósforo descarregado, desta forma protegendo o meio ambiente.

Thompson *et al.* (1999), demonstraram que microorganismos como bactérias, ciliados e flagelados podem representar uma importante fonte de alimento para larvas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*. Neste trabalho, os autores destacam que a importância das bactérias como fonte alimentar se deve às maiores concentrações de N e P por volume celular, entretanto sua captura pelas larvas nem sempre é possível devido ao seu tamanho reduzido (0,5 – 1,5 µm de comprimento).

Para serem melhor consumidas as bactérias devem formar agregados ou se fixarem em outras partículas (Conover 1982). Bianchi *et al.* (1990) atribuíram 70-80% do ganho de peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado sob condições de laboratório à ingestão de flocos bacterianos.

Por outro lado, as bactérias são consumidas por nanoflagelados e pequenos ciliados e, desta maneira, enriquecem as cadeias tróficas com energia e matéria orgânica que acaba sendo transferida para os níveis tróficos mais elevados (Sherr & Sherr 1984).

Avnimelech (2000) determinou que a presença de microorganismos nos tanques de cultivo aumenta a eficiência da conversão protéica de 20-25% para cerca de 45%, pois estes convertem o nitrogênio inorgânico presente na água e os disponibilizam na forma de proteína microbiana que é ingerida pelos organismos cultivados.

#### **1.4.2 A Utilização do Biofilme em Sistemas de Cultivo**

Exemplos de estratégias para aumentar a produção primária em sistemas extensivos e semi-extensivos como alternativa ou complemento para o alimento artificial que tem obtido bons resultados são os métodos “Acaja” para produção de peixes no oeste africano (Shresta & Knud-Hansen 1994, Welcome 1972 *apud* Keshavanath *et al.* 2001) e o método “Katha” utilizado por pescadores de Bangladesh e da Índia (Wahab & Kibria 1994 *apud* Keshavanath *et al.* 2001) . Estes métodos se baseiam na colocação de substratos artificiais ou até mesmo naturais, como galhos de árvores, em águas rasas com o intuito de criar substratos para o desenvolvimento de biofilme, o qual é consumido pelos peixes que ali se refugiam. Azim *et al.* (2001)

demonstraram um incremento na produção do peixe de água doce *Labeo rohita* com a utilização de bambus para aumentar o substrato disponível para fixação de biofilme e, conseqüentemente, a produção primária dos viveiros de cultivo.

Ramesh *et al.* (1999) definem o biofilme fixado em superfícies submersas como "uma complexa comunidade composta por organismos autotróficos e heterotróficos tais como bactérias, protozoários, fungos e algas envolvidas por uma matriz extracelular de polisacarídeos secretada pelas bactérias".

Segundo Whal (1989), o biofilme se forma em qualquer superfície úmida seguindo um padrão de colonização no qual podem ser distinguidas 4 fases:

- adsorção de compostos químicos dissolvidos (macromoléculas) às superfícies (processo físico e espontâneo);
- colonização bacteriana;
- colonização por eucariontes unicelulares;
- colonização por eucariontes multicelulares.

Inicialmente a formação do biofilme se dá por processos predominantemente físicos como microturbulência, gravidade, difusão e movimentação própria, mas ao longo do tempo os processos biológicos prevalecem (Thompson 1999).

Abreu *et al.* (1998), aplicando conceitos de ecologia microbiana aquática no cultivo de larvas e juvenis de *Farfantepenaeus paulensis*, verificaram a importância dos microorganismos presentes no biofilme (bactérias, ciliados e flagelados) na alimentação, na manutenção da qualidade da água e também no controle de patógenos. Segundo estes autores, os microorganismos representam uma fonte substancial de nitrogênio e fósforo para os camarões cultivados, além de apresentarem na sua composição nutrientes essenciais como ácidos graxos poliinsaturados, esteróis e aminoácidos essenciais.

Wasielesky (2000) obteve maior crescimento de juvenis de *F. paulensis* cultivados em gaiolas expostas a maior luminosidade, onde a quantidade de alimento na forma de biofilme foi superior em relação à gaiolas onde foi limitada a luminosidade e conseqüentemente a disponibilidade de biofilme foi menor. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos (2003) que determinou que juvenis de *F. paulensis* cresceram mais em gaiolas onde o crescimento de biofilme não foi limitado em relação

àqueles camarões cultivados sob condições de limpeza das gaiolas, portanto limitando o crescimento do biofilme.

Thompson *et al.*(2002) demonstraram a melhoria da qualidade da água no cultivo de pós-larvas de *F. paulensis* em tanques-berçário onde foi estimulado o crescimento de biofilme em relação aos controles onde o biofilme era limitado. Neste mesmo trabalho os autores detectaram um crescimento significativamente maior ( $p<0,05$ ) dos camarões cultivados em tanques com biofilme.

Langis *et al.* (1988) observaram que a presença de biofilme aumentou a produtividade do microcrustáceo *Daphnia magna*, e que este efeito era ampliado quando introduzidos, nos tanques de cultivo, substratos extras para aumentar a superfície de fixação do biofilme. Estes autores sugerem que, além do papel nitrificante, o biofilme estaria fornecendo energia, vitaminas e ácidos graxos.

Tidwell *et al.* (1998, 1999, 2000 & 2002) utilizando substratos extras no cultivo do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, obtiveram taxas de conversão alimentar menores e relacionaram este resultado a presença de maior quantidade de alimento natural na forma de perifiton aderido aos substratos.

### **1.5 – O Cultivo em Estruturas Alternativas**

Segundo Currie (2001), a maioria (97%) do crescimento populacional acontece nos países em desenvolvimento, justamente os mesmos países aonde a provisão básica de alimentos vem diminuindo. De acordo com este autor, cerca de 20% da população dos países em desenvolvimento tem problemas com a obtenção de alimento. Neste mesmo trabalho, Currie salienta que os modelos de aquicultura com maior chance de beneficiar a esta parcela mais pobre da humanidade podem ser divididos em duas categorias principais: aqueles que geram emprego para os pobres e os que melhoram a provisão de alimentos.

Os cultivos convencionais são normalmente realizados em tanques ou viveiros, com gastos muito elevados, atingindo quantias de centenas de milhares ou até milhões de dólares (Wasielisky 2000), estando muito além do alcance econômico das camadas mais pobres da população.

Com o objetivo de criar condições que possibilitem a inserção de comunidades de baixa renda nas atividades de cultivo, diferentes instituições do Brasil e do mundo dedicam-se a pesquisar modos alternativos de cultivo (Vinatea 1997).

O cultivo alternativo ou não convencional de camarões tem como características básicas ser uma atividade economicamente viável para comunidades de pescadores artesanais, praticamente não alterar a paisagem original das regiões costeiras e ter um baixo impacto ambiental pois utiliza o próprio ambiente natural, gerado e posteriormente reciclado pela própria natureza (Vinatea 1997).

O cultivo realizado em estruturas alternativas como gaiolas e cercados tem sido utilizado em alguns países asiáticos como Tailândia, Filipinas, Singapura, Indonésia e Índia (Peña & Prospero 1984, Vinatea 1997), o emprego destes métodos faz com que o custo de produção seja significativamente reduzido, possibilitando o cultivo por parte de populações ribeirinhas, principalmente pescadores artesanais.

Estes métodos de cultivo estão fundamentados em práticas ancestrais de operação doméstica de cultivo de peixes na Ásia, as quais, provêm uma base sobre a qual pode ser desenvolvido um ramo da aquicultura dirigida para o provimento de alimentos para as camadas mais pobres da população. O cultivo doméstico em estruturas construídas junto às habitações de populações ribeirinhas além de fornecer alimento de alta qualidade protéica o qual seria de difícil acesso à população de baixa renda também já provou ser um sistema sustentável por centenas de anos em países asiáticos. Se por um lado são necessárias as disseminações de técnicas simples a um público amplo, por outro a ciência deve se aproveitar desta aquicultura “ancestral” para com ela entender como é possível a produção em acordo com a manutenção da qualidade ambiental (Currie 2001).

Segundo Ostrensky & Barbieri (2002) e Wasielesky (2000), além da diminuição dos custos de instalação e produção, outros benefícios trazidos pela utilização de gaiolas e cercados para o cultivo de peixes e camarões em corpos de água naturais são:

- possibilidade da expansão das unidades de cultivo em módulos;
- maior controle da produção;
- possibilidade de cultivo em pequenas áreas costeiras onde não seria possível a instalação de viveiros;

- aproveitamento da produtividade natural, eliminando a necessidade de fertilização;
- no caso das gaiolas, grande facilidade na despesca.

### **1.6 – O Estuário da Lagoa dos Patos**

Na planície costeira do Rio Grande do Sul encontra-se a Lagoa dos Patos, com um comprimento de 279km e uma largura máxima de 57km, totalizando uma área de 10369 km<sup>2</sup>, a qual constitui-se na maior laguna da América Latina (Kantin 1983). A porção estuarina da laguna (figura 2) cobre cerca de 10% de sua área total (Bemvenuti 1983).

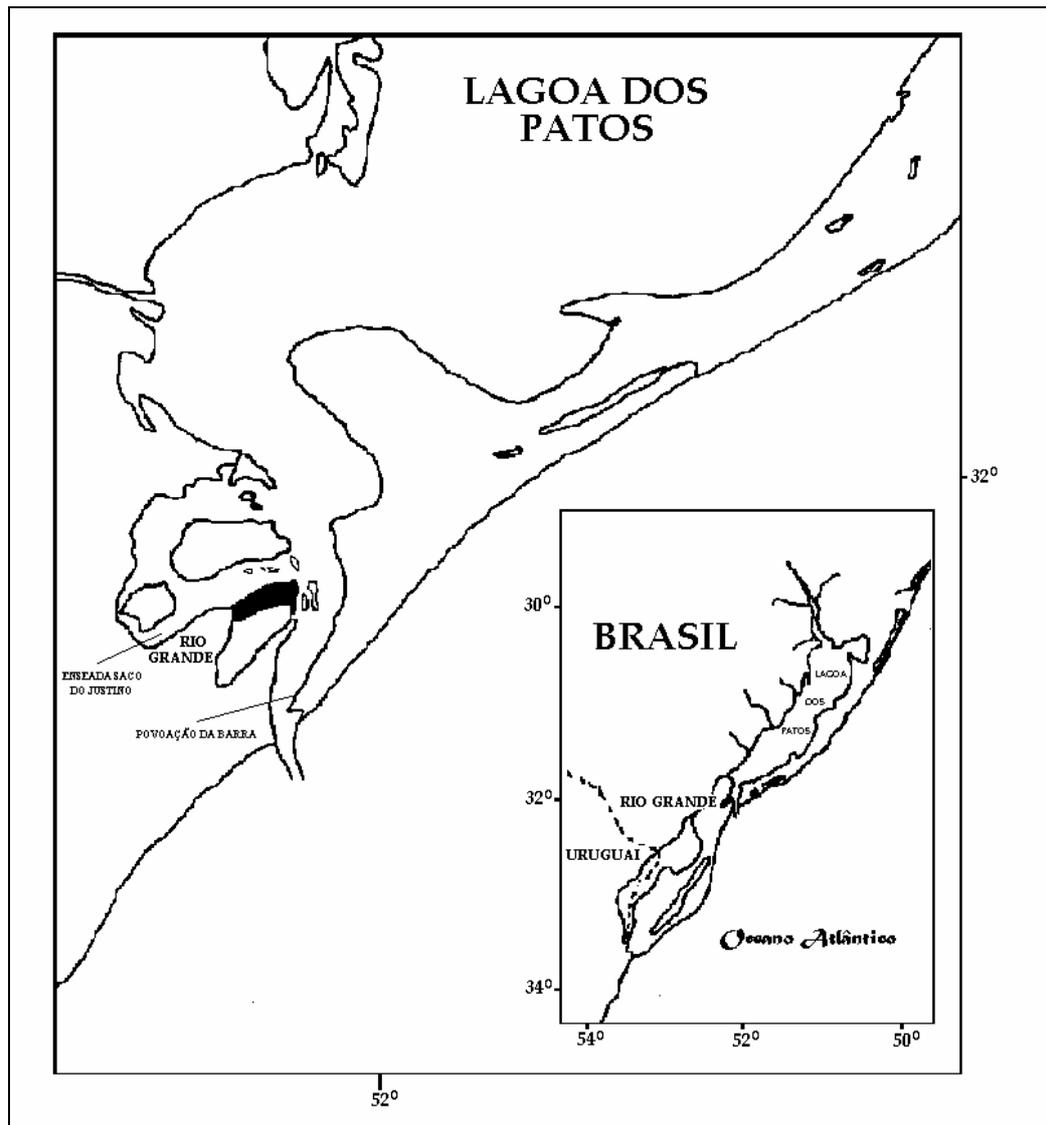


Figura 2 – Localização do estuário da Lagoa dos Patos.

Segundo Wasielesky (2000) o estuário da Lagoa dos Patos possui uma série de características que possibilitam a implementação de cultivos alternativos:

- ventos praticamente constantes que mantêm as concentrações de oxigênio sempre próximas da saturação;
- águas ricas em nutrientes com uma grande produtividade primária, a qual se estende para os outros níveis tróficos;
- circulação que favorece as renovações de água nas estruturas, sendo que o estuário como um todo apresenta um baixo tempo de residência, evitando então o acúmulo de produtos da excreção dos organismos cultivados;

- sedimentos areno-lodosos onde são encontradas densidades elevadas de organismos bentônicos que podem servir de fonte alimentar para os organismos cultivados.

### **1.7 – O Projeto Camarão da FURG**

Dentro deste contexto de cultivo sustentável e da geração de recursos e alimento de alta qualidade protéica, pesquisadores da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG, vêm elaborando, desde 1994, um pacote tecnológico para o cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em estruturas alternativas de baixo custo - gaiolas e cercados.

O camarão-rosa *F. paulensis* é uma espécie nativa da América do Sul a qual distribui-se entre Ilhéus no estado da Bahia - Brasil (14°50'S) e Mar Del Plata – Argentina (38°30'S) ( D’Incao 1995). A pesca artesanal do camarão-rosa no estuário da Lagoa dos Patos representa um recurso de alto valor econômico para a região (D’Incao 1991).

A sobrepesca sofrida pelos estoques naturais de reprodutores desta espécie na região Sudeste/Sul do Brasil e a utilização de arrastos ilegais no estuário, têm levado a grandes flutuações das safras anuais provocando desemprego e diminuindo significativamente a renda dos pescadores artesanais e pequenos agricultores ligados ao setor (D’Incao 1991, Valentini *et al.*1991, Marques 1997). É justamente este o público alvo que o projeto da FURG visa beneficiar pois estas flutuações chegam a ser de 0 a 8000 toneladas/ano (figura 3).

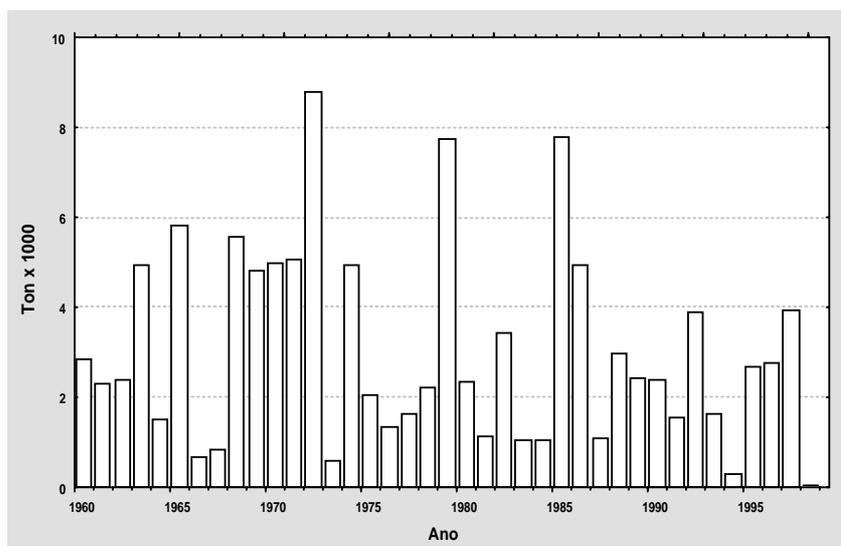


Figura 3 - Produção do camarão-rosa pescado no estuário da Lagoa dos Patos (copiado de Wasielesky 2000)

Neste sentido, já foram realizadas diversas pesquisas que vão desde a indução à maturação dos reprodutores até a engorda dos camarões em gaiolas, viveiros e cercados (Cavalli *et al.* 1997, Cavalli *et al.* 1998, Wasielesky *et al.* 1999 & Wasielesky *et al.* 2001).

Apesar do projeto já ter obtido resultados muito satisfatórios através do cultivo em cercados em parceria com pescadores da Ilha dos Marinheiros onde já foram colhidas safras de mais de 500 Kg por cercado (figura 4), as pesquisas continuam buscando o aprimoramento das técnicas de produção.



Figura 4 – Cercado utilizado para o cultivo do camarão-rosa no estuário da Lagoa dos Patos. Notar gaiola montada internamente utilizada na fase de berçário.

Na etapa de berçário, ainda existem algumas lacunas a serem preenchidas para estabelecer as melhores condições para o crescimento dos pós-larvas. A fase de berçário

é uma fase intermediária entre a larvicultura (cultivo de larvas a partir do estágio de náuplios até atingirem o estágio de pós-larva) e a engorda (cultivo de juvenis até atingirem o tamanho comercial).

Esta fase do cultivo caracteriza-se pela utilização de altas taxas de renovação de água, elevadas densidades de estocagem e fornecimento de alimento inerte (Speck *et al.* 1993), visando à produção de camarões maiores e mais resistentes, os quais geralmente atingem uma maior sobrevivência e maior tamanho, proporcionando um menor período de cultivo (Apud *et al.* 1983, Seiffert *et al.* 2003, Sturmer *et al.* 1992). Segundo Tsuzuki *et al.* (2000) pós-larvas maiores são mais tolerantes à mudanças abruptas das condições ambientais típicas das regiões estuarinas. Além disso, e tem maior capacidade de fuga de eventuais predadores existentes nos viveiros (Rodriguez *et al.* 1993, Silva & Cavalli 1999, Sturmer *et al.* 1992).

Além das vantagens citadas acima a utilização de uma fase de berçário também proporciona um melhor gerenciamento da produção e gera um aumento da rentabilidade do sistema de cultivo devido a maior eficiência e previsibilidade do sistema através da regulação do fluxo de Pós-larvas (PLs) para povoamento das unidades de engorda, melhor capacidade de avaliação dos estoques adquiridos, maior controle sobre patógenos, maior controle sobre o sistema de alimentação e homogeneização das características zootécnicas dos camarões, o que é altamente positivo no sentido de produzir camarões com tamanho semelhante os quais são mais valorizados no momento da comercialização (Nunes 2002, Seiffert *et al.* 2003).

Mesmo em sistemas alternativos de cultivo, onde o grau de intensificação não é tão elevado, a utilização de um sistema de berçário é bastante positiva principalmente se levarmos em conta que em estruturas montadas diretamente em corpos de água naturais, como os cercados, dificilmente é possível a eliminação total dos predadores. Também quando o cultivo é realizado em zonas de clima subtropical, como é o caso da região Sul do Brasil, a utilização de um sistema de berçário pode permitir um melhor aproveitamento do período de cultivo, que é restrito aos meses mais quentes do ano.

A utilização de gaiolas-berçário instaladas diretamente dentro dos viveiros ou cercados onde os camarões serão cultivados traz ainda algumas vantagens extras:

- os camarões não sofrem maiores manipulações no momento da liberação para o ambiente de engorda, além de já estarem perfeitamente adaptados às condições ambientais do local;
- diminuem-se os gastos com as atividades de manutenção no laboratório, *i.e.* renovação e aquecimento da água;
- incremento da disponibilidade de alimento natural para o crescimento dos camarões, *i.e.* biofilme.

## 2 - OBJETIVOS

Considerando-se os aspectos de sustentabilidade ambiental e geração de recursos para comunidades ribeirinhas foram realizados três experimentos com o objetivo de aprimorar as técnicas de cultivo do camarão-rosa *F. paulensis* em estruturas alternativas através de um maior aproveitamento do alimento natural na forma de biofilme.

### 2.1 – Objetivos Específicos:

- Testar a capacidade de fixar biofilme de alguns tipos de substratos com potencial para serem utilizados por produtores de camarão, levando em consideração o seu custo e disponibilidade;
- Avaliar a influência do biofilme formado nas panagens das gaiolas-berçário sobre a sobrevivência e o crescimento de juvenis do camarão-rosa *F. paulensis* cultivados em uma região estuarina rasa da Lagoa dos Patos;
- Avaliar a influência do aumento da superfície para formação de biofilme sobre a sobrevivência e crescimento de juvenis do camarão-rosa *F. paulensis* cultivados em uma região estuarina rasa da Lagoa dos Patos;
- Caracterizar os microorganismos presentes no biofilme;
- Avaliar a influência da presença dos camarões nas estruturas de cultivo sobre a composição do biofilme.

### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Local dos Experimentos

Os experimentos foram realizados na enseada Saco do Justino – Rio Grande - RS (figura 5). Esta enseada, de aproximadamente 2km de diâmetro e superfície de cerca 250 ha (Marchiori *et al.* 1982) está localizada na região estuarina da Lagoa dos Patos, onde se encontra uma unidade de campo do Laboratório de Maricultura da FURG. Esta área foi cedida pelo Governo do Estado do Rio Grande do Sul à FURG no ano de 1995, sendo destinada a pesquisas na área de cultivo de organismos aquáticos.



Figura 5 – Vista panorâmica da enseada estuarina Saco do Justino – Rio Grande.

Segundo Marchiori *et al.* (1982), este local apresenta características ideais para o cultivo de peixes e crustáceos:

- águas rasas com profundidade máxima de 1,5m em sua parte central;
- fundo constituído principalmente por sedimentos arenosos e arenoso-lodosos;
- pH alcalino com valores médios em torno de 8;
- oxigênio dissolvido próximo ao ponto de saturação;
- alta concentração de nutrientes;
- elevada produção primária e secundária.

## 3.2 – Delineamento Experimental

### 3.2.1 – Experimento 1

Neste experimento foram avaliados alguns tipos de panagens quanto a sua capacidade de fixação biofilme. Os materiais avaliados foram: telas de polietileno (PE) de cores verde e branca com abertura de malha de 1mm do tipo utilizada na construção civil ou mesmo para uso doméstico, sacos de alinhagem (SA) do tipo utilizado para embalar ração de camarão, redes de pesca de poliamida (RP) com abertura de malha de 12mm do tipo utilizado para a pesca local de camarões, e telas de poliéster revestido de PVC (POL) com abertura de malha de 1,5 e 5mm do tipo utilizado em gaiolas e cercados de cultivo (figura 6).

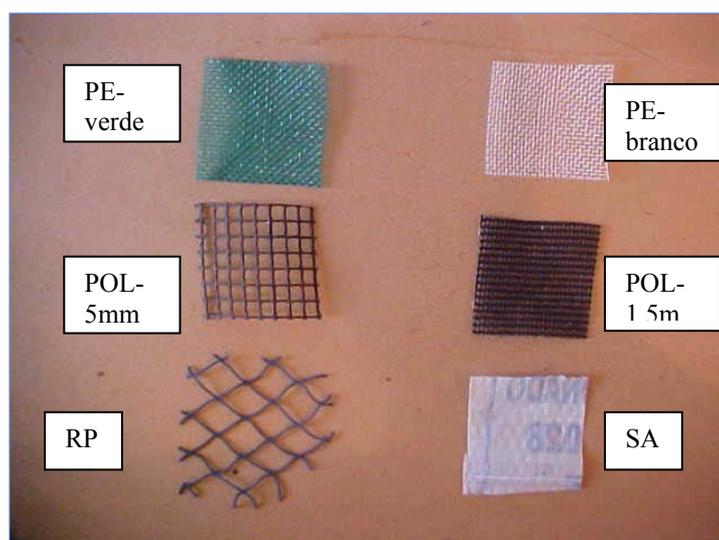


Figura 6 - Substratos testados quanto à capacidade de fixação de biofilme: PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestida de PVC, SA – saco de alinhagem e RP – rede de pesca de poliamida.

Os materiais avaliados neste experimento foram escolhidos levando em consideração seu baixo custo, durabilidade e disponibilidade para produtores de baixo poder aquisitivo da região do estuário da Lagoa dos Patos, conforme determinado por Wasielesky (2000) em experimentos onde estes materiais foram utilizados para construção de gaiolas e cercados de cultivo. (Tabela 1).

Tabela 1 – Preço e durabilidade média dos diferentes substratos testados quanto à capacidade de fixação de biofilme. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestida de PVC e RP – rede de pesca de poliamida.

Substrato	Preço (US\$/m <sup>2</sup> )	Durabilidade (anos)*
SA	ND	ND
PE (1mm)	0,50	0,5
POL (1,5mm)	3,00	5
POL (5mm)	2,00	5
RP (12mm)	1,50	2

\*Fonte: Wasielesky (2000)

ND = não determinado

Para avaliar a capacidade de fixar biofilme destes substratos, superfícies de 1x1m de cada material foram colocadas imersas na enseada estuarina Saco do Justino durante 28 dias. Estas superfícies foram fixadas a bambus, na parte superior que funcionava como um flutuador e lastros de chumbo na parte inferior para manter os substratos na posição vertical (figura 7).

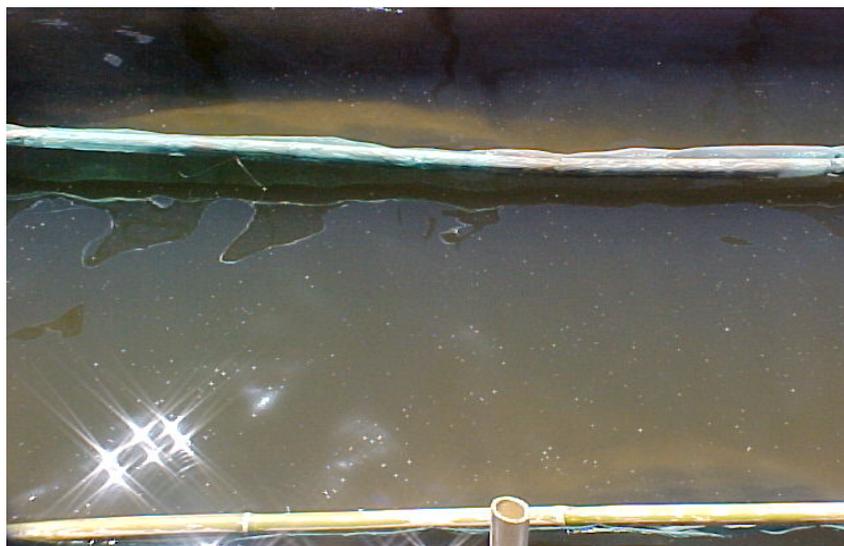


Figura 7 – Panagens fixadas a flutuadores e submersas na enseada Saco do Justino.

A fixação de biofilme foi avaliada através de amostragens semanais nas panagens para determinar os níveis de concentração de clorofila *a*. Além disso, foram retiradas amostras para caracterizar e contar os principais tipos de microorganismos presentes nos diferentes substratos e também quantificar o número de bactérias aderidas a cada tipo de substrato.

Para avaliar a concentração de clorofila *a*, semanalmente eram cortados três pedaços de 3x3cm de cada tipo de substrato, a 20cm da superfície da água, esta

profundidade foi escolhida baseada nos resultados de Santos (2003). A extração do pigmento fotossintético ocorreu em frascos contendo 20ml de acetona 90% (Merck<sup>®</sup> PA), no escuro, a -12°C por 24 horas. A concentração da clorofila *a* foi determinada por espectrofotometria (Strickland & Parsons 1972), utilizando-se cubeta com 1cm de trajeto ótico em um espectrofotômetro digital B 342 II-Micronal, determinando-se as absorvâncias nos comprimentos de onda 630 e 664 nanômetros. O cálculo das concentrações foi realizado utilizando as equações propostas por Jeffrey & Humphrey (1975).

Para contagem de bactérias, diatomáceas, ciliados, cianobactérias e nematódeos foram retiradas, no 14º dia de experimento, amostras de 3x3cm de cada tipo de substrato, sendo este material fixado em solução de formol (4%).

Para retirar e homogeneizar o biofilme aderido as panagens foi utilizado um aparelho de ultrassom (Ultrasonic Homogenizer 4710 Series, ColeParmer Instrument Co.) na amplitude de 20Khz de 6 a 8 vezes em intervalos de 15 a 20 segundos seguidos por 15 a 20 segundos de descanso para evitar aquecimento da amostra.

Para contagem de bactérias, subamostras de 1ml foram filtradas em membrana de polycarbonato (Nuclepore – 0,2µm de poro, diâmetro 25mm) previamente escurecidos com Irgalan black e corados com DAPI 1% na concentração final de 10 µg/mL (Hobbie *et al.* 1977). Foram contadas as bactérias de 30 campos por lâmina escolhidos aleatoriamente, utilizando-se o programa de imagens Image Tools (University of Texas) e fotografias obtidas utilizando-se uma câmera VATEC P&B (0,001 Lux) acoplada a um microscópio de epifluorescência Zeiss Axioplan, equipado com conjunto de filtros de luz 487703 (BP365/11; FT 395; LP 397). com magnificação final de 1000x.

Para caracterização e contagem de diatomáceas, ciliados, cianobactérias e nematódeos, subamostras de 0,1ml foram levadas à câmara de sedimentação onde permaneceram por no mínimo 18 horas para posterior contagens. Foram contados dez campos por câmara, escolhidos aleatoriamente, utilizando microscópio invertido Zeiss Axiovert equipado com contraste de fase, a uma magnificação final de 200x (Utermöhl 1958).

A análise estatística dos dados referentes às médias de concentração de clorofila *a*, contagem de bactérias, diatomáceas, ciliados, cianobactérias e nematódeos nas

diferentes panagens avaliadas neste experimento foi realizada através de análise de variância (ANOVA – one way,  $\alpha=0,05$ ) quando os dados tiveram confirmado a homocedasticidade das suas variâncias e a normalidade da sua distribuição através do teste de Lévene e do teste K-S, respectivamente (Sokal & Rohlf 1969). Nos casos em que os dados não satisfizeram as premissas para aplicação da ANOVA, foi utilizada a transformação das variáveis através de um fator constante. Quando mesmo assim as premissas não puderam ser cumpridas foi realizada a análise através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ). Em todas as análises estatísticas foi utilizado o pacote Statistica 5.1 (Statsoft, Inc., 1998).

A partir dos resultados encontrados foi selecionado o tipo de panagem para utilização nos outros experimentos.

### **3.2.2 – Experimento 2**

Este experimento teve como objetivo avaliar a influência do biofilme fixado nas panagens de gaiolas-berçário sobre a sobrevivência e o crescimento dos juvenis de *F. paulensis*. As gaiolas usadas foram confeccionadas em poliéster revestido de PVC com abertura de malha de 1,5mm, 1,20m de altura e uma superfície de 4m<sup>2</sup> de fundo.

O experimento consistiu em dois tratamentos: tratamento LB – limitação de biofilme e tratamento B - biofilme. No tratamento B, três gaiolas foram colocadas na água quinze dias antes da estocagem, para permitir a prévia formação do biofilme, conforme recomendado por Santos (2003). No tratamento LB, outras três gaiolas foram colocadas na água no dia da estocagem dos camarões e foram trocadas a cada dez dias, para limitar a formação de biofilme, simulando a situação onde existe um manejo de limpeza das gaiolas. Com o objetivo de minimizar a manipulação dos camarões durante a troca das gaiolas, uma nova gaiola era colocada ao redor da que estava em uso, esta então era solta e retirada, portanto, em nenhum momento os camarões eram retirados da água. Nos dois tratamentos foram colocados internamente às gaiolas substratos de tela de polietileno verde (selecionada com base nos resultados do experimento 1) verticais na coluna d'água, para isolar o efeito causado pela maior distribuição dos camarões quando da presença de substratos extras para fixação de biofilme, o que acaba gerando uma diminuição relativa da densidade do cultivo (figura 8). Estes substratos eram

fixados a bambus na parte superior, que funcionava como um flutuador, e a lastros de chumbo na parte inferior, mantendo o substrato completamente imerso. A área total colocada por gaiola foi de 8m<sup>2</sup>, proporcionando um aumento de cerca de 100% de superfície para fixação do biofilme. No tratamento LB estes substratos eram lavados no mesmo dia da troca das gaiolas. A densidade de estocagem foi de 300 camarões/m<sup>2</sup> de fundo (PL 25, peso médio inicial 14±6,2mg). O período experimental foi de 45 dias, sendo o cultivo dos camarões realizado nos últimos 30 dias.

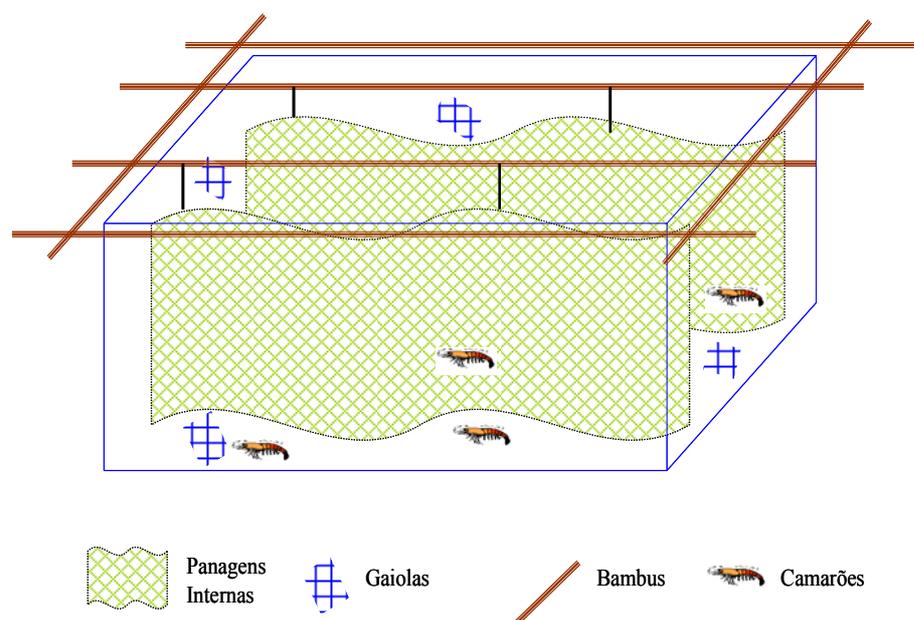


Figura 8 – Esquema ilustrativo das gaiolas utilizadas no experimento 2.

Durante os trinta dias de cultivo, os camarões foram alimentados diariamente com ração para berçário Camaronina Purina<sup>®</sup>. Os níveis de garantia desta ração segundo o fabricante são: 40% de proteína (mínimo), 13% de umidade (máximo), 8% de extrato etéreo (mínimo), 6% de fibras (máximo) 13% de cinzas (máximo), 3% de cálcio (máximo) e 0,7% de fósforo (mínimo). Esta ração é complementada com vitaminas e minerais. A taxa de arraçoamento utilizada foi de 50% da biomassa nos primeiros dez dias, 20% da biomassa do décimo primeiro ao vigésimo dia e 10% da biomassa do vigésimo primeiro ao trigésimo dia, conforme recomendado para esta espécie nas mesmas condições de cultivo por Wasielesky (2000).

Para avaliar a fixação de biofilme nas unidades de cultivo, foram cortados, no dia da estocagem e a cada dez dias durante o período de cultivo, dois pedaços de 3x3cm dos substratos colocados em cada gaiola a 20cm da superfície da água e determinada a

concentração de clorofila *a* seguindo a mesma metodologia descrita para o experimento 1.

No mesmo dia da estocagem dos camarões foi realizada uma pesagem inicial de 100 camarões oriundos de um tanque de larvicultura de onde foram retirados todos os animais utilizados para o experimento. Durante o período de cultivo foram realizadas pesagens, a cada dez dias, com o objetivo de avaliar o crescimento dos camarões em peso úmido. Nestas eram pesados 50 camarões de cada gaiola, os quais eram devolvidos às suas respectivas unidades experimentais. A taxa de sobrevivência dos camarões foi obtida através da contagem dos organismos em cada gaiola ao final do experimento (figura 9).



Figura 9 – Despesca dos camarões ao final do experimento.

A análise estatística dos parâmetros abióticos de qualidade da água: pH, amônia e oxigênio dissolvido entre os tratamentos e a zona de controle foi realizada através de análise de variância (ANOVA – one way,  $\alpha=0,05$ ), depois de confirmadas a normalidade da distribuição dos dados e a homocedasticidade das variâncias (Sokal & Rohlf 1969). As médias de sobrevivência, peso e concentração de clorofila *a* nas panagens das gaiolas dos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de Biofilme foram submetidas ao “teste t” (Sokal & Rohlf 1969) para detectar a ocorrência de diferenças significativas ( $\alpha=0,05$ ). Em todas as análises estatísticas foi utilizado o pacote Statistica 5.1 (Statsoft, Inc., 1998).

### 3.2.3 – Experimento 3

Este experimento teve como objetivos básicos (1) avaliar o efeito do aumento da área de substrato disponível para a formação de biofilme sobre a sobrevivência e o crescimento de juvenis de *F. paulensis* em gaiolas-berçário e (2) avaliar o efeito da presença ou ausência dos camarões sobre a composição do biofilme fixado nas panagens dos substratos e das gaiolas. Foram utilizadas gaiolas iguais às do experimento 2, colocadas na água 15 dias antes da estocagem dos camarões para permitir uma pré-formação de biofilme.

O experimento consistiu em três tratamentos: tratamento CS (com substratos extras e com camarões), onde foram colocados 8m<sup>2</sup> de substratos extras de tela de polietileno verde (malha 1mm) para aumentar a área disponível para a fixação do biofilme em cada gaiola (figura 10), tratamentos SS (sem substratos extras e com camarões), onde não foram colocados substratos extras nas gaiolas (figura 11) e tratamento SCAM (com substratos extras e sem camarões), onde foram colocados 8m<sup>2</sup> de substratos extras e não foram estocados camarões. Nos tratamentos onde foram utilizados substratos extras estes foram colocados na água no início do experimento. Nos tratamentos CS e SS, a densidade de estocagem foi de 300 camarões/m<sup>2</sup> (PL 26, peso médio inicial 17±7mg). O período experimental foi de 45 dias, sendo que o cultivo dos camarões foi realizado nos últimos 30 dias.



Figura 10 – gaiola com substratos extras utilizada nos tratamentos CS (com substratos extras e com camarões) e SCAM (com substratos extras e sem camarões) do experimento 3.



Figura 11 – gaiola sem substratos extras utilizada no tratamento SS (sem substratos extras e com camarões) do experimento 3.

O procedimento de arraçoamento utilizado foi o mesmo do experimento 2, entretanto foi fornecida aos camarões ração importada Zeigler<sup>®</sup> específica para maturação de peneídeos. Os níveis de garantia desta ração segundo o fabricante são: Proteína 40% (mínimo), Gordura 9% (mínimo) e Fibras 4% (máximo) esta ração é complementada com vitaminas e minerais

Durante os 45 dias deste experimento, foi avaliada a concentração de clorofila *a* presente no biofilme fixado às gaiolas, através do corte semanal de pedaços (3x3cm) dos substratos colocados nas gaiolas a 20cm da superfície da água e da retirada de amostradores previamente fixados diretamente as panagens das gaiolas (3x3cm) a 50 cm do fundo destas, no caso destes últimos foi escolhida esta posição com o objetivo de evitar a exposição dos amostradores à dessecação devido à variação de maré do local. Estes amostradores eram confeccionados com o mesmo material das gaiolas (poliester revestido de PVC). O método para determinação da concentração de clorofila *a* foi o mesmo utilizado nos dois experimentos prévios.

Neste experimento também foram retiradas, semanalmente, amostras de 3x3cm dos substratos e das gaiolas e fixados em solução de formol 4% para posterior caracterização e contagem dos microorganismos presentes no biofilme formado nas unidades de cultivo.

Para retirada e homogeneização do biofilme aderido as panagens e caracterização e contagem de diatomáceas, ciliados, cianobactérias e nematódeos, foram utilizados os mesmos procedimentos descritos para o experimento 1.

O procedimento para avaliação do crescimento dos camarões neste experimento foi o mesmo utilizado no experimento 2, ou seja, foi realizada uma biometria inicial no mesmo dia da estocagem das gaiolas onde foram pesados 100 camarões oriundos de um tanque da larvicultura de onde foram retirados todos os camarões utilizados no experimento. Durante o período de cultivo foram realizadas biometrias, a cada dez dias, quando eram pesados 50 camarões de cada gaiola (peso úmido), os quais eram devolvidos às suas respectivas gaiolas. A taxa de sobrevivência dos camarões foi obtida através da contagem dos organismos em cada gaiola ao final do experimento.

Para análise estatística dos parâmetros abióticos de qualidade de água neste experimento foram empregados os mesmos procedimentos do experimento 2.

As médias de concentração de clorofila *a* nas panagens das gaiolas dos tratamentos CS, SS e SCAM foram submetidas à análise de variância (ANOVA – one way  $\alpha=0,05$ ) quando os dados tiveram confirmado a homocedasticidade das suas variâncias e a normalidade da sua distribuição através do teste de Lévene e do teste K-S, respectivamente (Sokal & Rohlf 1969), nos casos em que os dados não satisfizeram as premissas para aplicação da ANOVA, foi utilizada a transformação das variáveis através de um fator constante. Quando mesmo assim as premissas não puderam ser cumpridas foi realizada a análise através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ). Os dados referentes à sobrevivência e peso dos camarões dos tratamentos CS e SS foram analisados através do “teste t” (Sokal & Rohlf 1969) para detectar a ocorrência de diferenças significativas ( $\alpha=0,05$ ) após serem confirmadas a homocedasticidade das variâncias e a normalidade da distribuição dos dados.

Os dados referentes ao número de microorganismos nas panagens das gaiolas dos tratamentos CS e SCAM foram analisados através do “teste t” para detectar a ocorrência de diferenças significativas ( $\alpha=0,05$ ), quando os dados não cumpriram as premissas para realização do “teste t” foi utilizada a transformação das variáveis através de um fator constante, quando mesmo assim as premissas não foram cumpridas lançou-se mão do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ). Em todas as análises estatísticas foi utilizado o pacote Statistica 5.1 (Statsoft, Inc., 1998).

### **3.3 – Obtenção, Aclimação e Transporte das Pós-Larvas**

Para obtenção das pós-larvas necessárias para a realização dos experimentos 2 e 3, foram capturados reprodutores de *F. paulensis* no litoral de Santa Catarina, os quais foram transportados até o Laboratório de Maricultura da FURG, na Estação Marinha de Aquacultura – EMA.

No laboratório os camarões foram induzidos à reprodução seguindo as metodologias descritas por Marchiori & Cavalli (1993) e adaptadas por Peixoto (1999). Os procedimentos de larvicultura seguiram as metodologias descritas por Marchiori (1996) e Wasielesky (2000).

Antes da estocagem das PLs, estas foram aclimatadas à salinidade e a temperatura registrada no local do cultivo. Baseados nos valores registrados a salinidade foi reduzida gradualmente (2 a 3 unidades por dia), até atingir-se o valor do ambiente. A aclimação a temperatura registrada no ambiente também foi realizada gradualmente.

Após o período de aclimação os camarões foram contados e distribuídos em 6 bombonas plásticas contendo aproximadamente 50 l de água. As bombonas com os camarões foram transportadas até o local do experimento por via terrestre.

### **3.4 – Qualidade da Água**

Em todos os experimentos foi realizado diariamente, sempre entre 9 e 11 horas da manhã, o monitoramento da temperatura e da salinidade da água do local do cultivo, utilizando-se termômetro de mercúrio com precisão de 0,5°C e refratômetro ótico com precisão de 1, respectivamente.

Nos experimentos 2 e 3 também foram monitorados, a cada cinco dias, o pH com pHmetro HandyLab 2BNC Schott (precisão de 0,01), o oxigênio dissolvido pelo método clássico de Winkler (Strickland & Parsons 1972), a amônia pelo método da UNESCO (1983) e o nitrito pelo método de Benschneider & Robinson (1952). As leituras de absorvância foram feitas com um espectrofotômetro digital B 342 II – Micronal. Todos os parâmetros foram medidos dentro das gaiolas de cada tratamento e

em área externa de controle, localizada a uma distância mínima de 60m do local onde as gaiolas foram fixadas.

## 4 – RESULTADOS

### 4.1 – Experimento 1

Os valores de temperatura e salinidade (média  $\pm$  dp) durante os 28 dias de duração do experimento 1 foram respectivamente:  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $7\pm 2$ . Na figura 12 são apresentadas as variações destes parâmetros.

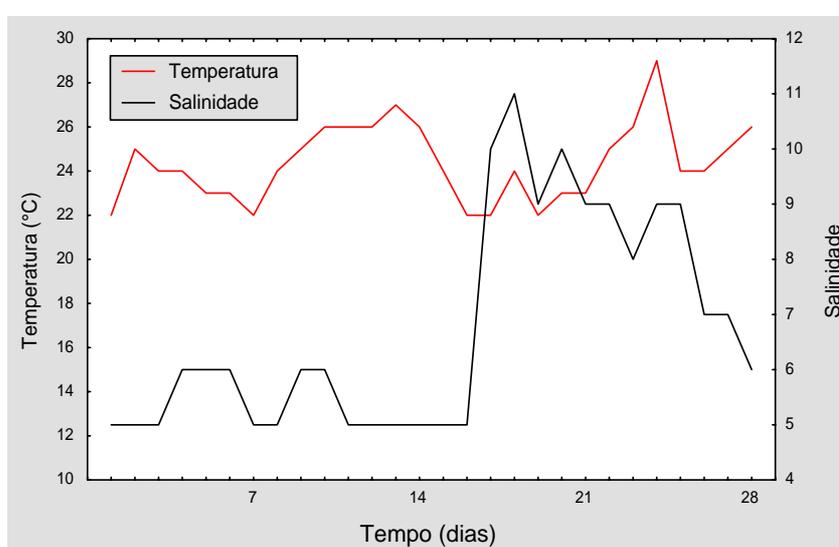


Figura 12: Variações de temperatura e salinidade ao longo dos 28 dias do experimento 1.

A análise da concentração de clorofila *a* demonstrou que ao final do experimento os sacos de alinhagem e as panagens de polietileno concentraram uma quantidade de clorofila *a* significativamente maior ( $p < 0,05$ ) que as panagens com malha maior (rede de pesca e POL 5mm) e a panagem de poliéster revestido de PVC com abertura de 1,5mm (POL 1,5mm) obteve um resultado intermediário.

As concentrações de clorofila *a* ao final do experimento variaram entre 3,68 e  $9,34\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . As telas de polietileno obtiveram os maiores valores de clorofila *a*  $7,91\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tela verde) e  $9,34\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tela branca). Na tabela 2 são apresentados os valores médios de concentração de clorofila *a* nas panagens.

Tabela 2- Concentração média de clorofila *a* ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) nas diferentes panagens ao longo do período experimental. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestida de PVC e RP – rede de pesca. Valores entre parênteses indicam a abertura da malha.

Panagens	Tempo (dias)			
	7	14	21	28
S.A	0,27 <sup>d</sup>	2,04 <sup>a</sup>	3,25 <sup>bd</sup>	6,81 <sup>bc</sup>
PE-verde(1mm)	0,8 <sup>bc</sup>	3,62 <sup>a</sup>	4,84 <sup>a</sup>	7,91 <sup>ab</sup>
PE-branca(1mm)	1,93 <sup>a</sup>	4,35 <sup>a</sup>	4,94 <sup>a</sup>	9,34 <sup>a</sup>
POL(1,5mm)	1,14 <sup>b</sup>	1,98 <sup>a</sup>	2,91 <sup>bcd</sup>	5,56 <sup>cd</sup>
POL(5mm)	1,05 <sup>bc</sup>	1,84 <sup>a</sup>	2,48 <sup>cd</sup>	3,68 <sup>d</sup>
RP(12mm)	0,65 <sup>cd</sup>	3,29 <sup>a</sup>	2,6 <sup>bcd</sup>	3,93 <sup>d</sup>

\*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

Na figura 13 é possível visualizar a variação das concentrações de clorofila *a* nas panagens durante o período experimental.

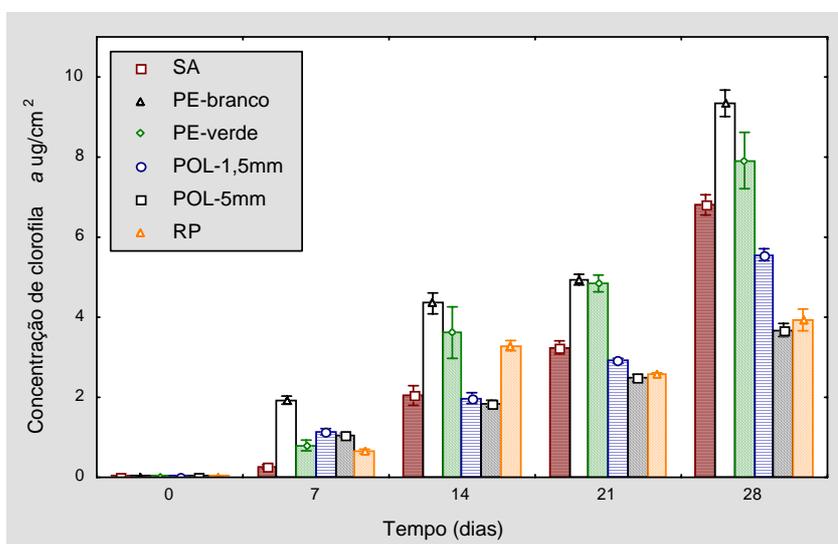


Figura 13 – Concentração média de clorofila *a* e erro padrão nas diferentes panagens ao longo dos 28 dias do experimento 1. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestido de PVC e RP – rede de pesca.

O número médio de bactérias/ $\text{cm}^2$  aderidas às diferentes panagens no 14º dia de experimento variou entre  $0,83 \pm 0,28 \times 10^6$  e  $5,78 \pm 0,23 \times 10^6$ . Na figura 14 são apresentados os números médios de bactérias/ $\text{cm}^2$  nas diferentes panagens.

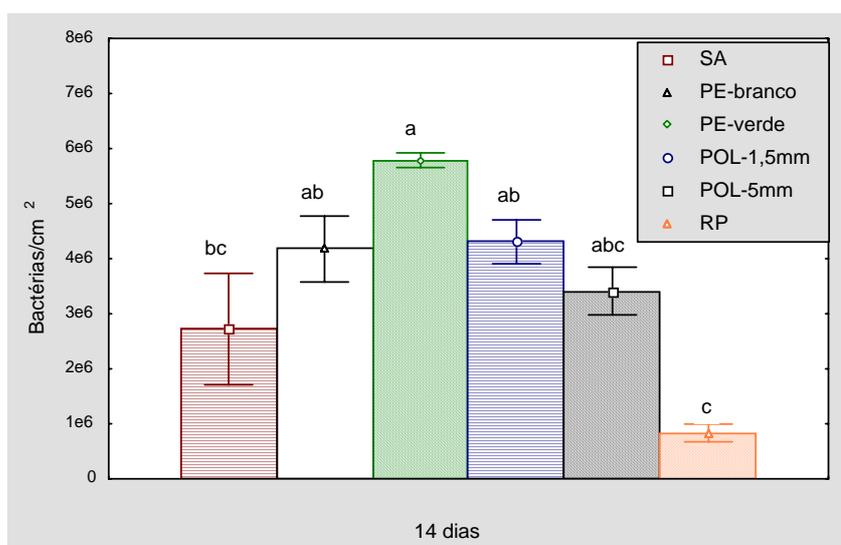


Figura 14 – Número médio de bactérias/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas diferentes panagens testadas no 14<sup>o</sup> dia do experimento 1. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestida de PVC e RP – rede de pesca. Letras iguais significam médias estatisticamente não diferentes ( $p>0,05$ ).

Neste experimento, além das bactérias, os principais microorganismos que faziam parte da comunidade presente no biofilme foram as cianobactérias, ciliados, nematódeos e principalmente as diatomáceas, sendo que prevaleciam as do tipo penadas em relação as cêntricas.

Alguns gêneros e espécies de diatomáceas foram identificados. Entre as do tipo cêntrica, a maior abundância foi notadamente de *Melosira dubia* (figura 15), já entre as do tipo penada estavam presentes uma grande riqueza de espécies, dentre as quais uma das mais abundantes foi *Bacilaria paradoxa* (figura 16), também foi identificada *Surirela sp.* em menor número (figura 17). Entre as cianobactérias, a maioria presente era do gênero *Oscillatoria* (figura 18), mas também foram encontradas outras espécies as quais não foram identificadas (figuras 19). Nas figuras 20, 21 e 22 são apresentados alguns ciliados e nas figuras 23 e 24 vermes nematódeos.

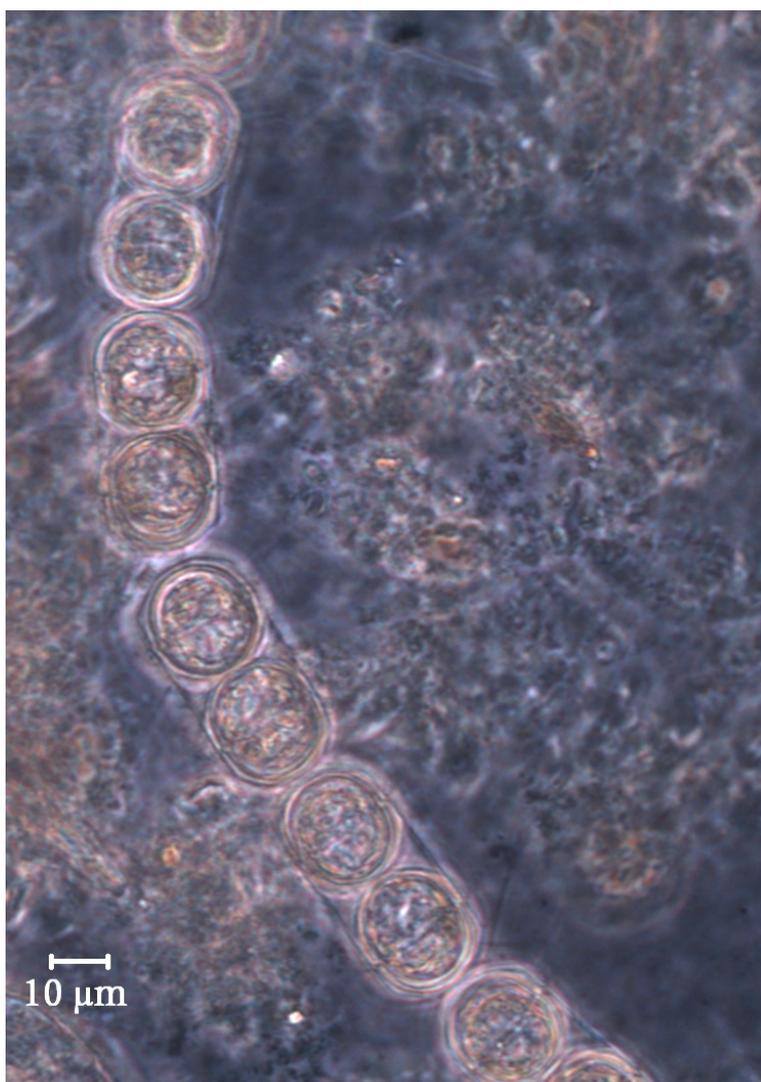


Figura 15 – Cadeia de *Melosira dubia* (diatomácea cêntrica)

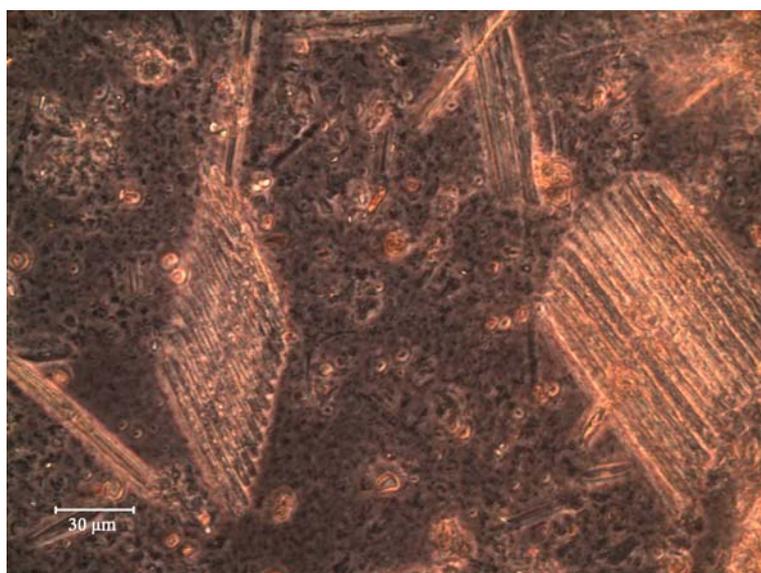


Figura 16 – Cadeias de *Bacillaria paradoxa* (diatomácea penada)

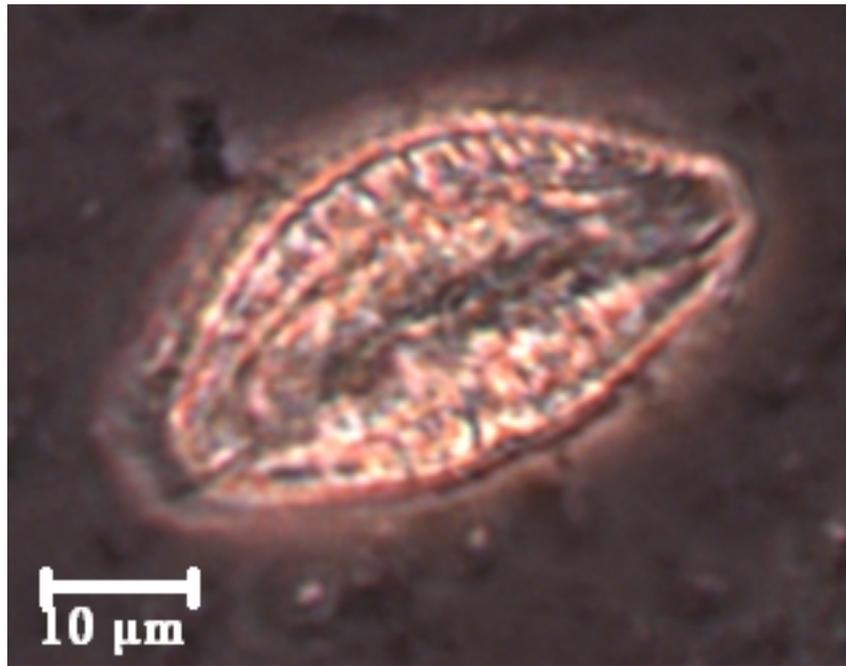


Figura 17 – *Surirela* sp. (diatomácea penada)

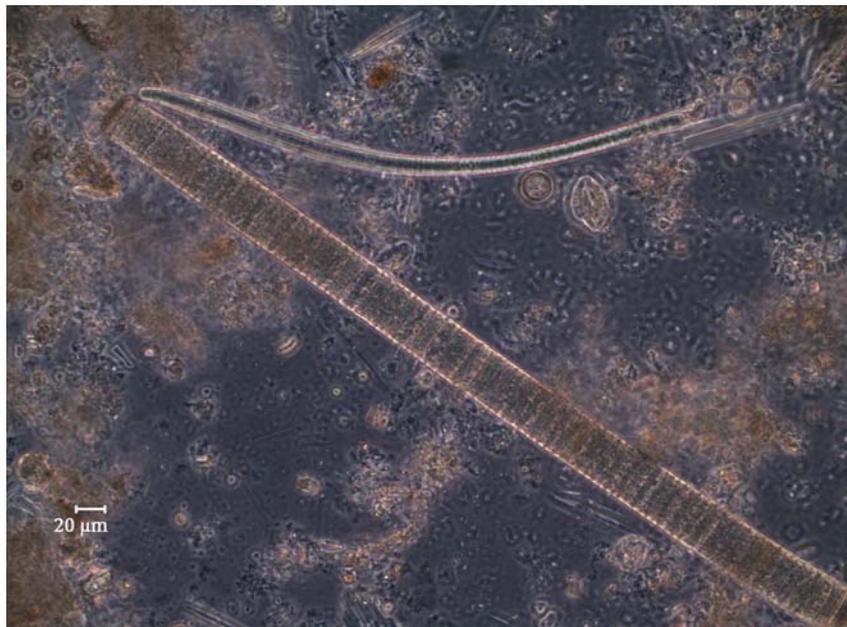


Figura 18 – *Oscillatoria* sp. (cianobactéria)



Figura 19 – Cianobactéria não identificada

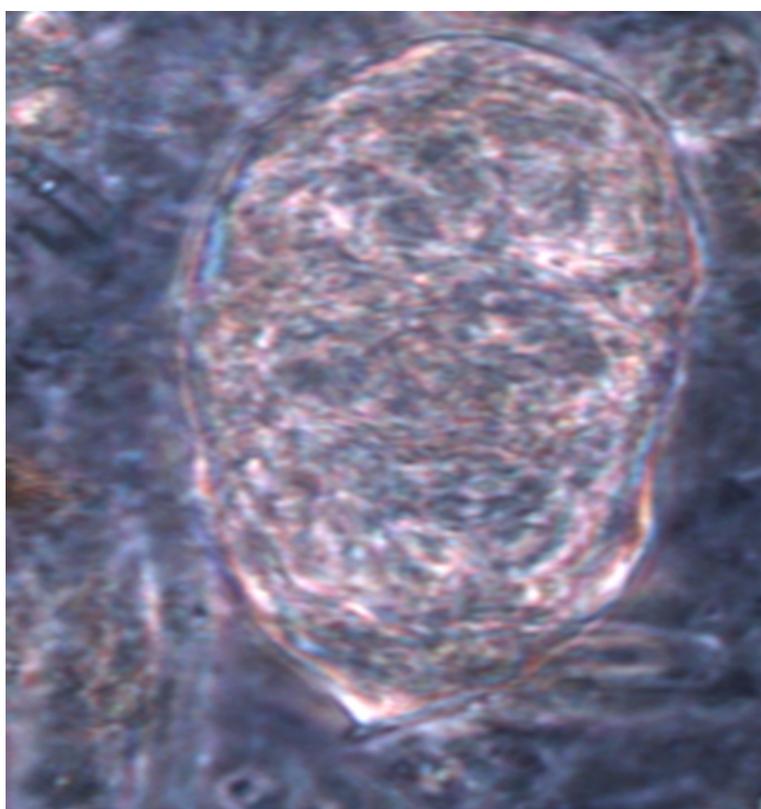


Figura 20 – Ciliado não identificado (aumento de 400X)

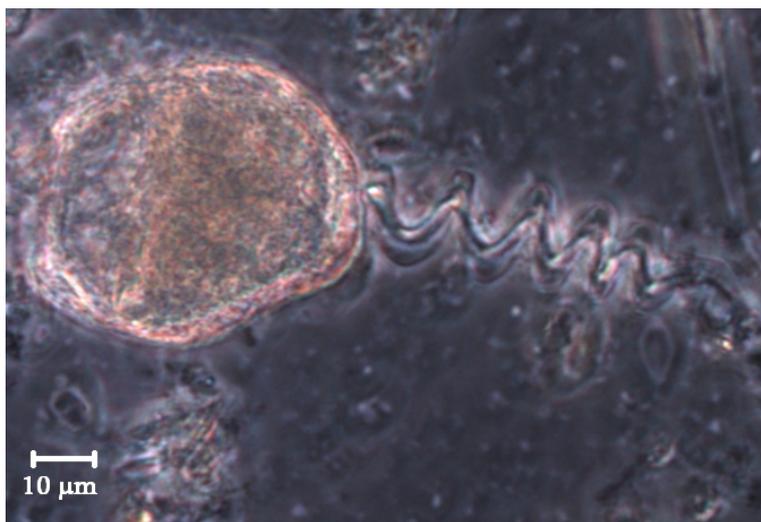


Figura 21 – Ciliado do grupo dos Vorticelídeos.



Figura 21 – Ciliado do grupo dos Tintinídeos



Figuras 21-22 – Vermes nematódeos encontrados no biofilme

Além destes microorganismos, também foram encontrados no biofilme rotíferos (figura 25), ovos (figura 26) e diversos outros microorganismos que ocorreram em menor número. As figuras 27 e 28 dão uma idéia da riqueza de microorganismos encontrados no biofilme.



Figura 25 – Rotífero encontrado no biofilme.

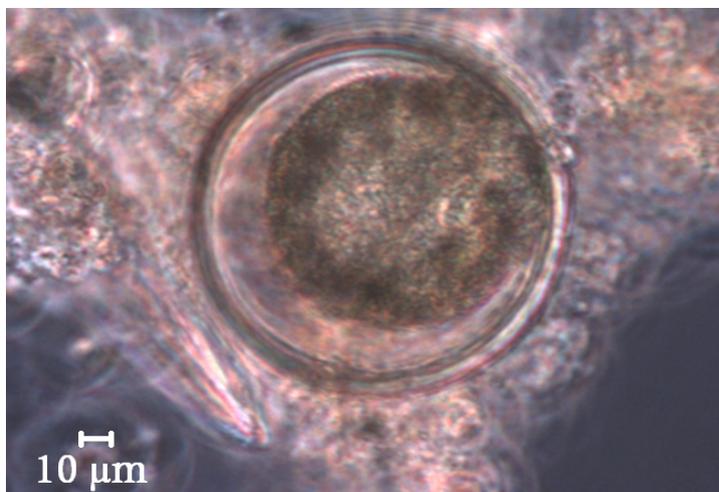


Figura 26 – Ovo encontrado no biofilme.

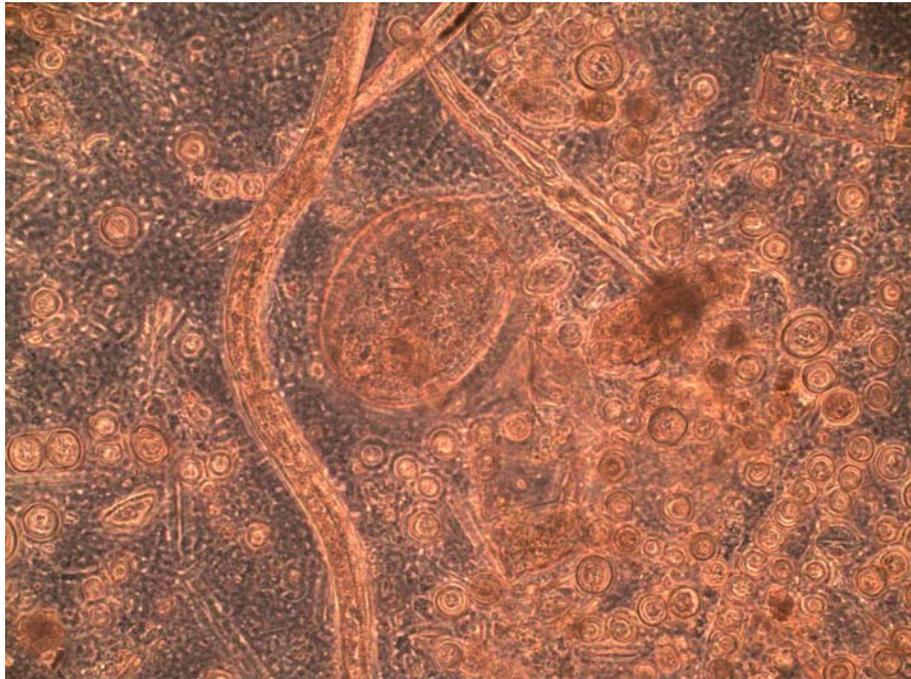


Figura 27 – Riqueza de microorganismos no biofilme. Aumento 200X.

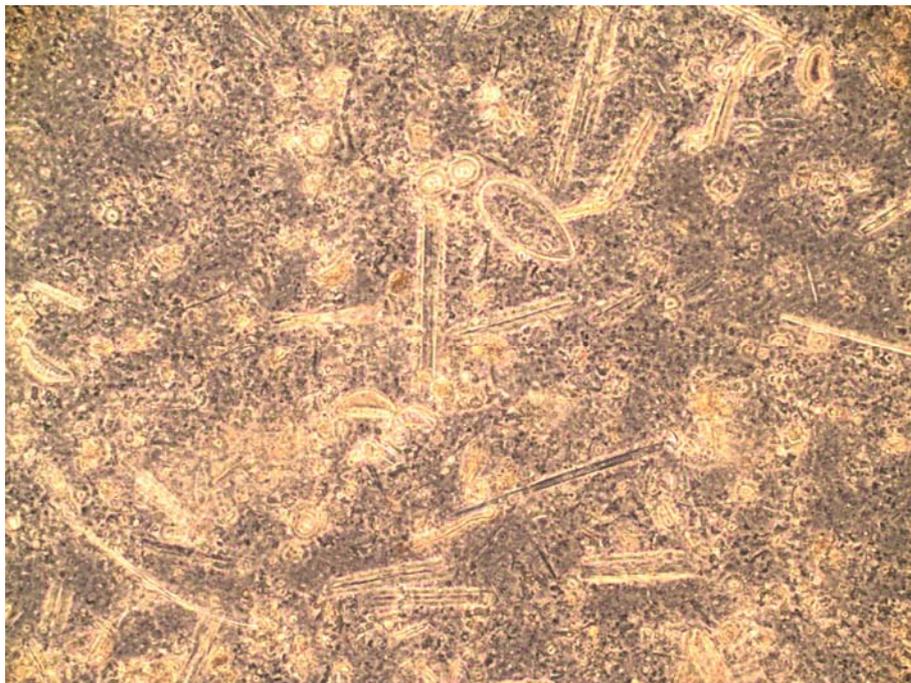


Figura 28 – Riqueza de microorganismos encontrados no biofilme. Aumento 400X.

O número médio de diatomáceas/cm<sup>2</sup> aderidas às diferentes panagens no 14<sup>o</sup> dia de experimento é apresentado na tabela 3.

Tabela 3 - Número médio de diatomáceas/cm<sup>2</sup> aderidas às diferentes panagens testadas. PE - tela de polietileno, POL – tela de polyester revestida de PVC, SA – saco de alinhagem e RP – rede de pesca. Os números entre parênteses significam os desvios padrões das médias.

Panagens	(n° médio de diatomáceas/cm <sup>2</sup> )x10 <sup>6</sup>		
	Penadas	Cêntricas	Total
SA	51,0(19,5) <sup>b</sup>	6,4(6,7) <sup>a,b</sup>	57,4(26,2) <sup>a</sup>
PE-verde	55,8(17,7) <sup>b</sup>	3,7(4,5) <sup>b</sup>	59,5(22,3) <sup>a</sup>
PE-branca	103,1(23,9) <sup>a</sup>	20,1(21,3) <sup>a</sup>	123,2(45,2) <sup>a</sup>
POL (1,5mm)	92,0(44,9) <sup>a</sup>	14,2(9,4) <sup>a,b</sup>	106,2(54,3) <sup>a</sup>
POL (5mm)	47,4(17,2) <sup>b</sup>	8,2(5,4) <sup>a,b</sup>	55,6(22,6) <sup>a</sup>
RP	29,8(12,5) <sup>b</sup>	11,6(10,5) <sup>a,b</sup>	41,4(23) <sup>a</sup>

Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas (p<0,05).

Apesar de terem sido encontradas diferenças significativas na abundância de diatomáceas penadas e cêntricas (p<0,05) no 14<sup>o</sup> dia de experimento, quando estas foram agrupadas não foi detectada diferença significativa no seu número nas diferentes panagens avaliadas (p>0,05).

Na figura 29 é possível visualizar o número médio de diatomáceas/cm<sup>2</sup> encontrado nas diferentes panagens testadas no 14<sup>o</sup> dia de experimento.

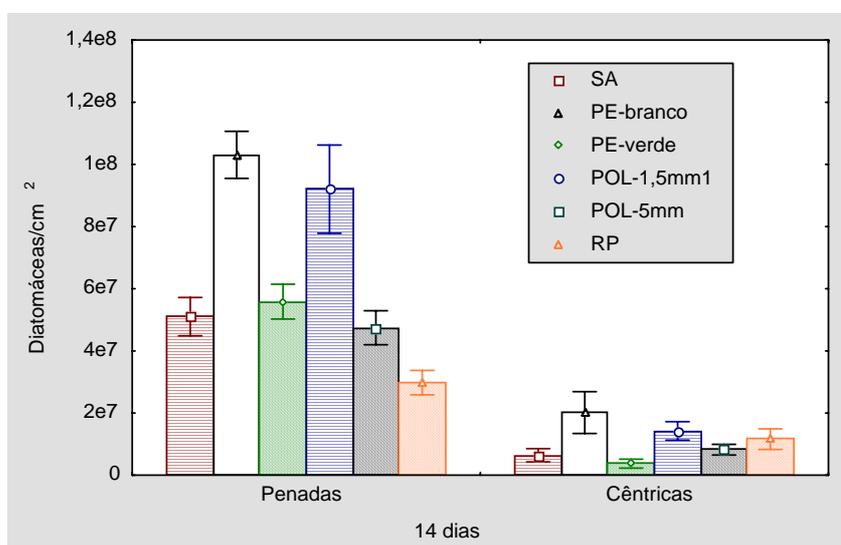


Figura 29 – Número médio de diatomáceas/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas diferentes panagens testadas no 14<sup>o</sup> dia do experimento. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestido de PVC e RP – rede de pesca.

A abundância de cianobactérias, ciliados e nematódeos nas diferentes panagens avaliadas no 14<sup>o</sup> dia de experimento é apresentada na figura 30.

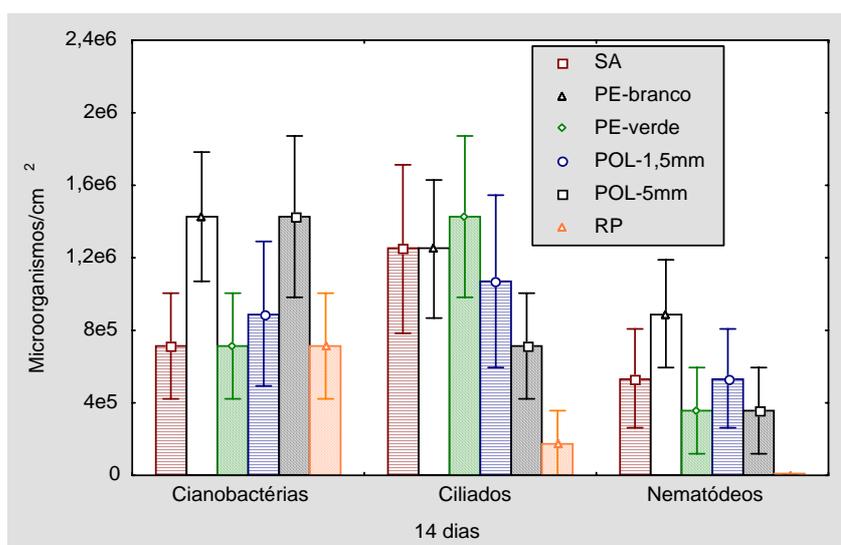


Figura 30 – Número médio de cianobactérias, ciliados e nematódeos/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas diferentes panagens testadas no 14<sup>o</sup> dia do experimento 1. SA – saco de alinhagem, PE - telas de polietileno, POL – telas de polyester revestida de PVC e RP – rede de pesca. As barras representam o erro padrão. Não foram detectadas diferenças significativas na abundância destes microorganismos ( $p>0,05$ ).

A quantidade de cianobactérias/cm<sup>2</sup> variou entre  $7,13\pm 9,2\times 10^5$  e  $14,2\pm 14,0\times 10^5$ , e a de ciliados variou entre  $1,8\pm 5,6\times 10^5$  e  $14,3\pm 14,1\times 10^5$ , não foram detectadas diferenças significativas na abundância destes microorganismos entre as diferentes panagens avaliadas ( $p>0,05$ ).

O número de nematódeos/cm<sup>2</sup> encontrados nas panagens avaliadas variou de zero a  $8,9\pm 9,4\times 10^5$ . Devido a não terem sido encontrados nematódeos em RP, este substrato foi excluído da análise estatística, entre os outros materiais não foram detectadas diferenças significativas na abundância destes microorganismos ( $p>0,05$ ).

## 4.2 – Experimento 2

Os valores de temperatura e salinidade (média  $\pm$  dp) durante os 45 dias do experimento 2 foram respectivamente:  $26\pm 2^\circ\text{C}$  e  $5\pm 1$ . Na figura 31 são apresentadas as variações destes parâmetros.

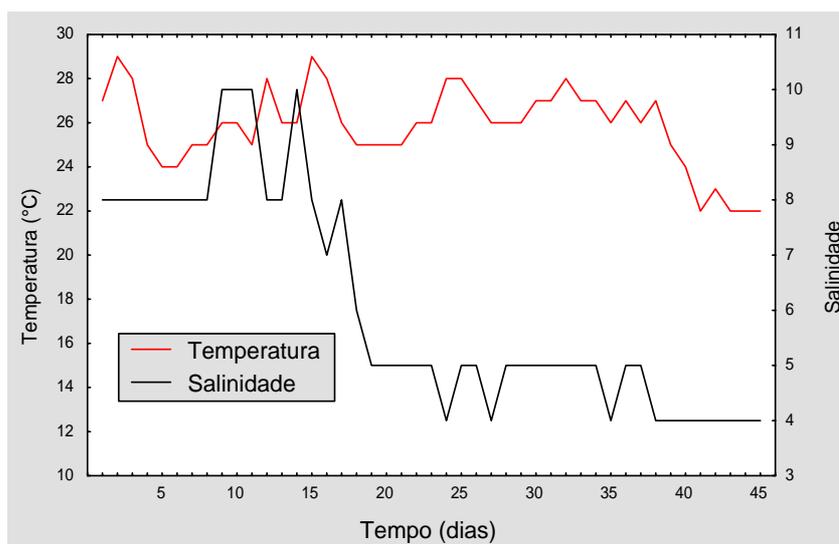


Figura 31 - Variações de temperatura e salinidade ao longo dos 45 dias do experimento 2.

Não foram detectadas diferenças significativas nas médias dos valores de pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e amônia total (mg/l N-AT), medidos nos dois tratamentos B e LB e na área de controle durante os trinta dias de cultivo do experimento 2 (tabela 4). A concentração de nitrito ficou abaixo do mínimo detectável pelo método utilizado ( $<0,014\text{mg/l}$ ).

Tabela 4 – Médias ( $\pm$  dp) do pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e amônia total (mg/l N-AT) em amostras de água coletadas nos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme e nos pontos de controle durante os 30 dias de cultivo do experimento 2.

Parâmetros	Tratamentos		
	B	LB	Controle
pH	$9,01\pm 0,52$	$8,98\pm 0,50$	$8,78\pm 0,64$
O <sub>2</sub> D	$6,81\pm 1,44$	$6,90\pm 1,27$	$7,01\pm 0,51$
Amônia	$0,08\pm 0,01$	$0,07\pm 0,01$	$0,07\pm 0,01$

Nas figuras 32,33 e 34 são apresentadas as variações destes parâmetros durante o período de cultivo dos camarões.

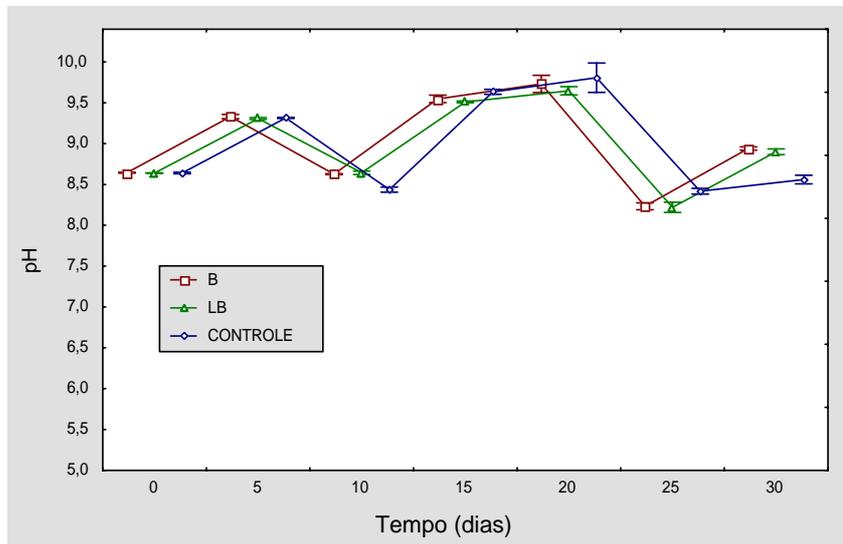


Figura 32 - Variação do pH nos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme e nos pontos de controle ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 2.

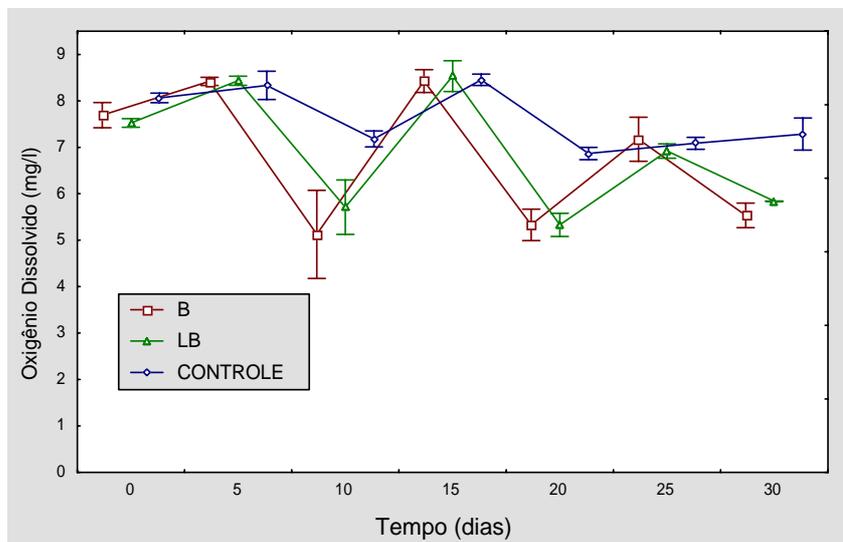


Figura 33 - Variação do oxigênio dissolvido nos tratamentos nos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme e nos pontos de controle ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 2.

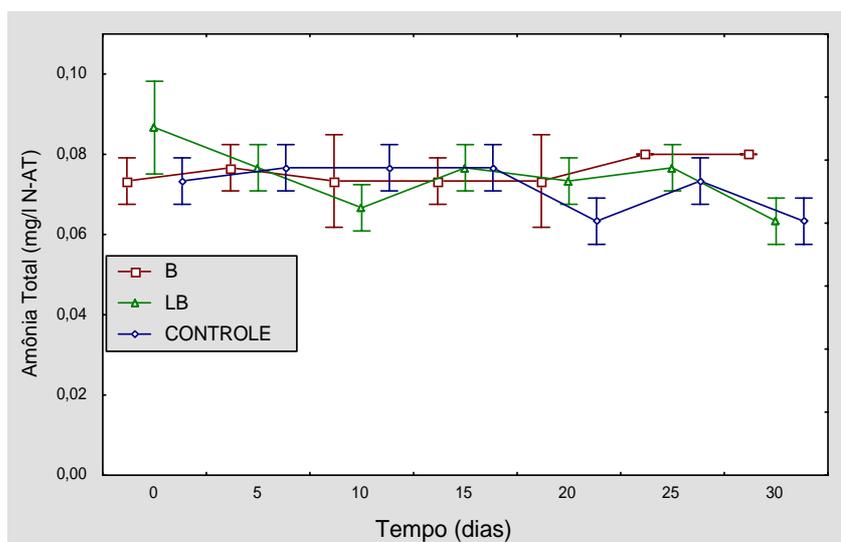


Figura 34 - Variação da concentração de amônia nos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme e nos pontos de controle ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 2.

A concentração média de clorofila *a* no biofilme aderido as panagens das gaiolas, durante o experimento foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) no tratamento B ( $2,90 \pm 1,46 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em relação à LB ( $0,76 \pm 0,86 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Na figura 35 são apresentadas as concentrações de clorofila *a* encontradas nas panagens das gaiolas-berçário nos dias de amostragem.

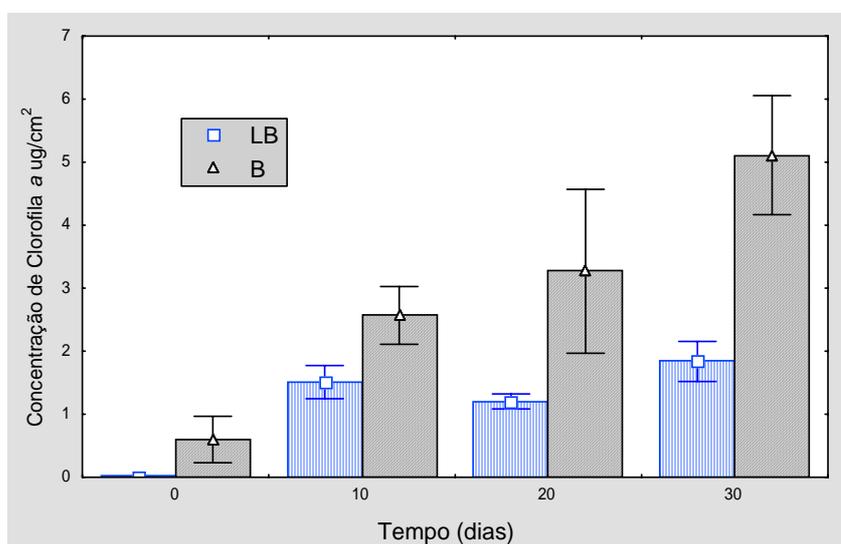


Figura 35 – Concentração média de clorofila *a* e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 2.

As taxas de sobrevivência médias dos camarões foram de  $96,1 \pm 4,8\%$  no tratamento LB e  $99 \pm 0,9\%$  no tratamento B, não apresentando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre si. Quanto ao peso dos camarões, a partir da segunda biometria (20 dias)

foi detectada diferença significativa entre as médias obtidas ( $p < 0,05$ ), favorecendo o tratamento B (figura 36). Ao final do experimento foi mantida esta diferença significativa entre os tratamentos obtendo-se camarões com peso médio final de  $0,50 \pm 0,15$ g (LB) e de  $0,58 \pm 0,14$ g (B). O percentual de diferença foi de 16%.

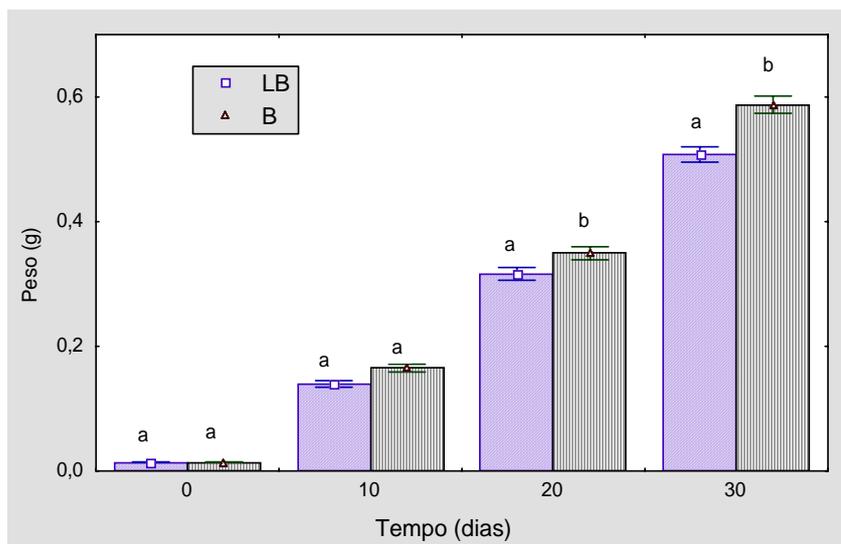


Figura 36 - Peso médio (g) e erro padrão de juvenis de *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em gaiolas-berçário nos tratamentos B – biofilme e LB – limitação de biofilme ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 2.

### 4.3 – Experimento 3

Os valores de temperatura e salinidade (média  $\pm$  dp) durante os 45 dias de duração do experimento 3 foram respectivamente:  $24\pm 2^\circ\text{C}$  e  $6\pm 2$ . Na figura 37 são apresentadas as variações destes parâmetros.

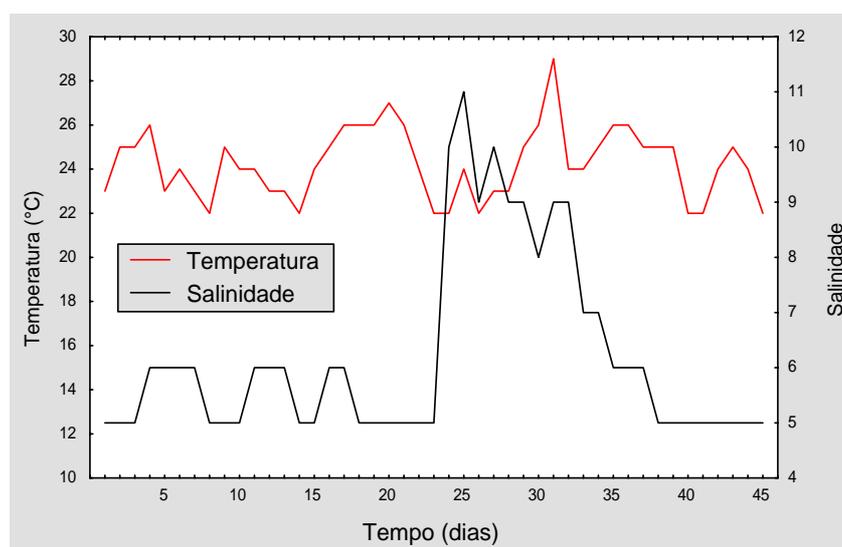


Figura 37: Variações de temperatura e salinidade durante os 45 dias do experimento 3.

Não foram detectadas diferenças significativas nas médias dos valores de pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e amônia total (mg/l N-AT), medidos nos tratamentos CS, SS e SCAM e na área de controle C durante os trinta dias de cultivo do experimento 3 (Tabela 5). A concentração de nitrito ficou abaixo do mínimo detectável pelo método utilizado ( $<0,014\text{mg/l}$ ).

Tabela 5 –Médias ( $\pm$  dp) do pH, oxigênio dissolvido (mg/l) e amônia total (mg/l N-AT) em amostras de água coletadas nos tratamentos CS – com substratos extras, SS – sem substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões e nos pontos de controle durante os 30 dias de cultivo do experimento 3.

Parâmetros	Tratamentos			
	CS	SS	SCAM	Controle
pH	$8,64\pm 0,47$	$8,63\pm 0,46$	$8,63\pm 0,43$	$8,65\pm 0,45$
O <sub>2</sub> D	$7,13\pm 0,54$	$7,21\pm 0,57$	$7,41\pm 0,52$	$7,28\pm 0,54$
Amônia	$0,06\pm 0,01$	$0,063\pm 0,008$	$0,061\pm 0,008$	$0,061\pm 0,008$

Nas figuras 38,39 e 40 são apresentadas as variações destes parâmetros durante o período de cultivo dos camarões.

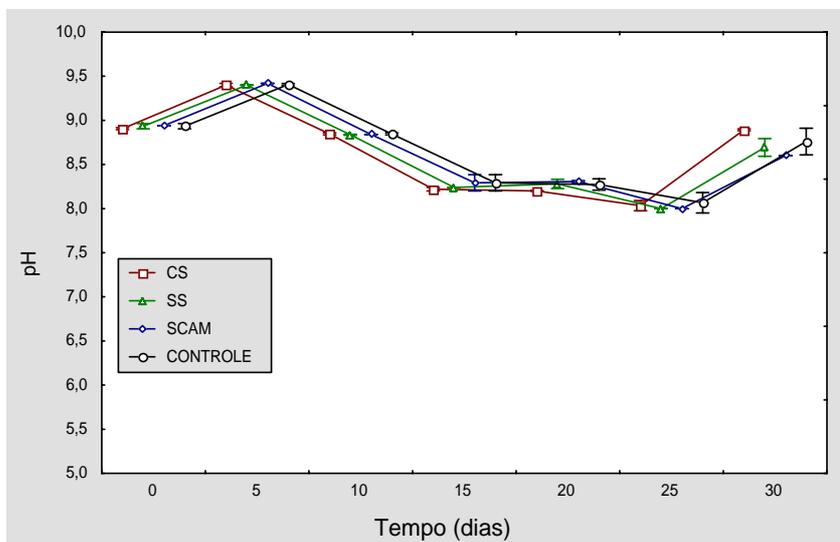


Figura 38 – Variações do pH nos tratamentos CS – com substratos extras e com camarões, SS – sem substratos extras e com camarões e SCAM – com substratos extras e sem camarões e nos pontos de controle durante os trinta dias de cultivo do experimento 3.

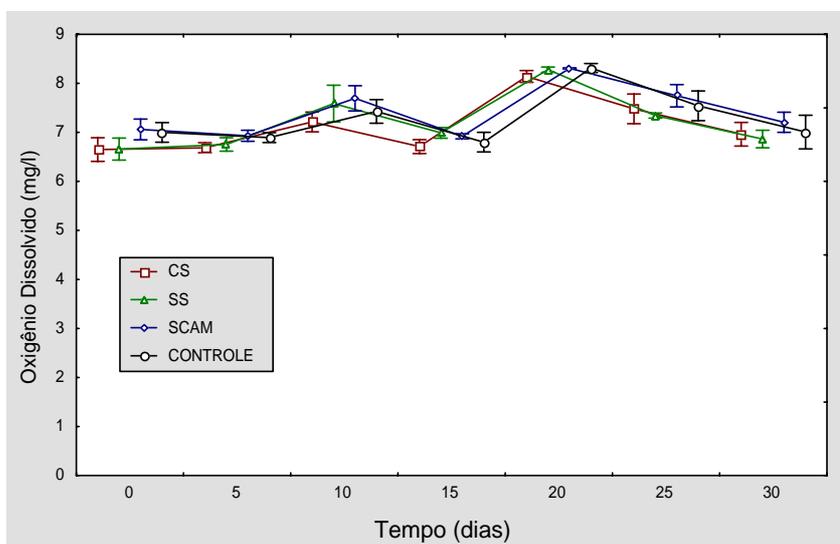


Figura 39 – Variações do oxigênio dissolvido nos tratamentos CS – com substratos extras e com camarões, SS – sem substratos extras e com camarões e SCAM – com substratos extras e sem camarões e nos pontos de controle durante os trinta dias de cultivo do experimento 3.

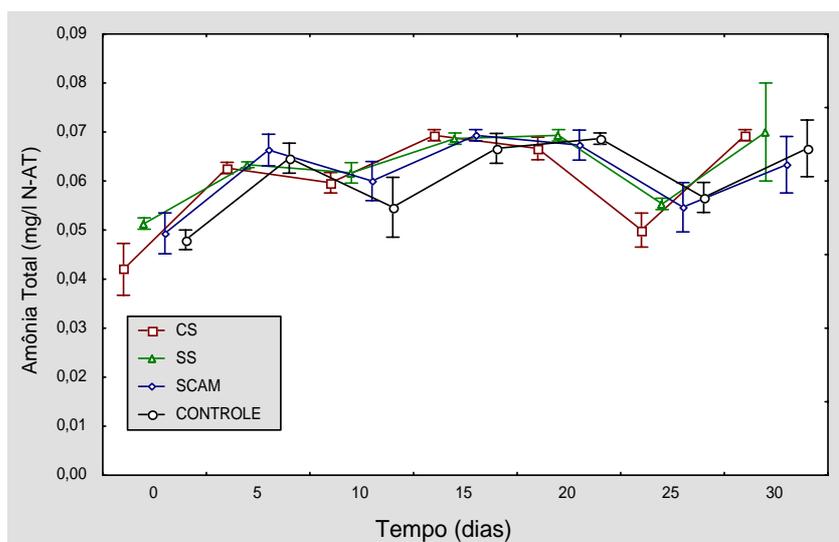


Figura 40 – Variações na concentração de amônia nos tratamentos CS – com substratos extras e com camarões, SS – sem substratos extras e com camarões e SCAM – com substratos extras e sem camarões e nos pontos de controle ao longo dos trinta dias de cultivo do experimento 3.

Não foram detectadas diferenças significativas entre as concentrações médias de clorofila *a* do biofilme aderido as panagens das gaiolas dos três tratamentos ( $p > 0,05$ ). Também não foram detectadas diferenças significativas entre as concentrações de clorofila *a* entre os amostradores colocados nas gaiolas e os pedaços das panagens utilizadas como substrato extra nos tratamentos CS e SCAM. Os valores médios finais foram: tratamento CS  $2,95 \pm 2,39 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , tratamento SS  $2,67 \pm 2,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  e tratamento SCAM  $1,87 \pm 1,88 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Na figura 41 são apresentadas as concentrações de clorofila *a* encontradas nas panagens das gaiolas-berçário durante os 45 dias de experimento.

O número médio de diatomáceas  $/\text{cm}^2$  aderidas as panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS e SCAM do experimento 3 no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dia de experimento são apresentados nas figuras 42, 43 e 44. Estas datas foram escolhidas para a contagem das microalgas e demais microorganismos por representarem, respectivamente, o dia da estocagem dos camarões, o ponto máximo de concentração de clorofila *a* e o final do experimento quando ocorreu uma queda das concentrações de clorofila *a*.

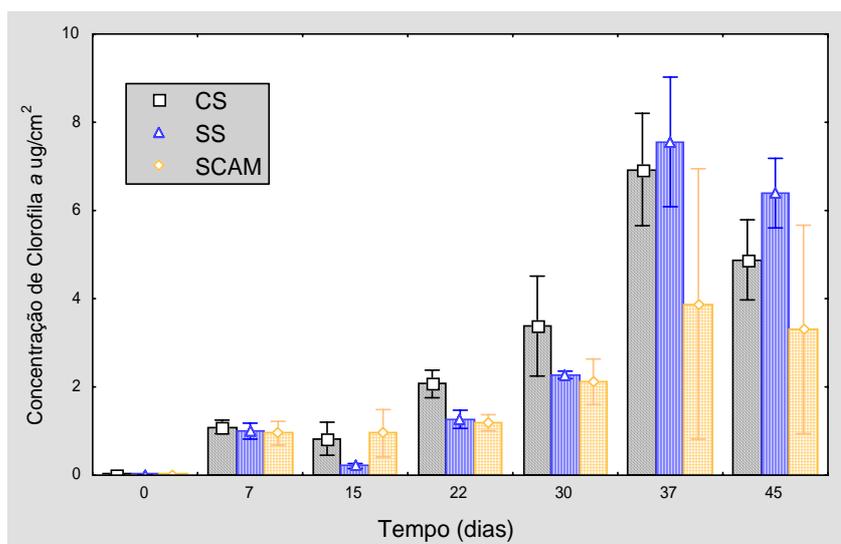


Figura 41 - Concentração de clorofila *a* e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e com camarões, SS – sem substratos extras e com camarões e SCAM – com substratos extras e sem camarões ao longo dos 45 dias do experimento 3.

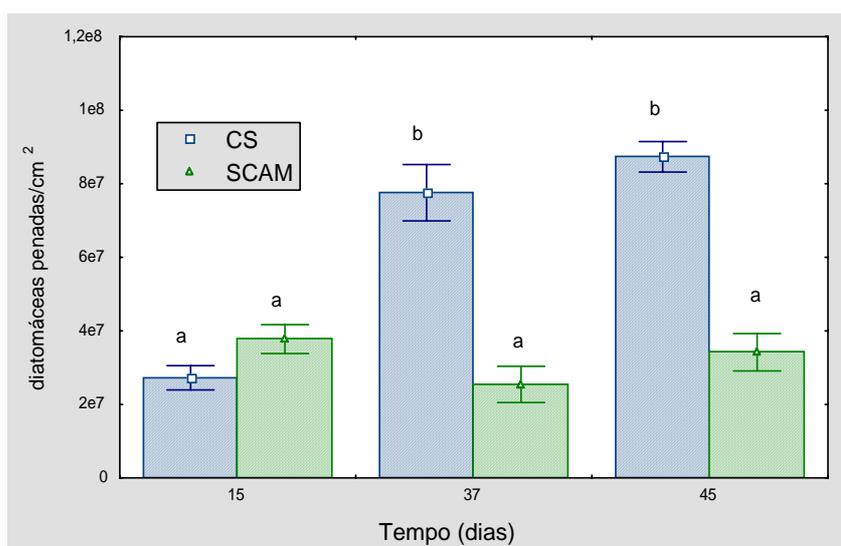


Figura 42 – Número médio de diatomáceas penadas/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento. Letras diferentes sobre as barras representam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

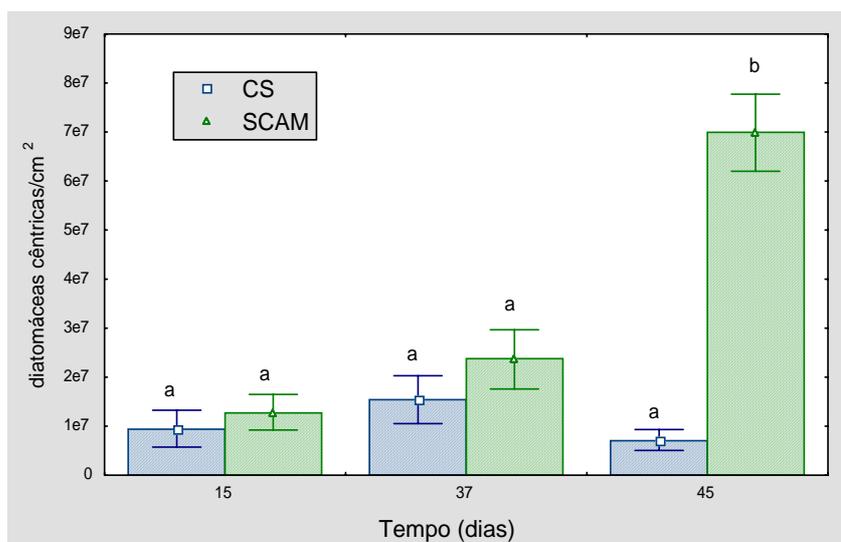


Figura 43 – Número médio de diatomáceas cêntricas/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento 3. Letras diferentes sobre as barras representam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

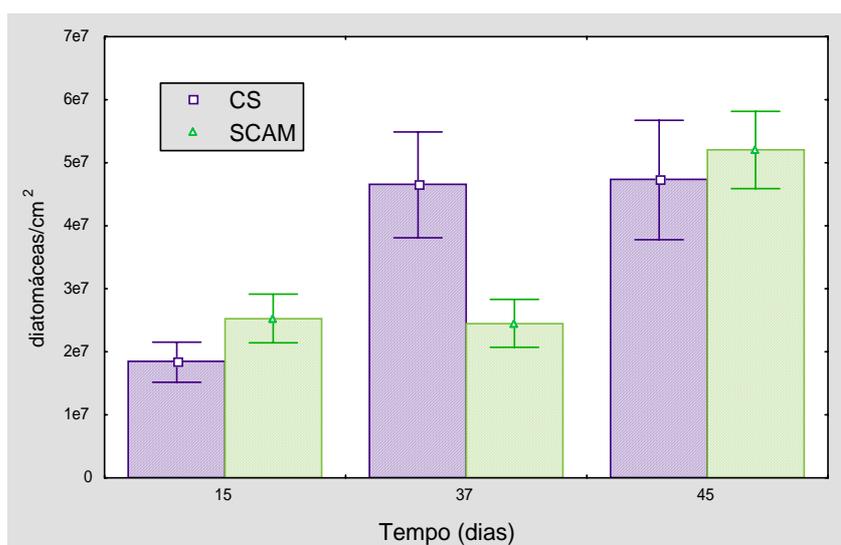


Figura 44 – Número médio de diatomáceas (cêntricas + penadas)/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento 3. Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

O número médio de cianobactérias/cm<sup>2</sup> aderidas as panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS e SCAM do experimento 3 no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dia de experimento são apresentados na figura 31. Não foram detectadas diferenças significativas na abundância de cianobactérias entre os tratamentos.

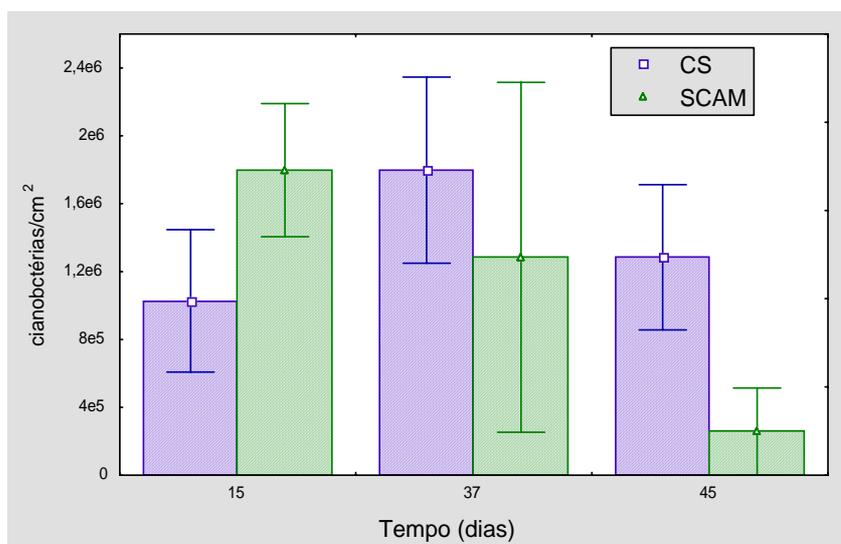


Figura 45 – Número médio de cianobactérias/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento 3. Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ( $p>0,05$ ).

O número médio de ciliados/cm<sup>2</sup> nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS e SCAM do experimento 3 no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dia de experimento são apresentados na figura 46. Não foram detectadas diferenças significativas na abundância de ciliados entre os tratamentos.

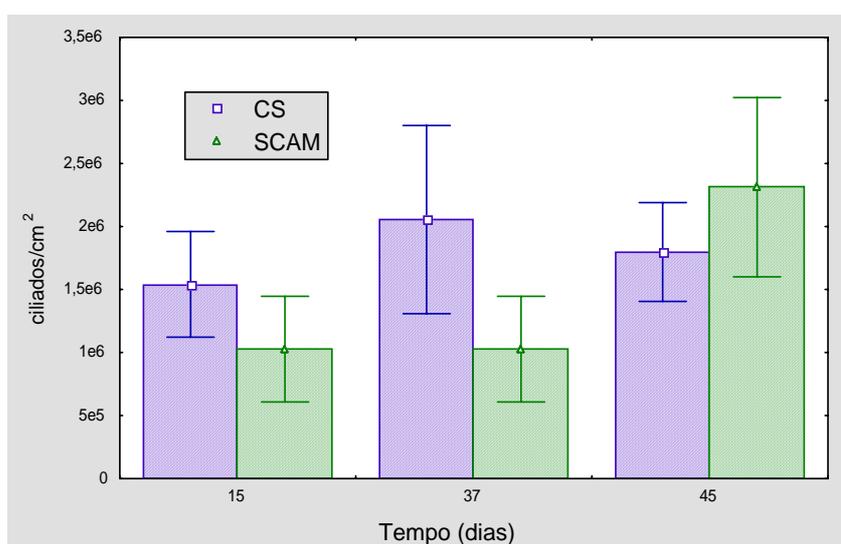


Figura 46 – Número médio de ciliados/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento 3. Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ( $p>0,05$ ).

O número médio de nematódeos/cm<sup>2</sup> nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS e SCAM do experimento 3 no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento são apresentados na figura 47. Não foram detectadas diferenças significativas na abundância de nematódeos entre os tratamentos.

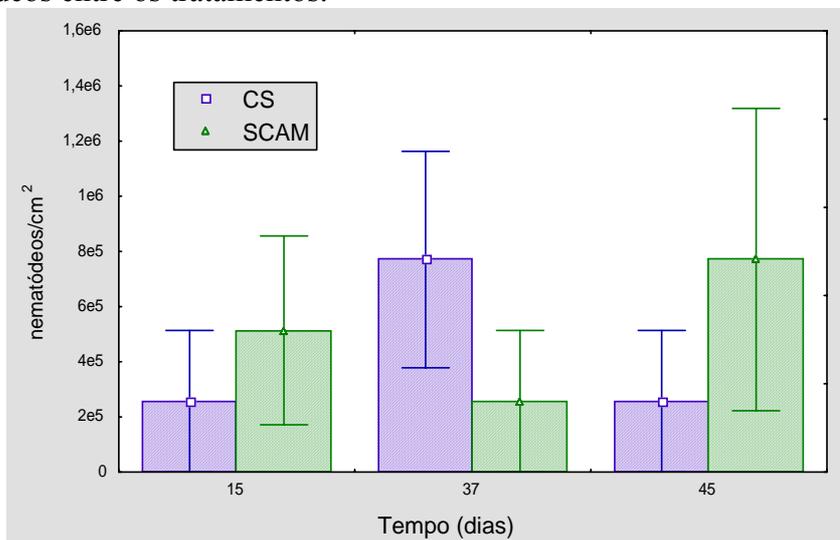


Figura 47 – Número médio de nematódeos/cm<sup>2</sup> e erro padrão nas panagens das gaiolas-berçário dos tratamentos CS – com substratos extras e SCAM – com substratos extras e sem camarões no 15<sup>o</sup>, 37<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> dias de experimento 3. Não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

As taxas de sobrevivência médias dos camarões nos tratamentos CS e SS apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sendo respectivamente  $95,4 \pm 1,6\%$  e  $90,7 \pm 2,3\%$ . Em relação ao peso dos camarões foi detectada diferença significativa entre as médias obtidas ( $p < 0,05$ ) a partir da biometria de 20 dias, favorecendo o tratamento CS. Ao final do experimento foi mantida esta diferença significativa e o peso médio final foi de  $0,72 \pm 0,15\text{g}$  no tratamento CS e  $0,65 \pm 0,19\text{g}$  no tratamento SS (figura 48). O percentual de diferença foi de 10,7%.

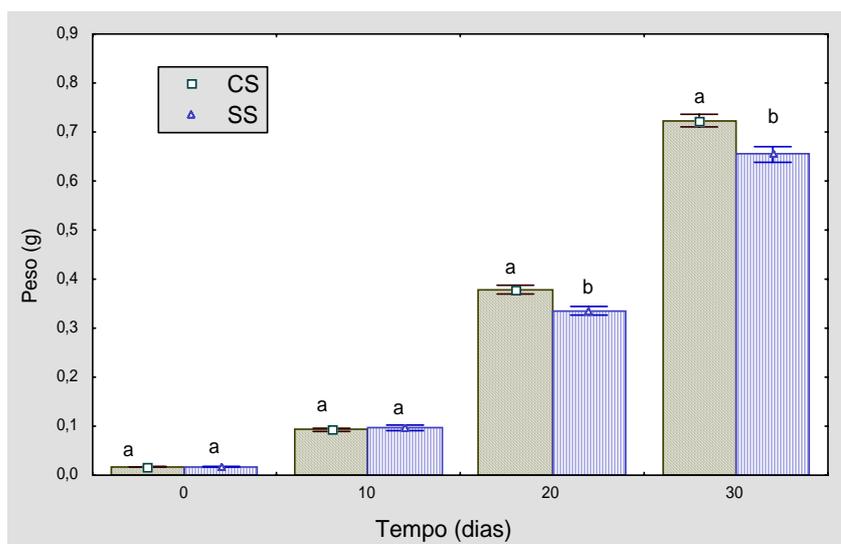


Figura 48 - Peso médio (g) e erro padrão de juvenis de *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em gaiolas-berçário. CS tratamento onde foram colocados substratos extras internamente às gaiolas e SS tratamento onde não foram colocados substratos extras. Letras iguais no mesmo tempo representam médias não diferentes ( $p > 0,05$ ).

## 5 - DISCUSSÃO

### 5.1 – Experimento 1

#### 5.1.1 – Fixação de Biofilme

A partir da constatação científica de que o biofilme formado em substratos presentes nas estruturas de cultivo traz benefícios à qualidade da água e ao crescimento dos organismos cultivados (Langis *et al.* 1988, Ramesh *et al.* 1999, Thompson *et al.* 2002, Umesh *et al.* 1999), a utilização de substratos artificiais tem recebido especial atenção por parte de produtores e pesquisadores da área de aquicultura.

Como resultado prático destas pesquisas, pode-se dizer que já existe disponível no mercado um produto chamado Aquamats<sup>tm</sup>, utilizado para aumentar a área de substrato disponível para a fixação de biofilme, com o objetivo de melhorar a qualidade da água do cultivo e incrementar a disponibilidade de alimento na forma de biofilme.

Algumas pesquisas foram realizadas utilizando os Aquamats<sup>tm</sup> e nelas foi comprovado o efeito positivo sobre a produção de camarões (Bratvold & Browdy 2001, Mc Neil 2001). Entretanto, o custo deste material é relativamente elevado (cerca de 22 dólares/m<sup>2</sup>) o que, conforme o tipo de cultivo, pode inviabilizar a sua utilização.

Em outros trabalhos foram testados materiais alternativos para serem utilizados como substratos para fixação de biofilme nas estruturas de cultivo, como bambus, tubos de PVC e bagaço de cana de açúcar (Keshavanath *et al.* 2001), placas de plástico (Shrestha & Knud-Hansen 1994), palha de arroz e *Eichhornea sp.* (aguapé) seca (Ramesh *et al.* 1999), garrafas plásticas (Huchette *et al.* 2000) e em alguns deles foram obtidos bons resultados na melhoria da qualidade da água e na produção final obtida quando comparados aos controles onde não foram colocados substratos.

Segundo Domingos & Vinatea (2002), um material ideal para ser utilizado como substrato para aquicultura deve possuir alguns requisitos: alta superfície específica, resistência à água, resistência à tração mecânica, resistência aos raios UV, baixo custo, ser ligeiramente mais denso que a água e ser reutilizável e reciclável. Keshavanath *et al.* (2001) escolheram os materiais do seu experimento baseados na sua disponibilidade local e facilidade de manejo.

Os resultados do experimento 1 mostraram que o biofilme formado nos substratos avaliados era composto por bactérias heterotróficas, cianobactérias, ciliados, nematódeos e principalmente diatomáceas, sendo que prevaleciam as do tipo penadas em relação as cêntricas. Estes resultados estão de acordo com o determinado por Santos (2003), analisando o biofilme formado nas panagens de gaiolas instaladas no mesmo local onde foi realizado este experimento. Em outros experimentos também foi determinado um predomínio de diatomáceas em relação aos outros microorganismos componentes do biofilme ou perifiton (Thompson *et al.* 2002, Huchette *et al.* 2000, Wahab *et al.* 1999). Em todas as panagens avaliadas foram encontrados os mesmos tipos de microorganismos, isto se deve provavelmente a presença destes no ambiente onde foram colocados os substratos.

No caso dos nematódeos, o fato destes não terem sido encontrados no tratamento RP, não significa que não estavam presentes neste tipo de panagem, podemos, entretanto, supor que a sua densidade foi baixa, uma vez que a contagem foi realizada através do sorteio aleatório de 10 campos da câmara de sedimentação. Entre os fatores que podem ter contribuído para este resultado estão a grande abertura da malha ou o próprio material (poliamida) que de alguma maneira estariam dificultando a fixação dos nematódeos.

Com relação a clorofila *a* os resultados do experimento 1 indicaram que todos os materiais avaliados tiveram uma boa capacidade de fixação de biofilme. A tela de polietileno branco demonstrou desde o início do experimento, uma alta capacidade de fixar clorofila *a*, mesmo quando comparada com a tela verde do mesmo material, este resultado pode ter sido atingido devido a uma maior capacidade de reflexão de luz proporcionada pela cor clara.

Os resultados deste experimento demonstraram uma correlação negativa entre a abertura de malha e a capacidade de fixar clorofila *a* (Concentração de clorofila =  $7,39 - 0,35 \times \text{Tamanho da Malha}$ ,  $r = -0,71$ ). Entretanto como os substratos testados são de diferentes materiais, este resultado não deve ser considerado como conclusivo.

Segundo Thompson (1999) a concentração de clorofila *a* funciona como um indicador da maturidade do biofilme. Thompson sugere que um biofilme pode ser considerado maduro quando apresenta uma concentração de  $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  de clorofila *a*, e

uma abundância de bactérias e ciliados iguais a  $6,34 \times 10^8/\text{cm}^2$  e  $4,98 \times 10^4/\text{cm}^2$ , respectivamente .

Apesar das concentrações encontradas aos 14 dias deste experimento estarem abaixo do recomendado por Thompson (1999), devemos considerar que no referido estudo o biofilme estava fixado a uma superfície compacta (tubo de PVC) colocadas em tanques de cultivo onde havia altas densidades de larvas e adição de alimentos. Por outro lado, as panagens avaliadas no experimento 1, excetuando os sacos de alinhagem, tinham uma área real disponível para fixação de biofilme menor e foram colocadas no ambiente. Também se deve observar que durante os 28 dias de experimento a concentração de clorofila *a* continuou aumentando em todos os substratos avaliados, demonstrando que estes podem acumular uma maior quantidade de biofilme caso expostos por um maior período de tempo.

Outro ponto importante a ser considerado é que os valores indicados por Thompson (1999) para um biofilme maduro, estão relacionados com a capacidade do biofilme de diminuir a concentração de amônia na água de um cultivo realizado em condições de baixa ou nenhuma renovação de água. Em nosso estudo os materiais foram avaliados com o objetivo de determinar se existe uma capacidade de fixar biofilme para serem utilizados como substratos em gaiolas de cultivo instaladas em uma área onde ocorre uma grande circulação de água. Portanto, apesar de não ser descartada a hipótese do biofilme formado nestes substratos ter alguma influência sobre a qualidade da água do cultivo, o objetivo principal desta análise é saber se os organismos presentes no biofilme vão funcionar como fonte de alimento para os camarões cultivados, promovendo uma melhoria na sua sobrevivência e crescimento.

As diferenças entre o laboratório e o ambiente natural devem, de alguma forma, influenciar a colonização dos substratos e em parte poderiam explicar as diferenças entre a abundância e o tipo de microorganismos presentes em cada situação. Na situação de laboratório, normalmente existe uma maior concentração de nutrientes e um meio mais estável em relação à temperatura e salinidade. Já no ambiente natural, apesar da maior instabilidade das condições ambientais, existe uma maior circulação de água, o que pode favorecer o recrutamento de organismos aos substratos disponíveis para fixação.

Comparando-se os resultados de contagem e caracterização dos microorganismos do biofilme formado nas panagens com a literatura, verifica-se que os itens presentes são similares aos organismos que fazem parte da dieta preferencial dos camarões peneídeos conforme determinado por Gleason (1986), Stoner & Zimmerman (1988) e Nunes *et al.* (1997) e também que sua quantidade é elevada. Portanto estes resultados levam a crer que quando o biofilme estiver sendo disponibilizado para os camarões cultivados, este poderá ser parte integrante da dieta dos mesmos.

A partir dos resultados obtidos no experimento 1, foi selecionada a tela de polietileno com abertura de malha de 1mm para ser utilizada como substrato nas gaiolas dos outros dois experimentos. Esta escolha levou em consideração que as telas deste material foram as que tiveram uma maior capacidade de fixar biofilme durante os 28 dias do experimento. Além disso, sua durabilidade média e seu custo se encaixam nas características procuradas para atender as necessidades dos cultivos em estruturas alternativas, os quais são o alvo dos experimentos realizados. Entretanto, cabe ressaltar o fato de que todos os materiais avaliados demonstraram potencial para serem utilizados como substratos no cultivo.

## **5.2 – Experimento 2**

### **5.2.1 – Qualidade da Água**

Segundo Arulampalam *et al.* (1998), a qualidade da água do cultivo é um fator determinante para o sucesso do mesmo, a deterioração da qualidade da água pode causar estresse às espécies cultivadas deixando-as mais suscetíveis a doenças causadas por organismos patogênicos.

Os parâmetros de qualidade da água monitorados neste experimento demonstraram que as condições estiveram próximas do estabelecido como favorável para o cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*, em termos de temperatura (Wasielesky 2000, Hennig & Andreatta 1998), salinidade (Wasielesky 2000) e pH e oxigênio dissolvido (Santos & Marchiori 1992, Poersh & Marchiori 1992).

As variações bruscas de salinidade registradas nos três experimentos são características do estuário da Lagoa dos Patos e já foram registradas em experimentos

anteriores (Kantin & Baumgarten 1982, Wasielesky *et al.* 1995), este tipo de variação esta relacionado com a variação de maré e atuação dos ventos no local do cultivo.

Em relação aos produtos nitrogenados as concentrações de amônia e nitrito registradas ficaram abaixo do nível de segurança recomendado para o cultivo de juvenis desta espécie (Ostrensky & Wasielesky 1995, Sánches 1997). Quanto a concentração de nitrato Sachisida (1997) determinou que o nível de segurança para o cultivo de juvenis de *F. paulensis* na salinidade 5 é de 190mg/l, e os valores mais altos registrados no estuário da Lagoa dos Patos foram de 4,55mg/l (Baumgarten *et al.* 1995, Niencheski & Window 1994) portanto podemos supor que dificilmente a concentração de nitrato afetou o desenvolvimento dos camarões cultivados.

A boa qualidade da água se deve principalmente a intensa renovação a que estiveram sujeitas às gaiolas-berçário instaladas diretamente em um local com as características da enseada do Saco do Justino, conforme exposto na introdução do trabalho. Em estudos anteriores onde foi avaliada a influência do biofilme, ou perifiton formado nas superfícies existentes nas unidades de cultivo, ficou demonstrada a melhoria na qualidade da água nas unidades onde havia formação de biofilme em relação aos controles onde a formação do biofilme foi limitada (Thompson *et al.* 2002, Langis *et al.* 1988) ou ainda melhores condições em unidades de cultivo onde havia maior área para formação de biofilme em relação a unidades em que a área disponível era menor (Langis *et al.* 1988, Bratvold & Browdy 2001, Mridula *et al.* 2003).

Segundo Ramesh *et al.* (1999) não é possível descartar a hipótese de que a melhor qualidade da água nas unidades de cultivo onde ocorre formação de biofilme contribua para um maior crescimento dos organismos cultivados.

Neste experimento a similaridade entre a qualidade da água presente nas estruturas de cultivo dos dois tratamentos abre a possibilidade de se buscar em fatores diversos o motivo que determinou o maior crescimento dos camarões. Além disso os substratos extras colocados em ambos os tratamentos tiveram a função de excluir o efeito de maior distribuição espacial dos camarões, o qual, conforme reportado em outros estudos também pode contribuir para um maior crescimento dos organismos cultivados (Tidwell *et al.* 1998, 1999, 2000, 2002, Langis *et al.* 1988, Bratvold & Browdy 2001).

### 5.2.2 – O Biofilme como Alimento

Diversos estudos demonstraram um maior crescimento dos organismos cultivados na presença de biofilme em relação aos controles, onde o biofilme era limitado ou havia menor área para o seu desenvolvimento (Azim *et al.* 2001, Langis *et al.* 1988, Mridula *et al.* 2003, Ramesh *et al.* 1999, Thompson *et al.* 2002, Umesh *et al.* 1999).

Tidwell *et al.* (1998, 1999, 2000, 2002) reportaram além de maior crescimento e produção final, taxas de conversão alimentar menores no cultivo de *Macrobrachium rosenbergii* em viveiros dotados de substratos extras em relação aos controles sem substratos. Estes resultados, segundo os autores, se devem a presença de alimento natural na forma de perifiton aderido aos substratos, o qual estaria funcionando como um complemento alimentar.

Mridula *et al.* (2003) reportaram valores mais altos de RNA, DNA e da razão RNA/DNA em peixes cultivados em tanques providos de substratos extras em relação aos controles e relacionaram este fato com a maior síntese de proteínas nos peixes cultivados sob a presença de maiores quantidades de biofilme. Neste mesmo estudo, os autores encontraram maiores atividades das proteases, lipases e amilases nos peixes cultivados nos tanques providos de substratos, o que estaria indicando uma maior contribuição em termos de proteínas, lipídeos e carboidratos presentes no biofilme. Naquele estudo, os peixes cultivados nos tanques com substratos extras tiveram um crescimento de 34 a 46% maior em relação aos controles. Da mesma forma foi determinada uma sobrevivência significativamente maior dos peixes cultivados nos tanques com maior quantidade de biofilme disponível.

Os resultados encontrados neste experimento indicaram que o biofilme formado nas panagens das gaiolas-berçário contribuiu efetivamente para um maior crescimento dos juvenis de *F. paulensis* cultivados sob as condições propostas.

A influência positiva do biofilme em termos alimentares pode estar relacionada com: sua qualidade nutricional, sua capacidade de funcionar como um complemento alimentar de alta qualidade ( Langis *et al.* 1988, Thompson *et al.* 2002, Santos 2003) além da sua disponibilidade.

Segundo Jorgensen (1998), o camarão-rosa *F. paulensis* quando cultivado em gaiolas fixas no estuário da Lagoa dos Patos, comporta-se como um organismo zoobentófago-detritívoro, ingerindo matéria vegetal viva na escassez de fontes animais e detriticas vegetais.

A análise do biofilme formado nas panagens das gaiolas-berçário mostrou que a sua composição foi semelhante a do biofilme formado nas panagens avaliadas no experimento 1, ou seja bactérias, cianobactérias, ciliados, nematódeos e principalmente diatomáceas, organismos que, como já foi relatado, fazem parte da dieta preferencial dos camarões peneídeos (Gleason 1986, Stoner & Zimmerman 1988, Nunes *et al.* 1997). Ainda segundo estes autores a preferência por determinado item alimentar pode variar em termos da disponibilidade e do hábito mais carnívoro ou herbívoro de cada espécie.

Apesar de não ter sido realizada a análise do conteúdo estomacal, foi observado que os camarões consumiam ativamente o biofilme presente nas panagens das gaiolas-berçário. Thompson *et al.* (2002) demonstraram que juvenis de *F. paulensis* consumiram o biofilme formado nas paredes dos tanques de cultivo de uma forma não seletiva.

Uma análise realizada por Thompson *et al.* (2002) no biofilme formado em tanques-berçário de *F. paulensis*, determinou que cerca de 6% do biofilme era composto por proteína (base úmida). Já Santos (2003), analisando o biofilme formado nas panagens de gaiolas de engorda de *F. paulensis* cultivados na enseada Saco do Justino, encontrou 3,1% de proteína, 0,8% de lipídeos, 12,9% de carboidratos e 4,3% de cinzas em base úmida, a análise em base seca determinou: 14,7% de proteína, 3,7% de lipídeos, 61,2% de carboidratos e 20,4% de cinzas. Os níveis protéicos encontrados por estes autores se assemelham aos valores determinados por Azim *et al.* (2001).

D'Abramo *et al.* (1997) recomendam que a dieta de camarões deve ter alto nível de proteínas (30-57%), médio de carboidratos (20%) e nível de lipídeos por volta de 10%. Quanto aos níveis de proteína, na fase de berçário é recomendado um nível de cerca de 40%, entretanto cabe salientar que não só a quantidade de proteína é importante mas também a sua qualidade e digestibilidade por parte do organismo cultivado.

Os níveis protéicos determinados para o biofilme são relativamente baixos em relação ao que é assumido como ideal, entretanto a qualidade nutricional do biofilme provavelmente se deve a este ser composto por elementos presentes *in natura*, os quais são ricos em elementos essenciais, como vitaminas, ácidos graxos poliinsaturados, esteróis, aminoácidos, carotenóides, conforme citado por Thompson *et al.* (2002) e Langis *et al.* (1988). Segundo O'Brien (1994), o valor energético das diatomáceas se assemelha ao de alimentos de origem animal como copépodos e poliquetas. As cianobactérias e bactérias são ricas em ácidos graxos poliinsaturados e carotenóides, substâncias importantes para o desenvolvimento dos crustáceos e que não podem ser sintetizadas por eles (Kumarly *et al.* 1989, Meyers & Latscha 1997).

De acordo com Gadiant & Schai (1994) o comportamento alimentar dos camarões é lento. Além disso, os camarões sabidamente manipulam muito a ração antes de ingeri-la, contribuindo para o lixiviamento de nutrientes hidrossolúveis como as vitaminas. Justamente estes nutrientes são responsáveis pelo encarecimento das rações comerciais devido à necessidade de serem adicionados em quantidades superiores às requeridas pelos camarões ou de serem incorporados em forma revestida a fim de se tornarem mais estáveis.

Devido ao biofilme ser composto por uma matriz orgânica bastante aderente, existe a possibilidade dele ter a capacidade de adsorver os compostos lixiviados da ração e mantê-los disponíveis para os organismos cultivados. Além disso, Santos (2003) sugere que a suplementação nutricional proporcionada pelo biofilme talvez possa favorecer futuramente, a elaboração de rações comerciais específicas para sistemas de cultivo desta natureza. A redução parcial ou total da incorporação de insumos de alto custo, como vitaminas, carotenóides, ácidos graxos poliinsaturados e outros, poderia representar economia para o fabricante e possivelmente para o produtor. Esta afirmação encontra respaldo nas conclusões de Otoshi *et al.* (2001) que determinaram que é possível utilizar uma ração com menor nível protéico na fase de berçário de *L. vannamei* quando utilizada água proveniente de viveiros, rica em alimentos naturais como bactérias e microalgas. Entretanto, futuros estudos são necessários para se determinar o nível de elementos essenciais em diferentes fases de formação do biofilme

Outra vantagem que pode ser atribuída ao biofilme é a sua disponibilidade. Os camarões peneídeos são dotados de um curto trato digestivo, em vista disso ao se

alimentarem rapidamente preenchem seu estômago e se sentem saciados (Hill e Wassenberg, 1985). Os restos de ração não consumidos sofrem os efeitos da lixiviação, perdendo rapidamente sua qualidade nutricional e também acabam por desintegrar-se dificultando a manipulação pelo camarão quando este volta a procurá-los. Por este motivo alguns autores pesquisaram a influência da frequência alimentar sobre o crescimento de peneídeos e determinaram que com a divisão do fornecimento de ração em um maior número de vezes houve um maior crescimento dos camarões cultivados e um maior consumo do alimento oferecido (Robertson *et al.* 1993, Marques 1997, Lehnen 2003).

Quando o alimento esta presente na forma de biofilme é otimizado o seu consumo pelos camarões cultivados, pois ele esta disponível 24 horas por dia e não apresenta as desvantagens da ração em termos de lixiviação de nutrientes ou desintegração das partículas. Portanto, sempre que o camarão tiver necessidade de ingestão de alimento ele poderá se valer do biofilme, desta forma consumindo uma maior quantidade de alimento o que deve proporcionar uma melhor condição para o cultivo.

Cabe também salientar que a influência positiva do biofilme demonstrada neste experimento se deve também ao hábito alimentar dos juvenis de *F. paulensis*. Como exemplo, citamos o fato de que Azim *et al.* (2001), trabalhando com duas espécies de peixes de água doce, *Labeo rohita* e *Labeo gonius*, encontraram um crescimento 77% maior de *L. rohita* quando este foi cultivado na presença de bambús que funcionavam como substrato para fixação de biofilme. Já para o *L. gonius* não foi detectada diferença significativa no crescimento. Os autores atribuíram esta diferença nos resultados aos hábitos alimentares diferentes das duas espécies pois o *L. rohita* era regularmente observado consumindo o biofilme formado nos bambús, enquanto que *L. gonius* não utilizava o biofilme como alimento.

Outro fator que pode influenciar o consumo do biofilme é a ontogenia da espécie em questão. Por exemplo Jones *et al.* (2002) trabalhando com o cultivo de juvenis do lagostim *Cherax destructor*, determinaram que a habilidade destes crustáceos de se alimentarem de organismos aderidos aos substratos sintéticos presentes nas unidades de cultivo parecia diminuir conforme os lagostins se desenvolviam.

### **5.3 – Experimento 3**

#### **5.3.1 – Qualidade da Água**

Todos os temas abordados para o experimento 2 em relação à qualidade da água podem ser também referidos a este experimento, ou seja, a qualidade da água esteve próxima do considerado ideal para a espécie em questão e a similaridade da qualidade da água presente nas gaiolas-berçário de ambos os tratamentos permite se buscar em fatores diversos o motivo da diferença significativa encontrada em termos de crescimento e sobrevivência.

#### **5.3.2 – A Influência do Aumento da Área para Fixação de Biofilme**

Além da maior disponibilização de biofilme causada pela inclusão de substratos extras nas unidades de cultivo, a presença dos substratos acaba diminuindo a densidade relativa dos camarões cultivados, devido a um aumento na sua distribuição espacial.

Estudos comprovam que a densidade de povoamento tem influência sobre a sobrevivência e o crescimento dos camarões cultivados. Martin *et al.* (1998) obtiveram uma relação inversa entre o crescimento e a densidade de cultivo trabalhando com *Litopenaeus stylirostris* em viveiros, o mesmo tipo de relação foi encontrado por Wasielesky *et al.* (2001) no cultivo de *F. paulensis* em cercados. Speck *et al.* (1993) determinaram que a densidade de cultivo tem influência sobre a sobrevivência e o crescimento de juvenis de *F. paulensis* cultivados em tanques-berçário.

Trabalhando com o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, Tidwell *et al.* (1998) obtiveram maior crescimento e produção final (cerca de 20%) através da utilização de substratos extras. Neste trabalho a intenção dos autores foi aumentar a área disponível para distribuição espacial dos camarões tendo em vista o comportamento territorialista do *M. rosenbergii*. Resultados semelhantes foram encontrados por Langis *et al.* (1988) no cultivo de *Daphnia magna*. Neste trabalho os autores determinaram que

este microcrustáceo teve um maior crescimento nos tratamentos onde foram colocados substratos extras em relação aos tratamentos onde não foram colocados substratos tanto na ausência quanto na presença de biofilme. Este resultado foi definido pelos autores como “efeito parede”. Bratvold & Browdy (2001) também levantaram a hipótese de que o uso de substratos teria um efeito de diminuir a “superlotação” dos tanques de cultivo e, desta forma, evitando o estresse dos camarões e colaborando para uma maior produção em relação aos controles sem substratos extras.

Os resultados deste experimento comprovaram a hipótese de que uma maior quantidade de área disponível para a fixação de biofilme teria um efeito positivo sobre o crescimento dos camarões. Entretanto, não é possível descartar a possibilidade de haver um sinergismo da maior distribuição espacial dos camarões proporcionada pela presença de substratos extras e da maior disponibilidade de alimento na forma de biofilme no tratamento CS.

Neste experimento também foi detectada diferença significativa na sobrevivência dos camarões. Apesar de não ser possível uma comparação direta dos resultados deste experimento com os do experimento 2, aparentemente os benefícios trazidos pela colocação dos substratos extras foram relacionados justamente com o incremento de cerca de 5% na sobrevivência dos camarões no tratamento CS, visto que no tratamento SS a disponibilidade de biofilme proporcionou um crescimento até mesmo maior que o alcançado no tratamento LB do experimento 1.

#### **5.4 – Biofilme, Produtos Nitrogenados e Oxigênio Dissolvido**

Em relação aos produtos nitrogenados, apesar de não terem sido detectadas diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre a sua concentração na água das gaiolas e dos pontos de controle não deve ser descartada a hipótese de que os microorganismos autótrofos presentes no biofilme estivessem utilizando os nutrientes excretados pelos camarões, principalmente a amônia, e desta forma diminuindo às suas concentrações, conforme já foi demonstrado em trabalhos anteriores (Thompson *et al.* 2002, Mridula *et al.* 2003).

Outra possibilidade é que bactérias quemoautotróficas presentes no biofilme, estivessem oxidando os compostos nitrogenados e, desta maneira, diminuindo a sua concentração. Bratvold & Browdy (2001) encontraram maiores taxas de nitrificação em tanques de cultivo de *L. vannamei* providos de Aquamats<sup>tm</sup> em relação aos controles onde não foram colocados substratos. Oliveira *et al.* (2003), utilizando técnicas de biologia molecular (Fluorescent *In Situ* Hybridization – FISH), relacionaram a queda da concentração de amônia em tanques de larvicultura de *F. paulensis* com o aumento na densidade do grupo de  $\beta$ -proteobactérias, ao qual pertence um grande número de bactérias nitrificantes.

Segundo Azim *et al.* (2001), os microorganismos autotróficos presentes no biofilme podem incrementar a concentração de oxigênio dissolvido nas estruturas de cultivo. Santos (2003) relata ter encontrado diferenças estatisticamente significativas entre os valores de oxigênio dissolvido em gaiolas com biofilme em relação ao meio externo durante o dia. No presente trabalho não foram detectadas diferenças significativas deste parâmetro em relação às gaiolas e o meio externo ao longo do período experimental e as concentrações encontradas ficaram dentro do espectro de variação registrado por Baumgarten & Niencheski (1990) para o estuário da Lagoa dos Patos.

Segundo Almeida (2002), a renovação de água em cercados montados na mesma região ficaria entre 2700 e 5600%/dia, não permitindo desta forma o acúmulo de produtos nitrogenados ou a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido dentro das unidades de cultivo. Por outro lado, com o objetivo de manter uma boa qualidade da água, em alguns sistemas de cultivo é realizado o manejo de limpeza das gaiolas para limitar a colmatação das mesmas e desta forma facilitar a circulação de água. Este manejo também tem o objetivo de diminuir a carga de peso à que estão expostas as gaiolas, preservando assim sua integridade.

No presente estudo foi demonstrado que a qualidade de água das unidades de cultivo não foi prejudicada pela formação de biofilme nas panagens destas e também não ocorreu nenhum problema quanto a rompimento de panagens ou fato similar. Apesar disto, é importante considerar, como foi salientado por Santos (2003), que a manutenção do biofilme nas panagens das estruturas de cultivo, deve ser realizada sob monitoramento periódico.

Atenção deve ser dada as quedas na concentração de oxigênio dissolvido que podem acontecer durante a noite quando cessa a atividade fotossintética. Nos experimentos 2 e 3, foi utilizada a tela de polietileno com abertura de malha de 1mm, justamente devido a esta ter apresentado uma maior capacidade de fixar biofilme. Conseqüentemente este tipo de substrato deve apresentar um maior número de organismos autotróficos, os quais, na ausência de luz vão consumir oxigênio e eventualmente, no caso de não ocorrer uma renovação de água tão intensa, podem causar a queda da concentração deste a níveis letais.

Os resultados destes experimentos demonstraram a possibilidade do uso destes substratos, mas, em sistemas onde a renovação de água for limitada, os cuidados devem ser mais intensificados a fim de prevenir a morte dos organismos cultivados.

Santos (2003) também salienta que certos fatores biológicos e técnicos, tais como densidade fitoplanctônica, taxa de arraçoamento, níveis protéicos da alimentação, espécie cultivada, densidade de cultivo, biomassa cultivada e ontogenia do organismo, também podem modificar as concentrações dos produtos nitrogenados e do oxigênio dissolvido no ambiente de cultivo. Portanto, as diferentes circunstâncias a que estão submetidos os cultivos impõem a necessidade de monitoramentos periódicos a fim de prever problemas para o cultivo e para o ambiente.

### **5.5 – A Composição do Biofilme**

Os resultados da análise de composição do biofilme realizada nos experimentos 1 e 3 demonstraram que os microorganismos encontrados nos substratos são provavelmente alguns daqueles que estão presentes no local de cultivo e que, conforme suas características, encontram alguma vantagem em se aderirem às superfícies disponíveis. Face a este fato esta a similaridade dos organismos encontrados nas diferentes panagens avaliadas no experimento 1, que acabaram sendo os mesmos que colonizaram as panagens das gaiolas no experimento 3. Santos (2003) também encontrou semelhança na composição do biofilme formado em gaiolas de cultivo na mesma região.

No experimento 3 foi observado que a presença ou não dos camarões nas unidades de cultivo teve influência sobre a comunidade de microorganismos do biofilme.

A concentração média de clorofila *a* foi mais elevada nos tratamentos CS (com substratos extras e com camarões) e SS (sem substratos extras e com camarões) em relação ao tratamento SCAM (com substratos extras e sem camarões) apesar de não diferir significativamente ( $p>0,05$ ). Este fato já foi determinado em um trabalho anterior, onde a presença de peixes se alimentando de perifíton causou o incremento da concentração de clorofila *a* (Keshavanath *et al.* 2001). De acordo com estes autores a presença dos peixes pastando sobre o perifíton mantém o crescimento deste na fase exponencial permitindo o constante aumento da biomassa das microalgas ali presentes. Segundo Paulo César Abreu – professor titular do laboratório de Ecologia de Fitoplâncton - FURG (comunicação pessoal), a presença de pastadores também abre espaços no substrato para a colonização de biofilme podendo causar um aumento na biomassa deste.

O fato da concentração de clorofila *a* não ter diminuído ou se estabilizado nos tratamentos CS e SS até o trigésimo sétimo dia de cultivo, como pode ser visualizado na figura 41, estaria indicando que o desenvolvimento do biofilme não estaria sendo limitado devido a predação pelos camarões. Ao contrário estaria sendo estimulada, o que leva a acreditar que a densidade de cultivo poderia ser mais elevada. A queda da concentração de clorofila *a* ao final do experimento (45 dias) ocorreu em todos os tratamentos e portanto poderia ter sido causada por alguma alteração ambiental, como a queda de salinidade observada nos últimos dias do cultivo. Segundo Santos (2003), a salinidade tem influência sobre a concentração de clorofila *a* presente no biofilme.

Ainda no experimento 3 foi observado que ocorreu uma mudança na diversidade das diatomáceas presentes no biofilme das gaiolas dos tratamentos CS e SCAM. No tratamento onde havia camarões (CS) foi observado um significativo aumento no número de diatomáceas penadas em relação ao tratamento onde não havia camarões nas gaiolas (SCAM). O inverso aconteceu em relação às diatomáceas cêntricas, ou seja no tratamento onde não haviam camarões foi observado um significativo aumento deste tipo de diatomáceas em relação às do tipo penadas. Três hipóteses foram formuladas

para tentar explicar estes fatos: 1- os camarões teriam uma seletividade no consumo de diatomáceas cêntricas, desta forma favorecendo o crescimento das penadas no tratamento onde eles estavam presentes; 2- os camarões não estariam consumindo seletivamente as diatomáceas, entretanto as do tipo penada teriam uma maior capacidade de aproveitar os espaços disponibilizados pelo consumo dos camarões e por isso cresceriam mais. Já nas gaiolas onde não havia camarões as diatomáceas cêntricas levariam vantagem sobre as penadas na competição pelos espaços disponíveis e por isso cresceriam em maior número; 3- as diatomáceas penadas teriam uma maior capacidade de aproveitar os nutrientes disponibilizados pela excreção dos camarões, especialmente amônia, e por isso cresceriam mais nas gaiolas onde estes estavam presentes.

Com o objetivo de se compreender o que realmente aconteceu, maiores estudos devem ser elaborados levando em consideração a dinâmica das diatomáceas e a capacidade destas em aproveitar fatores como espaço disponível e concentração de nutrientes entre outros. Huchette *et al.* (2000) trabalhando com o cultivo de tilápias em gaiolas com e sem substratos extras (garrafas plásticas) demonstraram diferenças na diversidade e na quantidade de diatomáceas, com mudanças nas espécies dominantes ao longo do período de cultivo e diatomáceas maiores sendo encontradas no conteúdo estomacal dos peixes, sugerindo uma predação seletiva pelas tilápias. Também foi determinado que a composição de diatomáceas encontradas nos estômagos das tilápias não foi afetada pela complementação alimentar ou a presença dos substratos extras (garrafas). A diversidade de espécies naquele estudo diminuiu nas gaiolas onde havia tilápias em relação aos controles (sem peixes).

Quanto aos outros microorganismos que foram identificados e enumerados no biofilme (cianobactérias, ciliados e nematódeos), apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas na sua abundância nos diferentes tratamentos, provavelmente devido às grandes variações encontradas, ao final do experimento 3 pode ser notado uma diminuição no número de nematódeos e ciliados no tratamento CS em relação ao SCAM, o que poderia estar indicando uma predação preferencial destes organismos por parte dos camarões.

Thompson. (1999) encontrou uma diminuição significativa dos microorganismos do biofilme em tanques onde juvenis de *F. paulensis* foram cultivados na ausência de

fornecimento de ração, demonstrando a procura de alimento no biofilme por parte dos camarões. No experimento 3 não foi possível identificar uma diminuição significativa no número dos microorganismos presentes no biofilme nas gaiolas povoadas. Entretanto, vale lembrar que a intensa renovação de água a que estão sujeitas às gaiolas no ambiente onde foi realizado o experimento poderia estar beneficiando o recrutamento de organismos para o biofilme e desta forma mascarando o consumo destes pelos camarões.

## **6 – CONCLUSÕES**

### **6.1 – Conclusão Geral**

Os resultados dos experimentos realizados demonstraram que o biofilme e a utilização de substratos extras para sua fixação, têm uma influência positiva sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis de *F. paulensis* cultivados sob as condições encontradas no presente estudo.

Apesar de percentualmente os incrementos no crescimento dos camarões nos experimentos 2 e 3 (16% e 10,7% respectivamente), e os cerca de 5% a mais de sobrevivência encontrados no experimento 3 poderem parecer não muito altos, vale aqui lembrar que conforme o investimento inicial, 5 ou 10% a mais podem representar um retorno consideravelmente maior para o produtor.

Também é importante ressaltar que quando o cultivo é realizado em regiões com clima subtropical ou temperado, onde o período de cultivo é limitado aos meses mais quentes do ano, a otimização do crescimento em um tempo menor de cultivo proporcionada pela estocagem de camarões maiores nas estruturas de engorda também é de considerável valor.

### **6.2 – Conclusões Específicas**

- ◆ Os resultados do experimento 1 demonstraram que todos os materiais avaliados têm potencial para serem utilizados como substratos para fixação de biofilme, a escolha por um tipo ou outro pode depender da sua disponibilidade ou do tipo de cultivo em questão (grau de circulação de água), por exemplo em um cultivo onde a circulação é limitada como no caso de tanques ou viveiros, talvez seja melhor o uso de substratos com maior abertura de malha os quais permitiriam uma maior circulação de água, já no caso de cultivos em locais abertos, como os realizados neste trabalho, ficou demonstrada a possibilidade de substratos com malha menor e que, mesmo quando totalmente colmatados, não prejudicaram a

qualidade da água do cultivo, devido a grande circulação natural do estuário;

- ◆ Os resultados do experimento 2 demonstraram que o biofilme teve uma influência positiva sobre o crescimento de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivados sob as condições encontradas neste estudo, provavelmente devido ao incremento nutricional proporcionado;
- ◆ Os resultados do experimento 3 demonstraram que o aumento de superfície disponível para fixação de biofilme teve influência positiva sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis do camarão-rosa *F. paulensis* cultivados sob as condições encontradas neste estudo, provavelmente devido ao sinergismo dos efeitos nutricionais promovidos pelo biofilme e do efeito de diminuição da densidade relativa proporcionado pela presença de superfícies extras;
- ◆ Os resultados do experimento 3 também indicaram que a presença ou ausência dos camarões nas gaiolas de cultivo teve influência sobre a comunidade de diatomáceas presentes no biofilme.

Com base nestas conclusões recomenda-se portanto a manutenção do biofilme nas gaiolas-berçário e a inclusão de substratos extras nas mesmas como uma forma de otimizar o crescimento de juvenis de *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em sistemas de berçário no estuário da Lagoa dos Patos. Apesar de haver um custo para a colocação dos substratos, os resultados atingidos justificam este gasto adicional, além disso, os substratos podem ser reutilizados a cada novo ciclo de cultivo.

## 7 – RECOMENDAÇÕES PARA FUTUROS ESTUDOS

Com o objetivo de colaborar na elaboração de futuros estudos sobre a influência e composição do biofilme, algumas recomendações são propostas a seguir:

- Para ser obtida uma melhor estimativa da concentração de clorofila *a* nos substratos seria interessante retirar amostras em diferentes profundidades;
- Para ser determinada a relação entre a capacidade de fixação de biofilme e abertura de malha do substrato devem ser elaborados experimentos avaliando substratos feitos do mesmo material com diferentes tamanhos de abertura de malha;
- Futuros estudos devem ser elaborados com o objetivo de determinar a composição do biofilme em termos de vitaminas, ácidos graxos poliinsaturados, esteróis e outros nutrientes essenciais, durante diferentes fase da formação e sob diferentes condições ambientais;
- Com o objetivo de determinar a seletividade dos camarões por determinados itens encontrados no biofilme devem ser elaborados estudos específicos e realizada a análise do conteúdo estomacal dos camarões
- Para determinar a real contribuição do biofilme para o crescimento dos camarões, podem ser realizados estudos utilizando-se marcadores radioativos e isótopos de Carbono e Nitrogênio.

## 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, PC, FL THOMPSON, WJr WASIELESKY & RO CAVALLI 1998. New perspectives in the use of microorganisms in shrimp culture: food source, water quality and diseases control. Anais do Aquicultura Brasil'98. Recife, Pernambuco, Nov. 2-6, 1998: 703-709.
- ALMEIDA, SCS. 2002. Análise preliminar do impacto do cultivo do camarão *Penaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos sobre a qualidade da água. Trabalho de Conclusão do Curso de graduação em Oceanologia, FURG, Rio Grande. 21 p.
- ANDERSON, RK, PL PARKER, AL LAWRENCE. 1987. A  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  tracer study of the utilization of presented feed by commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system. *J. World Aquac. Soc.*, 18: 148-155.
- APUD, FD, JH PRIMAVERA, & PL TORRES. 1983. Farming of prawns and shrimps. Extension Manual 5. SEAFDEC Aquaculture Department, Iloilo, Philippines, 67p.
- ARULAMPALAM, P, FM YUSOLF, AT LAW & SS RAO. 1998. Water quality and bacterial populations in a tropical marine cage culture farm. *Aquac. Res.* 29: 617-624.
- AVNIMELECH, Y, 2000, Protein utilization in aquaculture systems. Inter. Conf. AQUA 2000, Nice, France, May 2-6, 2000. 41p.
- AZIM, ME, MA WAHAB, AA VAN DAM, MCM BEVERIDGE & VERDEGEM. 2001. The potencial of periphyton-based culture of two Indian major carps, rohu *Labeo rohita* (Hamilton) and gonia *Labeo gonius* (Linnaeus). *Aquac. Res.*, 32: 209-216.
- BAUMGARTEN, MGZ & LF NIENCHESKI. 1990. O estuário da Laguna dos Patos: variações de alguns parâmetros físico-químicos da água e metais associados ao material em suspensão. *Ciên. Cult.*, 42(5/6): 390-396.
- BAUMGARTEN, MGZ, LF NIENCHESKI & KN KUROSHIMA. 1995. Qualidade das águas que margeiam o município de Rio Grande (RS, Brasil): nutrientes e detergentes dissolvidos. *Atlântica*, 17: 17-34.

- BENDSCHNEIDER, K & RJ ROBINSON. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.*, 11, 87-96.
- BEMVENUTI, CE. 1983. Efeitos da predação sobre as características estruturais de uma comunidade macrozoobentônica numa enseada estuarina da Lagoa dos Patos. Rio Grande, FURG. (Dissertação de Mestrado) 120p.
- BEVERIDGE, MCM. 1987. Cage aquaculture. Fishing News Book, London, United Kingdom. 351pp.
- BIANCHI, M, E BERDIER, A BIANCHI, AM DOMENACH & D MARTY. 1990. Use of <sup>15</sup>N Labelled Food Pellets to Estimate the Consumption of Heterotrophic Microbial Communities to Penaeid Prawns Diet in Closed-System Aquaculture. In: R. Lésel (ed.). *Microbiology in Poeciloterms*, Elsevier Science Publishers, B. V. (Biomedical Division), Amsterdam, The Netherlands.
- BOYD, CE. 1999. Sustainable Aquaculture Practises: Management of shrimp ponds to reduce the eutrophication potential of effluents. *Gl. Aquac. Advoc.* 2(6): 12-13.
- BRATVOLD, D & CL BROWDY. 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats™) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195: 81-94.
- BRISSON, S. 1986. Estudo da população de peneídeos da área de Cabo Frio. V. Experiências de cultivo do camarão-rosa (*Penaeus paulensis* e *Penaeus brasiliensis*) na Laguna de Aruarama (RJ). *Bol. Zool. Univ. São Paulo*, 10: 243-262.
- CAVALLI, RO, M SCARDUA & WJ WASIELWSKY. 1997. Reproductive performance of different-sized wild and pond reared *Penaeus paulensis* females. *J. World Aquac. Soc.* 28(3): 260-267.
- CAVALLI, RO, SM PEIXOTO & WJ ASIELESKY. 1998. Performance of *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante) broodstock under long-term exposure to ammonia. *Aquaculture Research*, 29:815-822.
- CONOVER, RJ. 1982. Interrrelations between microzooplankton and other plankton organisms. *Ann. Inst. Océanogr.*, Paris 58: 31-46.
- COSTA-PIERCE, BC. 2002. The blue Revolution – Aquaculture must go green. *World Aquac.*, 33(4): 4-5.
- CURRIE, DJ. 2001. Acuicultura: uma oportunidade para beneficiar a la humanidad. *Aquan. de Latin*. 1(1): 4-11.

- D'ABRAMO, LR, DE CONKLIN & DM AKIYAMA. 1997. Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society. 587 p.
- D'INCAO, F. 1982. Distribuição de *Penaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967) em relação aos parâmetros ambientais na Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Atlântica*, 5(2) 37pp.
- D'INCAO, F. 1991. Pesca e biologia de *Penaeus paulensis* na Lagoa dos Patos, RS. *Atlântica*, 13: 159-169
- D'INCAO, F. 1995. Taxonomia, padrões distribucionais e ecológicos dos Dendrobranchiata (Crustacea Decapoda) do Brasil e Atlântico Ocidental. Curitiba, UFP. (Tese de Doutorado) 365p.
- DOMINGOS, JA & LA VINATEA. 2002. Perspectivas do uso de substratos artificiais. Anais do XII Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Goiânia, Brasil, p.36.
- FAO 2000. World review of fisheries and aquaculture – fisheries resources: trends in production, utilization and trade. [www.fao.org/docrep/003/x8002e04.htm#topofpage](http://www.fao.org/docrep/003/x8002e04.htm#topofpage)
- FAO 2002. The state of world fisheries and aquaculture – fisheries resources: trends in production, utilization and trade. [www.fao.org/docrep/005/y7300/y7300e04.htm#P3\\_47](http://www.fao.org/docrep/005/y7300/y7300e04.htm#P3_47).
- GADIANT, M & E SCHAI. 1994. Leaching of various vitamins from shrimp feed. *Aquaculture*, 124: 201-205.
- GLEASON, DF. 1986. Utilization of salt marsh plants by post-larval brown shrimp: carbon assimilation rates and food preferences. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 31: 151-158.
- GOMES, LA. 2000. The tao of aquaculture: cultivating aquatic organisms in concert with their microscopic world. *World Aquaculture*, 31: 20-61.
- HOROWITZ, A & S HOROWITZ. 2001. Microorganismos e práticas de alimentación en acuicultura. *Aquan. de Latin.*, 1(1): 37-39.
- HE, H & AL Lawrence. 1993. Vitamin C requirements of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 114: 305-316.
- HENNIG, OL & ER ANDREATTA. 1998. Effect of temperature in an intensive nursery system for *Penaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967). *Aquaculture*, 164: 167-172.

- HILL, BJ & TJ WASSENBERG. 1985. Feeding behaviour of adult tiger prawns, *Penaeus esculentus* under laboratory conditions. *Austr. J. Mar. Fresh. Res.*, 38: 183-190.
- HOBBIE, JE, RJ DALEY & S JASPER. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *App. And Environ. Microb.*, 3: 1225-1228.
- HUCHETTE, SMH, MCM BEVERIDGE, DJ BAIRD & M IRELAND. 2000. The impacts of grazing by tilapias (*Oreochromis niloticus* L.) on periphyton communities growing on artificial substrate in cages. *Aquaculture*, 186: 45-60.
- JEFFREY, SW & GF HUMPHREY. 1975. New espectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*. 167: 191-194.
- JONES, PL, T THANUTHONG & P KERR. 2002. Preliminary study on the use of synthetic substrate for juvenile stage production of the yabby, *Cherax destructor* (Clark) (Decapoda:Parastacidae). *Aquac. Res.*, 33(10): 811.
- JORGENSEN, P. 1998. Cultivo de *Penaeus paulensis* em cercados experimentais em uma enseada estuarina da Lagoa dos Patos, Brasil: Respostas da Associação de Macroinvertebrados bentônicos. Rio Grande, FURG. (Dissertação de Mestrado) 227p.
- KANTIN, R. 1983. Hydrologie et qualité des eaux de la region sud de la Lagune dos Patos (Brasil) et de la plateforme continental adjacente, PhD Thesis, Univ Bordeaux, France.
- KANTIN, R & MGZ BAUMGARTEN. 1982. Observações hidrográficas no estuário da Lagoa dos Patos: distribuição e flutuações dos sais nutrientes. *Atlântica*, 5(1): 67-75
- KESHAVANATH, P, B GANADHAR, TJ RAMESH, JM van ROOIJ, MCM BEVERIDGE, DJ BAIRD, MCJ VERDEGEM & AA van DAM. 2001. Use of artificial substrates to enhance production of freshwater herbivorous fish in pond culture. *Aquac. Res.*, 32: 189-197.
- KUMARLY, K, DA JONES, AB YULE, J EAST. 1989. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa I to postlarvae I, on live feeds, artificial diets and on combinations of both. *Aquaculture*, 81: 27-45.

- LANGIS, R, D PROULX, J DE LA NOÛE & P COUTURE. 1988. Effects of a bacterial biofilm on intensive *Daphnia* culture. *Aquacultural Engineering*, 7: 21-38.
- LAWRENCE , AL & PG LEE. 1997. Research in the Americas. In: D'ABRAMO, LR, DE CONKLIN & DM AKIYAMA (eds.). Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, 566-587.
- LEHNEN, TC. 2003. Efeito da frequência de alimentação na performance do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em sistema de berçário primário. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, Rio Grande, FURG 17pp.
- MAC NEIL, R 2001. Consideraciones claves en sistemas heterotróficos, aeróbicos com cero recambio. *Aquan. de Latin.*, 1(1). 29-32.
- MARCHIORI, M.A. 1996. Guia ilustrado de maturação e larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. Ed. FURG, Rio Grande, RS. 79 p.
- MARCHIORI, MA (*in memoriam*) & RO CAVALLI. 1993. Maturação de *Penaeus paulensis* em escala comercial num sistema de recirculação semi-fechado. In: Anais IV Simpósio Brasileiro Sobre Cultivo de Camarão, 1993. João Pessoa. 385-398 pp.
- MARCHIORI, MA, DB DOLCI & T ALVES. 1982. Observations of some ecological parameters to asses the suitability to aquaculture of na estuarine inlet in the Patos Lagoon, Rio Grande, Brazil. *Simpósio Internacional sobre utilização de ecossistemas costeiros: planejamento, poluição e produtividade*, Rio Grande, RS. pp 70.
- MARQUES, LC. 1997. Efeito da salinidade e da frequência alimentar sobre o consumo de alimento, crescimento e sobrevivência de juvenis do camarão rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). Florianópolis, UFSC. (Dissertação de Mestrado) 67 p.
- MARTIN, J-LM, Y VERAN, O GUELORGET & D PHAM. 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture*, 164: 135-149.
- MEYERS, SP & T LATSCHA. 1997. Carotenoids. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D. E., Akiyama, D. M. Crustacean Nutrition - Advances in World Aquaculture, vol. 6. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, 164-193 pp.

- MONTOYA, R & M VELASCO. 2001. El rol de las bacterias sobre estrategias nutricionales y manejo de sistemas de acuicultura. *Aquan. de Latin*.1(1):18-20.
- MORIARTY, DJW. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151: 333-349.
- MRIDULA, RM, JK MANISSERY, P KESHAVANATH, KM SHANKAR MC NANDEESHA & KM RAJESH. 2003. Water quality, biofilm production and growth of fringe-lipped carp (*Labeo fimbriatus*) in tanks provided with two solid substrates. *Biores. Techn.*87: 263-267.
- NEW, MB. 1996. The challenges of sustainable aquaculture. *World Aquac.*, 27(2): 6-9.
- NIENCHESKI, LFH & WW WINDOM. 1994. Nutrient flux and budget in Patos Lagoon estuary. *The Scien. Of the Tot. Env.*, 149: 53-60.
- NUNES, AJP. 2002. Camarões Marinhos: Engenharia e logística operacional de berçários intensivos. *Pan. Aquic.*, 12(69): 25-37.
- NUNES, AJP, TCV GESTEIRA & S GODDARD. 1997. Food ingestion and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture*, 149: 121-136.
- O' BRIEN, CJ. 1994. Ontogenetic changes in the diet of juvenile brown tiger prawns *Penaeus esculentus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 112: 195-200.
- OLIVEIRA, SS, PC ABREU, ELC BALLESTER, MHS SANTOS & WJr WASIELESKY. 2003. The use of fluorescent *in situ* hybridization – FISH – technique in the identification of nitrifying bacteria present in the water and biofilm of shrimp culture tanks. Anais do World Aquaculture 2003, Salvador, Brazil.
- OSTRENSKY, NA & RCJ BARBIERI. 2002. Camarões Marinhos. Viçosa, Aprenda Fácil.367p.
- OSTRENSKY, A & WJr WASIELEKY. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967. *Aquaculture*, 132:339-347.
- OTOSHI, CA, AD MONTGOMERY, AM LOOK & SM MOSS. 2001. Effects of diet and water source on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World. Aquac. Soc.*, 32(2): 243-249.

- PAIVA, E. 2001. Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Em: RODRIGUES, J. (ed.). Plataforma tecnológica do camarão marinho cultivado. ABCC, CNPq e MAPA. Brasília, Brasil, Cap. 10: 61-78.
- PEIXOTO, SM 1999. Crescimento e reprodução em cativeiro do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* capturado no estuário da Lagoa dos Patos. Rio Grande, FURG.(Dissertação de Mestrado) 99pp.
- PEÑA, R & O PROSPERO. 1984. Floating nursery cage for higher survival. *Asian Aquac.*, 6(3): 06-08.
- POERSH, LH & MA MARCHIORI. 1992. Efeito do oxigênio no camarão-rosa *Penaeus paulensis*, Perez-Farfante, 1967. VII SIMBRAq – ENBRAPOA. p115.
- QUEIROZ, JF & P KITAMURA. 2001.Sustentabilidade Ambiental. Em: RODRIGUES, J. (ed.). Plataforma tecnológica do camarão marinho cultivado. ABCC, CNPq e MAPA. Brasília, Brasil, Cap. 10: 103-142.
- RAMESH, MR, KM SHANKAR, CV MOHAN & TJ VARGHESE. 1999. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. *Aquacultural Engineering*, 19: 119-131.
- ROBERTSON, L, AL LAWRENCE & FL CASTILLE. 1993. Effect of feeding and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone). *Aquac. and Fish. Manag.*, 24: 1-6.
- RODRIGUES, J. 2001. Plataforma tecnológica do camarão marinho cultivado. ABCC, CNPq e MAPA. Brasília, Brasil. 276 pp.
- RODRIGUEZ, EM, I BOMBEO-TUBURAN, S FUKUMOTO & TR TICAR. 1993. Nursery rearing of *Penaeus monodon* (Fabricius) using suspended (hapa) net enclosures installed in a pond. *Aquaculture*, 112: 107-111.
- ROUBACH, R, ES CORREIA, S ZAIDEN, RC MARTINO & R CAVALLI. 2003. Aquaculture in Brazil. *World Aquac.* 34(1): 28-35.
- SACHISIDA, A. 1997. Efeito agudo do nitrato sobre de juvenis do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda) em diferentes salinidades. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, Rio Grande, FURG 17pp.
- SÁNCHEZ, CC. 1997. Efeito da salinidade na toxicidade do nitrito sobre juvenis do camarão-rosa *penaeus paulensis*. Monografia de graduação, curso de Oceanologia, FURG, Rio Grande, RS. 22p.

- SANTOS, MHS. 2003. Alimentação do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda, Penaeidae) cultivado. Rio Grande, FURG. (Tese de Doutorado) 229 p.
- SANTOS, MHS & MA MARCHIORI. 1992. Efeito do pH no desenvolvimento larval do camarão rosa *Penaeus paulensis* Perez-Farfante, 1967. *VII SIMBRAq – II ENBRAPOA*. p116.
- SEIFFERT, W, GK FOES, E ANDREATTA & E BELTRAME. 2003. Cultivo de juvenis de *L. vannamei* em viveiros berçários traz flexibilidade ao produtor. *Pan. Aquac.* 13(75): 45-51
- SHERR, BF & EB SHERR. 1984. Role of heterotrophic protozoa in Carbon and energy flow in aquatic ecosystems. In: KLUG, MJ & CA REDDY (eds.). *Current Perspectives in Microbial Ecology, Na. Soc. Microbiol.*, Washington DC, 412-423.
- SHRESTA, MK & CF KNUD-HANSEN. 1994. Increasing attached microorganism biomass as a management strategy for nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production. *Aquacultural Engineering*, 13: 101-108.
- SILVA, TA & RO CAVALLI. 1999. Comportamento das pós-larvas de camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*, 1967 (Decapoda, Penaeidae) em relação à predação. *Nauplius*, 7:141-147.
- SOKAL, RR & FJ ROHLF. 1969. *Biometry. Principle and practices of statistics in biological research.* W. H. Freeman & Co., 776p.
- SPECK, RC, RO CAVALLI & MA MARCHIORI. 1993. Efeitos de diferentes densidades de estocagem sobre o crescimento e a sobrevivência de pós-larvas de *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) em sistema de berçário. *IV Encontro Rio-grandense de Técnicos em Aquicultura.* Porto Alegre. RS. 31-39p.
- STATSOFT, Inc. 1998. *STATISTICA for Windows [Computer program manual]*. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., WEB: <http://www.statsoft.com>.
- STONER, AW & RJ ZIMMERMAN. 1988. Food pathways associated with penaeid shrimps in a mangrove-fringed estuary. *Fish. Bull.*, 86(3):543-551.
- STRICKLAND, JDH & TR PARSONS. 1972. *A practical handbook of seawater analysis.* *Fish. Res. Board of Canadá.* Ottawa, 310p.

- STURMER, LN, TM SAMOCHA & AL LAWRENCE. 1992. Intensification of penaeid nursery systems. In: FAST, AW & LG LESTER (eds.). Culture of Marine Shrimp: principles and practices. Elsevier Scientific Publishing Company, 321-344.
- THOMPSON, F L. 1999. Importância do biofilme na manutenção da qualidade da água de cultivo e na alimentação de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda: Penaeidae). Rio Grande, FURG. (Dissertação de Mestrado) 79 pp.
- THOMPSON, F L, PC ABREU, R CAVALLI. 1999. The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. *Aquaculture.*, 174: 139-153.
- THOMPSON, FL, PC ABREU. & WJr WASIELESKY. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203: 263-278.
- TIDWELL, JH, DC COYLE & G SCHULMEISTER. 1998. Effects of added substrate on the production and population characteristics of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in Ponds. *J. World Aquac. Soc.*, 29(1): 17-22.
- TIDWELL, JH, S COYLE, C WEIBEL & J EVANS. 1999. Effects and interactions of stocking density and added substrate on production and population structure of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii*. *J. World Aquac. Soc.*, 30(2): 174-179.
- TIDWELL, JH, S COYLE, A VANARNUM & C WEIBEL. 2000. Production response of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* to increasing amounts of Artificial substrate in ponds. *J. World Aquac. Soc.*, 31(3): 452-458.
- TIDWELL, JH, S COYLE, A VANARNUM & C WEIBEL. 2002. Effects of substrate amount and orientation on production and population structure of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in ponds. *J. World Aquac. Soc.*, 33(1): 63-69.
- TSUZUKI, M, RO CAVALLI & A BIANCHINI. 2000. The effects of temperature, age, acclimation to salinity on the survival of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae. *J. World Aquac. Soc.*, 31(3): 459-468.
- UMESH, NR, SHANKAR & CV MOHAN. 1999. Enhancing growth of common carp, rohu and Mozambique tilapia through plant substrate: the role of bacterial biofilm. *Aquaculture International*, 7: 251-260.

- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Intergovernmental Oceanographic Commission Manual and Guides 12.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Int. Ver. Theor. Angew. Limnologie*, 9: 1-38.
- VALENTINI, H, F D'INCAO, LF RODRIGUEZ JEN REBELO & E RAHN. 1991. Análise da pesca do camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*) nas regiões sudeste e sul do Brasil. *Atlântica*, 13(1): 143-157.
- VINATEA, LA. 1997. Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura. Ed. da UFSC, Florianópolis. 166p.
- WAHAB, MA & MG KIBRIA. 1994. Katha and Kua fisheries: unusual fishing methods in Bangladesh. *Aquac. News* 18, 24.
- WAHAB, MA, ME AZIM, MH ALI, MCM BEVERIDGE & S KHAN. 1999. The potencial of periphyton-based culture of a native major carp calbaush, *Labeo calbasu* Hamilton. *Aquac. Res.*, 30: 409-420.
- WASIELESKY, WJr, 2000. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: efeitos de parâmetros ambientais e manejo de cultivo. Rio Grande, FURG. (Tese de Doutorado) 199p.
- WASIELESKY, WJr, RO CAVALLI, D DOLCI & TMA SILVA. 1995. Crescimento do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Crustacea:Decapoda) cultivado em gaiolas e cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *Anais do III Encontro Sul Brasileiro de Aquicultura*. 14-25pp.
- WASIELESKY, WJr, L JENSEN, S PEIXOTO, LH POERSCH & A BIANCHINI. 1999. Cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em cercados no estuário da Lagoa dos Patos. Resumos Expandidos/XII Semana Nacional de Oceanografia. Rio de Janeiro: UERJ, 1:325-327.
- WASIELESKY, WJr, LH POERSH, L JENSEN & A BIANCHINI. 2001. Effect of stocking density on pen reared pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda, Penaeidae). *Nauplius*, 9 (2): 163-167.
- WELCOMME, RL. 1972. Na evaluation of the acadja method of fishing as practised in the coastal lagoons of Dahomey (West Africa). *J. Fish Bio.* 4: 39-55.

- WHAL, M. 1989. Marine epibiosis I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 58: 175-189.
- WYBAN, JA & JN SWEENEY. 1991. Intensive shrimp production technology. Oceanic Institute shrimp manual. Honolulu, Hawai, USA. The Oceanic Institute, 158p.