



Pós Graduação em
AQUICULTURA
Fundação Universidade Federal do Rio Grande

1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

2

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

3

4

5

6

7

8

9

10

CONTRIBUIÇÃO DOS BIOFLOCOS NA ALIMENTAÇÃO DO CAMARÃO

***Litopenaeus vannamei* DURANTE AS FASES DE BERÇÁRIO E ENGORDA**

13

ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS

14

15

16

17

18

PAULA ALICE CRUZ PAIVA REIS

19

20

21

22

23

24

RIO GRANDE, RS

25

2016

26

27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51

Universidade Federal do Rio Grande
Programa de Pós-graduação em Aquicultura

CONTRIBUIÇÃO DOS BIOFLOCOS NA ALIMENTAÇÃO DO CAMARÃO
***Litopenaeus vannamei* DURANTE AS FASES DE BERÇÁRIO E ENGORDA**
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS

Paula Alice Cruz Paiva Reis

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

Orientador: Luís Henrique da Silva Poersch (IO – FURG)

Co-orientador: Dariano Krummenauer (PPGAq – FURG)

Rio Grande – RS – Brasil

Agosto 2016

52	Sumário	
53	Lista de Tabelas	iv
54	Lista de Figuras.....	v
55	Dedicatória.....	viii
56	Agradecimentos	ix
57	Resumo	x
58	Abstract.....	xii
59	Introdução	13
60	Objetivos.....	17
61	Material e Métodos	18
62	Resultados.....	23
63	Discussão	44
64	Referências Bibliográficas.....	51
65		
66		

67 **Lista de Tabelas**

68 Tabela 1: Parâmetros físicos e químicos da água (médias \pm desvio padrão) nos
69 tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de
70 *Litopenaeus vannamei* em fase de berçário. 23
71 Tabela 2: Desempenho zootécnico dos camarões (média \pm desvio padrão) nos
72 tratamentos de Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de
73 *L. vannamei* na fase de berçário..... 30
74 Tabela 3: Valores isotópicos (média \pm desvio padrão) de carbono e nitrogênio das fontes
75 de alimento dos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração. 30
76 Tabela 4: Valores de contribuição das fontes de alimento (%) no equilíbrio isotópico
77 durante o cultivo de *L. vannamei* na fase de berçário..... 30
78 Tabela 5: Parâmetros físicos e químicos da água (médias \pm desvio padrão) nos
79 tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de
80 *Litopenaeus vannamei* em fase de engorda. 33
81 Tabela 6: Desempenho zootécnico dos camarões (média \pm desvio padrão) nos
82 tratamentos de Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de
83 *L. vannamei* na fase de berçário..... 41
84 Tabela 7: Valores isotópicos (média \pm desvio padrão) de carbono e nitrogênio das fontes
85 de alimento dos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração. 41
86 Tabela 8: Valores de contribuição das fontes de alimento (%) no equilíbrio isotópico
87 durante o cultivo de *L. vannamei* na fase de engorda. 41
88
89

90 **Lista de Figuras**

91 Figura 1: Variações das temperaturas (°C) médias registradas nos tratamentos Controle,
92 Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase
93 de berçário..... 24

94 Figura 2: Variações médias das concentrações de amônia total (mg.L⁻¹) nos tratamentos
95 Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei*
96 em fase de berçário. 25

97 Figura 3: Variações médias das concentrações de nitrito (mg.L⁻¹) nos tratamentos
98 Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei*
99 em fase de berçário. 26

100 Figura 4: Variações médias das concentrações de nitrato (mg.L⁻¹) nos tratamentos
101 Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei*
102 em fase de berçário. 26

103 Figura 5: Variações nas concentrações de sólidos suspensos totais nos tratamentos
104 Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei*
105 em fase de berçário. 27

106 Figura 6: Valores médios ± desvio padrão da comunidade microbiana no início do
107 cultivo de *L. vannamei* nos tratamentos Controle e com bioflocos durante a fase de
108 berçário. 28

109 Figura 7: Valores médios ± desvio padrão da comunidade microbiana no final do
110 cultivo de *L. vannamei* nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com
111 ração durante a fase de berçário..... 28

112 Figura 8: Variações nas concentrações de clorofila a nos tratamentos Controle,
113 Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase
114 de berçário..... 29

115 Figura 9: Alterações dos valores isotópicos de carbono (δ13C) nos tecidos do camarão
116 de acordo com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao
117 longo do tempo. 31

118 Figura 10: Alterações dos valores isotópicos de nitrogênio (δ15N) nos tecidos do
119 camarão de acordo com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com
120 ração, ao longo do tempo. 32

121	Figura 11: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para as fontes de	
122	alimento, Ração e Bioflocos, e para as réplicas de camarão, 1, 2, 3 e 4, no tratamento de	
123	Bioflocos com ração.	32
124	Figura 12: Variações (médias \pm desvio padrão) das temperaturas registradas ($^{\circ}\text{C}$) nos	
125	tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de	
126	<i>L. vannamei</i> em fase de engorda.....	34
127	Figura 13: Variações (médias \pm desvio padrão) das concentrações de amônia total	
128	(mg.L^{-1}) nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração,	
129	durante o cultivo de <i>L. vannamei</i> em fase de engorda.....	35
130	Figura 14: Variações (médias \pm desvio padrão) das concentrações de nitrito (mg.L^{-1}) nos	
131	tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de	
132	<i>L. vannamei</i> em fase de engorda.....	36
133	Figura 15: Variações (médias \pm desvio padrão) das concentrações de nitrato (mg.L^{-1})	
134	nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo	
135	de <i>L. vannamei</i> em fase de engorda.....	37
136	Figura 16: Variações nas concentrações de sólidos suspensos totais nos tratamentos	
137	Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de <i>L. vannamei</i>	
138	em fase de engorda.	38
139	Figura 17: Valores médios \pm desvio padrão da comunidade microbiana no início do	
140	cultivo de <i>L. vannamei</i> nos tratamentos com bioflocos durante a fase de engorda.....	39
141	Figura 18: Valores médios \pm desvio padrão da comunidade microbiana no final do	
142	cultivo de <i>L. vannamei</i> nos tratamentos com bioflocos durante a fase de engorda.....	39
143	Figura 19: Variações (média \pm desvio padrão) nas concentrações de clorofila a nos	
144	tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de	
145	<i>L. vannamei</i> em fase de engorda.....	40
146	Figura 20: Alterações dos valores isotópicos de carbono no músculo do camarão de	
147	acordo com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao	
148	longo do tempo.	42
149	Figura 21: Alterações dos valores isotópicos de nitrogênio no músculo do camarão de	
150	acordo com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao	
151	longo do tempo.	43

152	Figura 22: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para as fontes de	
153	alimento, Ração e Bioflocos, e para as replicas de camarão, 1, 2 e 3, no tratamento de	
154	Bioflocos com ração.	43
155		

156 **Dedicatória**

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

Dedico este trabalho aos meus pais,
Walterli e Telma, e à minha família por
todo apoio, em especial à minha centenária
bisavó, Maria.

183 Agradecimentos

184 Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por me permitir estar aqui, permanecendo
185 ao meu lado em todos os momentos, principalmente os mais difíceis, pois pude sentir
186 sua presença e ir até o fim. E em segundo lugar, a minha família pelo incessante apoio
187 em todos os momentos, pelos conselhos de minha mãe, pela força do meu pai e pelas
188 orações de minha avó.

189 Ao meu orientador Prof. Dr. Luis Poersch (Mineiro) por todo apoio, sugestões e por ter
190 me aceitado como orientada e acreditar no meu trabalho.

191 Ao meu co-orientador Dr. Dariano Krummenauer pela paciência, orientação e por ter
192 acreditado em mim.

193 A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Aquicultura, em especial ao
194 Prof. Dr. Marcelo Tesser, que contribuíram para minha formação.

195 Ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr (Mano) e ao Prof. Dr. Eduardo Ballester por terem
196 aceitado fazer parte da banca examinadora.

197 A Dra. Sabrina Suita por todo apoio antes, durante e após o experimento, pelas
198 sugestões e pela paciência.

199 Ao Gaona, Alessandro, Geraldo, Ricardo e Sandro por todos os ensinamentos, apoio e
200 sugestões. Aos amigos e colegas de trabalho, Janaína, Nathalia, Lucas, Eduarda,
201 Mariana, Plácido, João, Joca, Julio, Aline, Denis, Mario, Ivanildo, Jorge, Juninho,
202 Bruno, Victor, Manuel, Gabriel, Glauce, Stela, Marta, Plínio, pelos ótimos momentos de
203 convivência, paciência e sugestões.

204 Enfim, a todos os setores da Estação Marinha de Aquicultura, em especial ao Projeto
205 Camarão e ao Laboratório de Piscicultura Marinha, por toda contribuição para minha
206 formação.

207

208 Resumo

209 A tecnologia de produção de camarões em meio aos bioflocos (BFT) é considerada uma
210 das mais adequadas e promissoras para o desenvolvimento sustentável da
211 carcinocultura, permitindo altas densidades de estocagem de *Litopenaeus vannamei*, e o
212 uso de menores áreas e maior produtividade quando comparada aos sistemas
213 tradicionais. No intuito de determinar a importância dos bioflocos, nos últimos anos
214 vem sendo aplicada a técnica de isótopos estáveis em pesquisas na produção aquícola, e
215 assim esta ferramenta tem auxiliado no entendimento de qual fonte alimentar se
216 sobrepõe em importância para a espécie cultivada. A partir disso, este trabalho teve o
217 objetivo de avaliar qual a contribuição nutricional de cada alimento presente no sistema,
218 por meio da técnica de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio para determinar a
219 influência dos bioflocos em pós-larvas e juvenis de *L. vannamei* durante as fases de
220 berçário e engorda. Para isso, foram delineados dois experimentos com três tratamentos
221 e quatro repetições, distribuídos em tratamento 1: onde os camarões foram alimentados
222 só com ração, tratamento 2: somente bioflocos como fonte alimentar e o tratamento 3:
223 com alimentação baseada em bioflocos + ração. Foram monitorados diariamente os
224 parâmetros de qualidade da água e o desempenho zootécnico dos camarões foi
225 acompanhado por meio de biometrias semanais, e a cada 15 dias foram coletadas
226 amostras de ração, bioflocos e camarão para análise de isótopos estáveis. Além disso,
227 foi analisada a comunidade microbiana e os níveis de clorofila durante o experimento.
228 Oxigênio dissolvido, temperatura e salinidade não apresentaram diferenças
229 significativas entre os tratamentos, enquanto que os compostos nitrogenados
230 apresentaram diferenças significativas entre si, e sólidos suspensos e turbidez foram
231 maiores nos tratamentos com bioflocos. No experimento de berçário o crescimento no
232 tratamento de Bioflocos com ração foi menor, quando comparado ao tratamento
233 controle, devido à presença de cianobactérias da família *Pseudoanabaenacea*, porém a
234 sobrevivência foi estatisticamente igual nesses tratamentos. Já no experimento de
235 engorda, o crescimento e a sobrevivência não diferiram estatisticamente entre o
236 Controle e o tratamento de Bioflocos com ração, com um peso final de $7,97 \pm 2,03$ g e
237 $7,69 \pm 2,27$ g, respectivamente. Para avaliar a contribuição dos bioflocos e da ração foi
238 usado um modelo de misturas isotópicas para mensurar os níveis dos isótopos de
239 Carbono e Nitrogênio nos tecidos dos camarões. Portanto, foi observado que os

240 bioflocos podem contribuir de 22 a 43% no crescimento dos camarões durante a fase de
241 berçário e de 63 a 86% durante a fase de engorda.

242 Palavras-chave: berçário, engorda, bioflocos, camarão, isótopos estáveis.

243

244 Abstract

245 Shrimp production technology among the bioflocs (BFT) is considered one of the most
246 appropriate and promising for the sustainable development of **carcinoculture**, allowing
247 high stocking densities of *Litopenaeus vannamei*, the use of smaller areas and increased
248 productivity compared to traditional systems. In order to determine the importance of
249 bioflocs in recent years it has been applied the technique of stable isotopes in research
250 in aquaculture production, so this tool has helped in the understanding of which food
251 source overlaps in importance to the cultivated species. From this, this study aimed to
252 evaluate the nutritional contribution of each food present in the system, through the
253 technique of stable carbon and nitrogen isotopes to determine the influence of bioflocs
254 post-larvae and juveniles of *L. vannamei* during nursery and grow out phases. For this,
255 two experiments were designed with three treatments and four replications, distributed
256 in treatment 1, where shrimp were only fed with feed, treatment 2 only bioflocs as a
257 food source and treatment with 3 nutrition based on bioflocs + feed. The water quality
258 parameters were monitored daily, the growth performance of shrimp was accompanied
259 by weekly biometry and every 15 days ration, bioflocs and shrimp samples were
260 collected for analysis of stable isotopes. Moreover, the microbial community and
261 chlorophyll levels were analyzed during the experiment. Dissolved oxygen, temperature
262 and salinity showed no significant differences between treatments, while the
263 nitrogenous compounds showed significant differences, and suspended solids and
264 turbidity were higher in the treatments with bioflocs. During the nursery phase growth
265 in the treatment of Bioflocs + feed was lower when compared to the control treatment
266 due to the presence of cyanobacteria *Pseudoanabaenacea* family, although survival was
267 statistically similar such treatments. In grow out phase, growth and survival did not
268 differ significantly between the control and treatment of Bioflocs + feed, with a final
269 weight of 7.97 ± 2.03 g and 7.69 ± 2.27 g, respectively. To assess the contribution of
270 bioflocs and feed a model of isotopic mixtures was used to measure the levels of Carbon
271 and Nitrogen isotopes in the shrimp tissues. Therefore, it was observed that bioflocs can
272 contribute 22-43% in the growth of shrimps during nursery phase and 63 to 86% during
273 grow out phase.

274 Keywords: nursery, grow out, bioflocs, shrimp, stable isotopes.

275 Introdução

276 A carcinicultura tem se intensificado nos últimos anos (FAO 2016), porém a
277 produção intensiva tradicional de camarões marinhos pode gerar impactos ao meio
278 ambiente, devido à liberação de efluentes a zonas adjacentes aos cultivos, salinização de
279 corpos de água, danos pela introdução de espécies exóticas e disseminação de doenças
280 (Boyd 2003, Lightner 2005). O exemplo mais recente disso é a Síndrome da Morte
281 Súbita (EMS) que causaram prejuízos de bilhões de dólares em despescas e empregos
282 perdidos (Lightner 2005, FAO 2013). Em consequência disso, diferentes sistemas de
283 produção vêm sendo pesquisados e desenvolvidos ao redor do mundo, entre essas
284 alternativas, a tecnologia de bioflocos ou Biofloc Technology System (BFT) é apontada
285 como uma das mais adequadas e promissoras para o desenvolvimento sustentável da
286 atividade (Krummenauer et al. 2011, Hargreaves 2013, Edwards 2015), uma vez que,
287 este sistema é baseado no cultivo com mínima ou sem renovação de água, o que reduz a
288 demanda por água e conseqüentemente reduz a emissão de efluentes minimizando o
289 impacto ao meio ambiente e elevando a biossegurança do cultivo por meio da redução
290 das vias de introdução e disseminação de enfermidades, fornecendo ainda os benefícios
291 nutricionais da produtividade natural dos bioflocos (McIntosh et al. 2000, Wasielesky et
292 al. 2006, Lightner 2005).

293 O Sistema de Bioflocos (BFT) é caracterizado pela transformação do nitrogênio
294 inorgânico, que em altas concentrações é tóxico aos animais cultivados, em biomassa
295 microbiana mediante a manipulação das relações de carbono e nitrogênio do sistema
296 (Avnimelech 1999). Onde ocorre uma assimilação dos compostos nitrogenados
297 (amônia, nitrito e nitrato) por esta biomassa microbiana (bactérias, microalgas,
298 protozoários, rotíferos), por auxílio da adição de uma fonte de carbono orgânico ao
299 meio, melhorando os parâmetros de qualidade da água e reduzindo a necessidade de
300 renovações constantes (Ebeling et al. 2006). Além disso, a formação de uma biota
301 natural, composta predominantemente por organismos heterotróficos, pode ser
302 aproveitada como alimento para os organismos produzidos, dependendo da habilidade
303 da espécie cultivada em aproveitar a produtividade natural do sistema (Wasielesky et al.
304 2006).

305 Uma estratégia que vem sendo utilizada para intensificar ainda mais o cultivo é a
306 introdução de uma fase de berçário, que possibilita o aumento do número de ciclos de
307 cultivos com a redução do período de engorda e, em regiões de climas temperados,
308 permite a produção a partir dos meses mais frios, utilizando sistemas com temperatura
309 controlada (Fóes et al. 2011). Além disso, permitem melhorias de conversão alimentar,
310 sobrevivência e taxas de crescimento (Wasielesky et al. 2013). Os benefícios da
311 utilização desta fase no sistema BFT foram comprovados por diversos estudos que
312 detectaram uma contribuição para o rápido crescimento dos organismos cultivados
313 (Arnold et al. 2009, Jiménez-Yan et al. 2006, Emerenciano et al. 2012, Fóes et al.
314 2011).

315 Samocha et al. (2007) recomendam que pós-larvas permaneçam em sistemas de
316 berçário até completar 1g, possibilitando um menor tempo de permanência destes
317 camarões nos viveiros de engorda, aumentando a produção por unidade de área e
318 permitindo um conhecimento sobre o estado fisiológico no qual os animais se
319 encontram (Moss & Moss 2004, Suita et al. 2015a), disponibilizando organismos mais
320 resistentes e de melhor qualidade para fase de engorda, visto que o sucesso desta fase
321 depende da qualidade das pós-larvas ao sair do berçário (Barbieri Jr. & Ostrensky Neto
322 2001).

323 Com um pacote tecnológico em expansão e o crescimento da carcinocultura,
324 novas tecnologias estão surgindo para se chegar a um consenso a respeito da real
325 contribuição que os agregados microbianos proporcionam para o sistema, ou seja, o
326 quanto que essa biomassa bacteriana pode ser incorporada ao músculo dos camarões,
327 por exemplo, Burford et al. (2004a) estimam que 29% da biomassa incorporada nos
328 camarões é oriunda dos bioflocos e Wasielesky et al. (2006), por meio da diferença do
329 tratamento de água clara e bioflocos, estimam que 32% do crescimento dos camarões
330 pode ser atribuído aos bioflocos. Embora esteja comprovada a predação de camarões
331 peneídeos sobre a microbiota natural por técnicas de análise de conteúdo estomacal,
332 ainda não existe um consenso por parte dos pesquisadores desta real contribuição, e os
333 resultados obtidos por esta técnica são pouco precisos, de modo que nos permite apenas
334 identificar o que foi consumido momentos antes da coleta e não necessariamente o que

335 é incorporado aos tecidos e utilizado para o crescimento (Thompson et al. 2002; Soares
336 et al. 2005).

337 Uma ferramenta que pode dar uma resposta é a técnica de isótopos estáveis, onde
338 se constata os isótopos de diferentes elementos químicos nos tecidos de animais que
339 refletem a proporção do alimento no momento da síntese dos tecidos, logo seu uso pode
340 servir como um traçador nutricional, possibilitando determinar a influência de uma dieta
341 no crescimento de um consumidor em um dado período de tempo, uma vez que o valor
342 isotópico de um consumidor tende a ser semelhante ao valor da dieta assimilada
343 (Peterson & Fry 1987, Gamboa-Delgado et al. 2008). Um exemplo disso é o estudo
344 realizado por Cardona et al. (2015), que avaliando a contribuição dos bioflocos para
345 *Litopenaeus stylirostris* por meio de isótopos de carbono e nitrogênio estimaram que 37
346 a 40% da alimentação veio a partir da produtividade natural.

347 Para o uso desta técnica é admitido que uma espécie assume um perfil isotópico
348 semelhante à sua dieta após incorporá-la aos seus tecidos, porém, as diferenças na
349 composição isotópica entre o animal e a dieta, que dependem das reações químicas que
350 ocorrem dentro do organismo no momento da digestão, levam ao fracionamento
351 isotópico. Este fracionamento é obtido quando a espécie entra em um estado de
352 equilíbrio isotópico com a dieta, e o tempo para que isso aconteça é espécie-específico e
353 relacionado com a ontogenia e taxa metabólica da espécie em questão (Pearson et al.
354 2003). Estudos prévios com camarões jovens estimaram que quinze dias é o tempo
355 necessário para que haja este equilíbrio entre o organismo e a dieta (Gamboa-Delgado
356 & Le Vay 2009, Gamboa-Delgado et al. 2013) ou no momento em que o organismo
357 quadruplica o seu peso (Fry & Arnold 1987). E segundo Peterson & Fry (1987), de uma
358 maneira geral o fracionamento entre os animais e sua dieta varia na média de 3 a 5
359 partes em relação ao nitrogênio e de 0 a 1 em relação ao carbono.

360 A fim de chegar à quantificação da contribuição da dieta para os camarões, são
361 utilizados modelos de mistura, que são modelos matemáticos que convertem os valores
362 isotópicos das fontes alimentares e dos tecidos estudados em estimativas de
363 contribuição para crescimento do animal (Philips 2012), como é o caso do modelo de
364 mistura de duas fontes de alimento e um isótopo de Phillips e Gregg (2001) que
365 considera as diferenças isotópicas entre as fontes e o tecido analisado.

366 Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar qual a contribuição
367 nutricional de cada alimento fornecido para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus*
368 *vannamei* durante as fases de berçário e engorda em Sistema de Bioflocos, com o uso da
369 técnica de isótopos estáveis, utilizando os isótopos de carbono e nitrogênio.

370

371 Objetivos

372 Objetivo Geral

373 O projeto tem como objetivo geral avaliar a contribuição da alimentação natural
374 (flocos microbiano) e do alimento inerte nas fases de berçário e engorda de *Litopenaeus*
375 *vannamei* em sistemas de Bioflocos.

376 Objetivos Específicos

377 Obter os valores isotópicos de carbono e nitrogênio para os tecidos de *L.*
378 *vannamei* na fase de berçário e engorda, e das fontes de alimento em cada fase,
379 bioflocos e do alimento inerte;

380 Avaliar os parâmetros de qualidade de água nos diferentes tratamentos;

381 Avaliar o desempenho zootécnico dos camarões durante o estudo.

382

383 Material e Métodos

384 Os experimentos foram realizados no Laboratório de Carcinocultura da Estação
385 Marinha de Aquicultura (EMA), do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal
386 do Rio Grande, localizada no Balneário Cassino, no município de Rio Grande - RS. Nos
387 dois experimentos os tanques tinham sistema de aeração com mangueira
388 microperfurada, Aerotube®, para oxigenação e circulação da água do sistema, e para
389 manter os bioflocos em suspensão na coluna d'água. A água do mar utilizada foi tratada
390 com cloro a 10 ppm e declorada com ácido ascórbico a 1 ppm e ambos os experimentos
391 tiveram uma aclimação prévia em torno de 2 semanas.

392 Delineamento Experimental

393 Experimento 1 – Berçário

394 O experimento foi realizado nos meses de outubro de 2015 a novembro de 2015,
395 com duração de 30 dias. Foram utilizados camarões, *L. vannamei*, adquiridos de um
396 laboratório comercial (Aquatec®), que ficaram desde a fase de náuplios até a fase de
397 pós-larvas (PL25) no setor de larvicultura do laboratório de Carcinocultura da Estação
398 Marinha de Aquicultura – IO/FURG. As pós-larvas, em idade de PL25 e com um peso
399 médio inicial de $0,01 \pm 0,007$ g, foram estocadas em uma densidade de 2000 camarões/
400 m^3 em 12 unidades experimentais retangulares com uma área de fundo de $1,2 m^2$ e um
401 volume útil de 800 litros, localizadas em uma estufa.

402 O delineamento experimental consistiu de três tratamentos com quatro repetições:
403 (1) somente ração; (2) somente bioflocos e (3) bioflocos + ração. Sendo que os dois
404 últimos foram conduzidos sem renovação de água e com fertilização orgânica quando
405 os níveis de amônia atingiam $1,0 mg.L^{-1}$ e o tratamento 1 teve renovação de acordo com
406 os níveis de amônia também (ao atingir $1,0 mg.L^{-1}$). Nos tratamentos com a utilização
407 de alimento inerte os camarões foram alimentados duas vezes por dia com uma ração
408 comercial específica para fase de berçário, contendo 40% de proteína bruta (Potimar PL
409 40 – Guabi®), sendo que a taxa de arraçoamento diário foi de acordo com a
410 metodologia descrita por Jory et al. (2001), e foram utilizadas bandejas de alimentação
411 para verificação de sobras de ração, para que desta forma fossem feitas as correções de
412 arraçoamento seguindo a metodologia descrita por Wasielesky et al. (2006).

413 Nos tratamentos com bioflocos foram utilizados 25% de inóculo maduro a partir
414 de cultivos prévios, seguindo a metodologia proposta por Krummenauer *et al.* (2014).
415 Para a manutenção dos mesmos foi seguida a metodologia proposta por Avnimelech
416 (1999) e Ebeling *et al.* (2006). Quando a concentração do nitrogênio amoniacal total
417 alcançou 1,0 mg.L⁻¹ foram feitas as correções utilizando a relação C:N (6:1) para a
418 conversão de nitrogênio em biomassa bacteriana, onde para cada 1,0 g de nitrogênio
419 amoniacal total são necessários 6,0 g de carbono (Avnimelech, 1999, Ebeling et al.
420 2006).

421 Experimento 2 – Engorda

422 O experimento foi realizado de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016, com
423 duração de 60 dias. Os camarões, *L. vannamei*, com peso médio inicial de 0,83±0,53 g
424 foram estocados em uma estufa contendo 12 unidades experimentais com volume útil
425 de 800 litros cada, em uma densidade de estocagem de 400 camarões/m³.

426 O delineamento experimental da fase de engorda foi o mesmo da fase de berçário,
427 sendo que nos tratamentos com a utilização de alimento inerte os camarões foram
428 alimentados duas vezes por dia com uma ração comercial específica para a espécie,
429 contendo 38% de proteína bruta (Potimar Active 38 – Guabi®), sendo que a taxa de
430 arraçoamento diário foi de acordo com a metodologia descrita por Jory et al. (2001), e
431 foram utilizadas bandejas de alimentação para verificação de sobras de ração, para que
432 desta forma fossem feitas as correções de arraçoamento seguindo a metodologia descrita
433 por Wasielesky et al. (2006).

434 Nos tratamentos com bioflocos foram utilizados 25% de inóculo maduro a partir
435 de cultivos prévios, seguindo a metodologia proposta por Krummenauer *et al.* (2014).
436 Para a manutenção dos mesmos foi seguida a metodologia proposta por Avnimelech
437 (1999) e Ebeling *et al.* (2006). Quando a concentração do nitrogênio amoniacal total
438 alcançou 1,0 mg.L⁻¹ foram feitas as correções utilizando a relação C:N (6:1) para a
439 conversão de nitrogênio em biomassa bacteriana, onde para cada 1,0 g de nitrogênio
440 amoniacal total são necessários 6,0 g de carbono (Avnimelech, 1999, Ebeling et al.
441 2006).

442 Parâmetros de Qualidade da Água

443 A temperatura e o oxigênio dissolvido (medidos com um oxímetro YSI 55), o pH
444 (utilizando um pHmetro YSI 100) e a concentração de amônia total (N-(NH₄⁺ + NH₃),
445 UNESCO 1983) foram medidos diariamente. Já as concentrações de nitrito (N-NO₂⁻),
446 nitrato (N-NO₃⁻), ortofosfato (P-PO₄), utilizando a metodologia de Strickland & Parsons
447 (1972) foram determinadas semanalmente, juntamente com a salinidade (utilizando um
448 refratômetro ótico portátil - ATC®), a turbidez (por meio de um turbidímetro Hach
449 2100P), a transparência da água (mensurada com a utilização de um disco de Secchi) e
450 os sólidos suspensos totais (SST) (Strickland & Parsons 1972). Os níveis de sólidos
451 suspensos totais foram mantidos nos níveis recomendados por Gaona et al. (2011) de
452 até 600 mg.L⁻¹, sendo controlados com renovações de água.

453 Foi realizada aplicação de um probiótico comercial (Sanolife® PRO-W, INVE,
454 Bélgica) na água uma vez por semana na concentração de 0,5 ppm (Krummenauer *et al.*
455 2014), esse probiótico é composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheiformis* com
456 uma concentração bacteriana de 5,0 x 10⁵ unidades formadoras de colônia (ufc)/g. Os
457 parâmetros de pH e alcalinidade (APHA 1989) foram corrigidos de acordo com a
458 necessidade, sendo mantidos próximos de 7,5 e 140 mg/L respectivamente, utilizando
459 cal hidratada (Furtado *et al.* 2011).

460 Desempenho Zootécnico dos Camarões

461 Em ambos os experimentos, o crescimento dos camarões foi acompanhado por
462 meio de biometrias semanais (n=30), utilizando balança digital (Marte® UX420H) com
463 precisão de 0,01 g, para estimar o peso médio, a biomassa dos camarões e o ajuste do
464 arraçoamento. Ao final de cada experimento foram calculados os demais parâmetros. A
465 taxa de crescimento específico (TCE), utilizada apenas no experimento de berçário, foi
466 determinada pelo seguinte cálculo: $TCE\% = (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial} / n^\circ \text{ dias de cultivo}) \times 100$. A taxa de conversão alimentar aparente (TCA) foi obtida pela seguinte
467 fórmula: $TCA = \text{alimento fornecido} / \text{incremento da biomassa}$. A sobrevivência foi
468 calculada da seguinte forma: $S\% = (n^\circ \text{ de camarões contados} / n^\circ \text{ camarões estocados}) \times$
469 100 . O ganho de peso semanal foi calculado pela fórmula: $GPS = GP / n^\circ \text{ de semanas de}$
470 cultivo .
471

472 Análise da Comunidade Microbiana

473 Para caracterização e quantificação da comunidade microbiana presente nos
474 flocos microbianos e na água do cultivo foram coletadas amostras de água de cada
475 unidade experimental ao longo do experimento. As amostras foram fixadas em
476 formalina 4,0 %, mantidas em frascos âmbar para posterior quantificação e identificação
477 de grupos de microrganismos presentes.

478 Para qualificação e quantificação de microrganismos foi utilizado o microscópio
479 invertido Zeiss Axiovert com magnificação final de 400 x, onde alíquotas de 2,1 mL de
480 amostra foram colocadas em câmara de sedimentação e 30 campos aleatórios foram
481 contados (Utermöhl 1958).

482 Análise dos Isótopos Estáveis

483 Amostras da ração, dos bioflocos e dos camarões foram coletadas a cada 15 dias
484 em ambos os experimentos para determinar os valores isotópicos de carbono e
485 nitrogênio. Foram coletadas três amostras de bioflocos por tratamento a cada coleta, três
486 amostras da ração e quatro amostras de camarão por tratamento a cada coleta,
487 totalizando 60 amostras. Para recolher as amostras de bioflocos, foram filtrados 2 litros
488 de água de cada tanque em malha de 50 µm manualmente, após isso foi feita a raspagem
489 do material presente na malha. Todas as amostras foram mantidas em ultra freezer
490 (Quimis 80v), e posteriormente liofilizadas (Liotop-L101).

491 Todas as amostras foram trituradas, pesadas ($1,0 \pm 2,0$ mg), colocadas em
492 cápsulas de estanho e enviadas para o laboratório da UC Davis Stable Isotope Facility,
493 CA, EUA, onde foram realizadas as análises da relação isotópica de carbono ($^{13}\text{C} /$
494 ^{12}C) e nitrogênio ($^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$) por meio de um espectrômetro de massa. Os resultados
495 das análises foram quantificados de acordo com a notação delta: $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ $\delta = [(R$
496 amostra / R padrão) - 1] x 1000, onde R amostra é a relação entre os isótopos leve e
497 pesado a partir da amostra e R padrão corresponde à proporção entre os isótopos
498 pesados e leves de Pee Dee belemnite e ar atmosférico, seguindo os padrões
499 internacionais de carbono e nitrogênio, respectivamente.

500 As proporções de carbono e nitrogênio nos tecidos dos camarões, das dietas
501 utilizadas e dos bioflocos foram estimados usando um modelo de mistura de duas fontes
502 de alimento e um isótopo (sendo aplicado para C e N separadamente) (Phillips e Gregg

503 2001). O modelo considera as diferenças isotópicas entre as fontes (a ração e os
504 bioflocos) e a mistura (corpo inteiro dos camarões). Um dos pressupostos do modelo é
505 que o organismo do consumidor está em equilíbrio isotópico com a sua dieta, o que foi
506 verificado por valores isotópicos nos tecidos do camarão, atingindo valores assintóticos
507 ao longo do tempo. E o termo “Fator de discriminação” ou “Fracionamento isotópico” é
508 utilizado no presente estudo para descrever diferenças nos valores isotópicos entre os
509 organismos consumidores (corpo inteiro ou tecido específico, neste caso muscular) e
510 suas dietas, depois de ter atingido o equilíbrio isotópico. Valores isotópicos do tecido
511 muscular de camarões alimentados com as dietas foram então introduzidos no modelo
512 para estimar a incorporação de nutrientes relativos e seus intervalos ao nível de 95% de
513 confiança.

514 Análise de clorofila *a*

515 A cada sete dias foram coletadas amostras de água dos tanques de cultivo para
516 determinação da concentração de clorofila *a*. Para a extração do pigmento fotossintético,
517 foi utilizada acetona 90% (Merck® PA), no escuro, a -12 °C por 24 horas. A
518 concentração da clorofila *a* foi determinada por fluorimetria (Welschmeyer 1994).

519 Análise Estatística

520 Para análise dos parâmetros de qualidade da água, a sobrevivência e o
521 crescimento dos camarões nos diferentes tratamentos, os dados foram submetidos à
522 análise de homocedasticidade das variâncias e à análise de normalidade da distribuição
523 dos dados, aplicando-se os testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente.
524 Posteriormente, os dados foram submetidos à ANOVA de uma via ($\alpha = 0,05$) para
525 detectar possíveis diferenças entre os tratamentos. E quando detectadas diferenças
526 significativas foi aplicado teste de Tukey HSD (Sokal & Rohlf 1969).

527 A contribuição de cada fonte de alimento para *L. vannamei* foi determinada com
528 base nos valores isotópicos de carbono e nitrogênio da dieta estimada, utilizando um
529 modelo de mistura de duas fontes e um isótopo (Phillips e Gregg 2001). Foi utilizado
530 um modelo de mistura isotópica para cada tratamento no equilíbrio isotópico do tecido
531 com a dieta, que foram estabelecidos para inferir a contribuição de diferentes fontes na
532 dieta.

533 Resultados

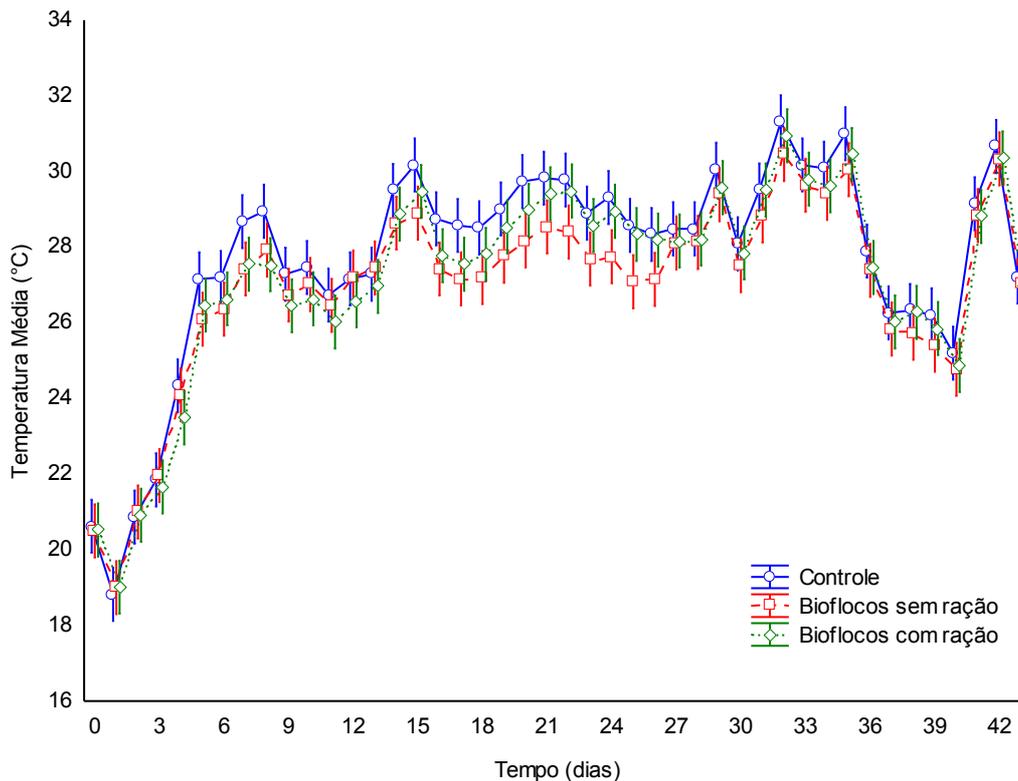
534 Experimento 1 - Berçário

535 As médias e desvio padrão dos resultados dos parâmetros de qualidade de água
 536 monitorados estão apresentados na tabela 1. Os parâmetros de temperatura, oxigênio
 537 dissolvido, pH e salinidade não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os
 538 três tratamentos.

539 **Tabela 1: Parâmetros físicos e químicos da água (médias \pm desvio padrão) nos tratamentos**
 540 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em**
 541 **fase de berçário.**

Parâmetros	Controle	Bioflocos sem ração	Bioflocos com ração
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	6,53 \pm 0,81	6,66 \pm 0,74	6,40 \pm 0,86
pH	8,11 \pm 0,24	8,35 \pm 0,15	8,00 \pm 0,31
Temperatura (°C)	27,71 \pm 2,78	26,99 \pm 2,58	27,25 \pm 2,68
Salinidade	25,89 \pm 3,75	29,50 \pm 1,98	29,54 \pm 2,80
Amônia (mg.L ⁻¹)	0,65 \pm 0,60 ^a	0,04 \pm 0,08 ^b	0,06 \pm 0,14 ^b
Nitrito (mg.L ⁻¹)	3,46 \pm 4,92 ^a	0,04 \pm 0,14 ^b	0,39 \pm 0,73 ^c
Nitrato (mg.L ⁻¹)	1,57 \pm 2,65 ^a	0,34 \pm 1,51 ^b	13,52 \pm 18,36 ^c
Fosfato (mg.L ⁻¹)	0,67 \pm 0,28 ^a	0,15 \pm 0,15 ^b	0,38 \pm 0,44 ^c
Alcalinidade (mg.L ⁻¹)	159,62 \pm 37,28	205,35 \pm 49,08	156,94 \pm 46,41
SST (mg.L ⁻¹)	135,40 \pm 68,65 ^a	251,53 \pm 75,50 ^b	578,33 \pm 215,42 ^c
Turbidez (NTU)	46,31 \pm 41,71 ^a	56,40 \pm 25,43 ^a	234,65 \pm 113,05 ^b
Secchi (cm)	24,23 \pm 7,38 ^a	14,65 \pm 1,93 ^b	9,46 \pm 1,61 ^c
Clorofila a (µg.L ⁻¹)	154.16 \pm 140.56	116.88 \pm 82.35	227.82 \pm 129.60

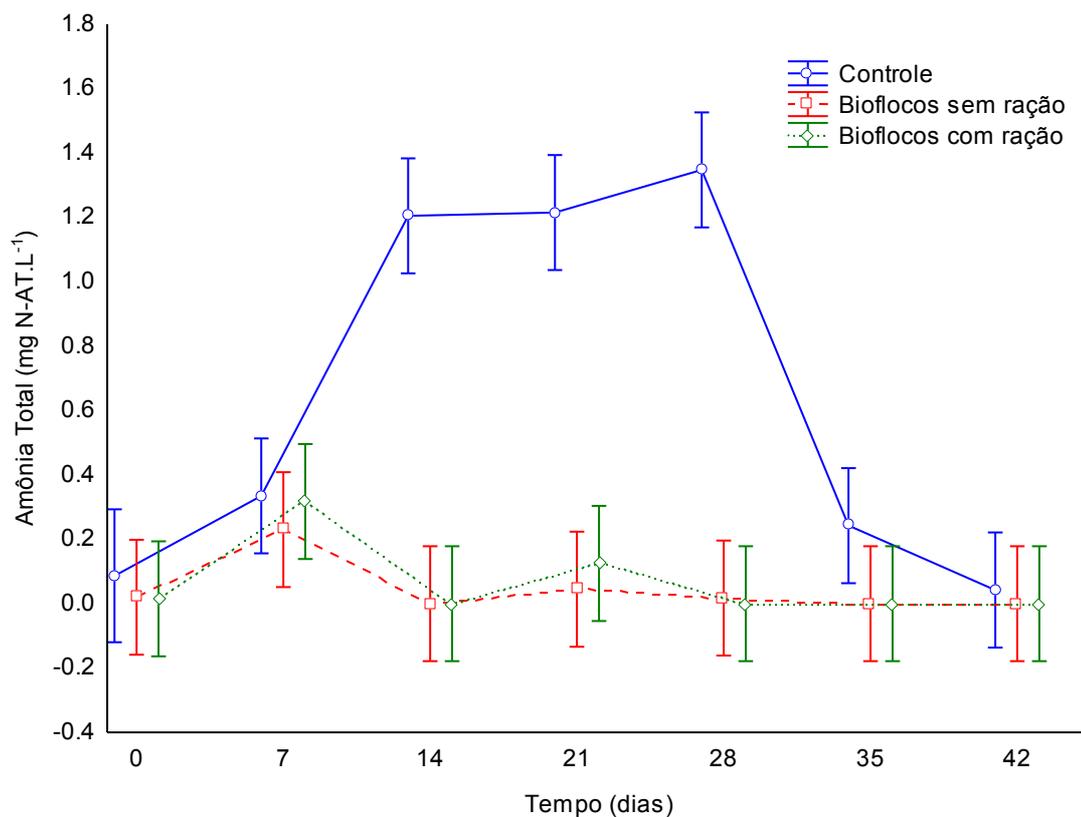
542



543
 544 **Figura 1: Variações das temperaturas (°C) médias registradas nos tratamentos Controle, Bioflocos**
 545 **sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.**

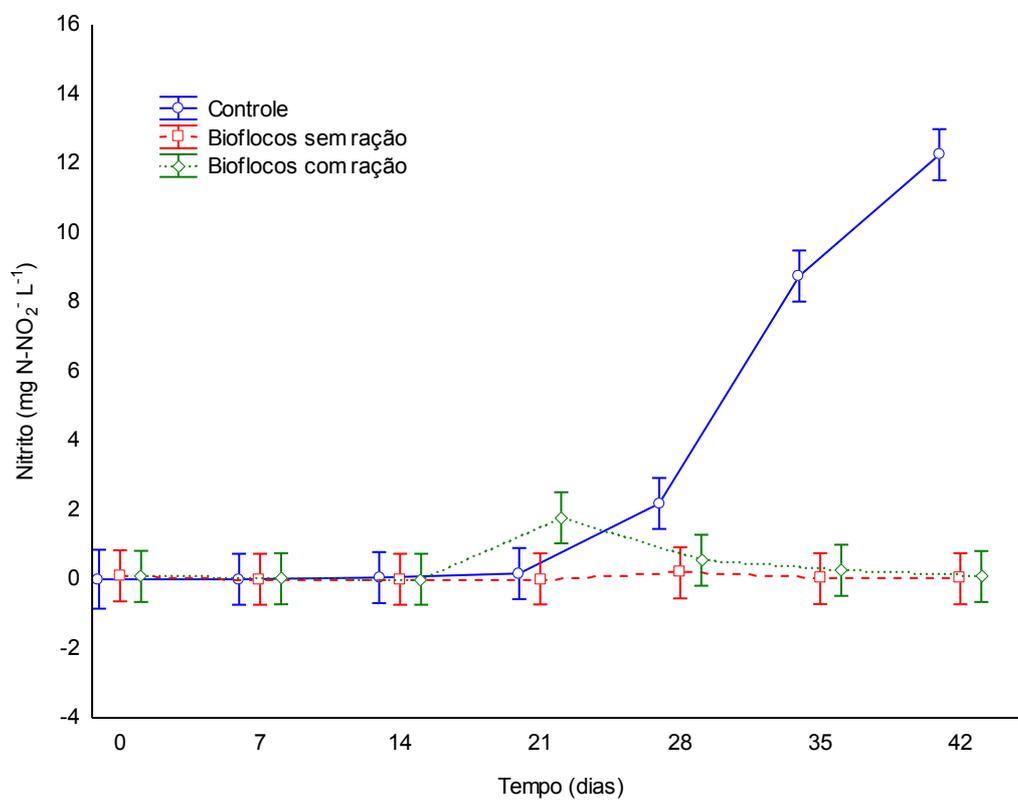
546 As médias dos resultados obtidos para os compostos nitrogenados (amônia, nitrito
 547 e nitrato) nos diferentes tratamentos são apresentadas na tabela 1. As concentrações
 548 médias de amônia total (mg.L^{-1} N-AT) foram significativamente menores nos
 549 tratamentos com bioflocos e não diferiram significativamente ($p>0,05$) entre eles. As
 550 concentrações de nitrito foram significativamente mais elevadas ($p<0,05$) no tratamento
 551 Controle. Porém, entre os tratamentos com bioflocos, não foram observadas diferenças
 552 significativas ($p>0,05$) para as concentrações médias de nitrito dissolvido na água. As
 553 concentrações de nitrato apresentaram valores médios significativamente mais elevados
 554 no tratamento de Bioflocos com ração, enquanto que nos tratamentos Controle e
 555 Bioflocos sem ração os valores médios de nitrato não diferiram entre si, permanecendo
 556 próximos de 1 mg.L^{-1} .

557 As figuras 2, 3 e 4 apresentam as variações médias para os compostos
 558 nitrogenados ao longo dos 42 dias experimentais nos diferentes tratamentos.



559
560
561

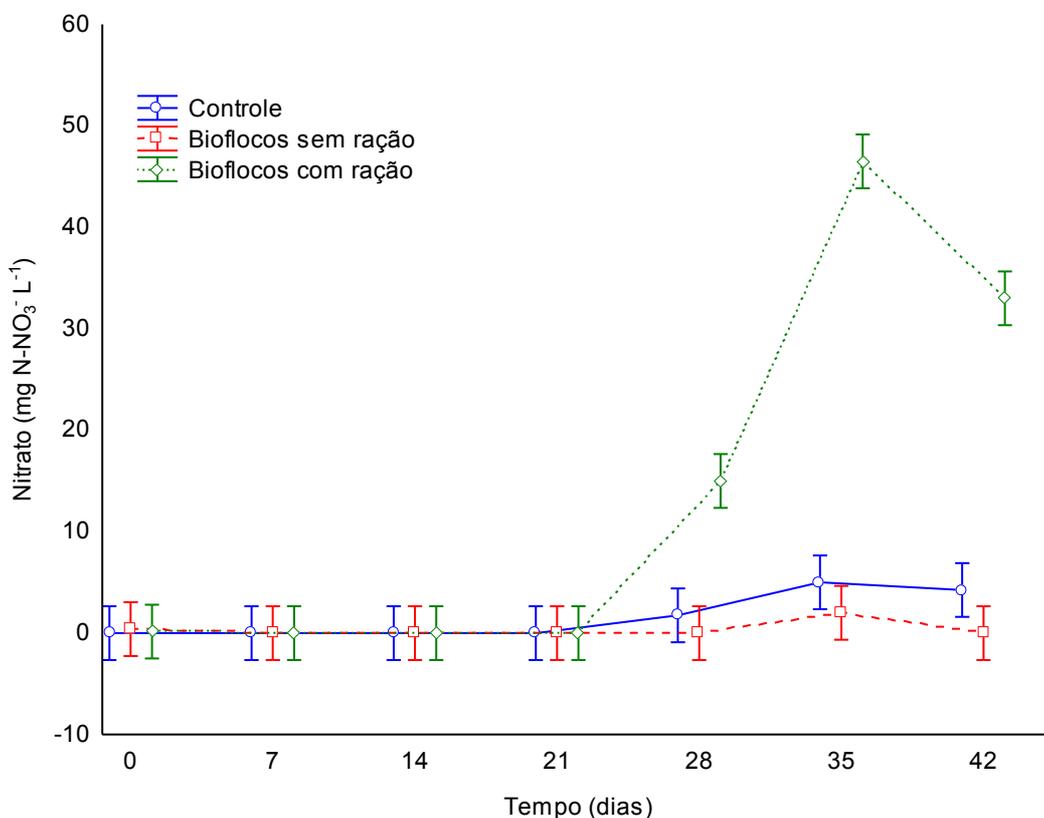
Figura 2: Variações médias das concentrações de amônia total (mg.L⁻¹) nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.



562

563 **Figura 3: Variações médias das concentrações de nitrito (mg.L^{-1}) nos tratamentos Controle,**
564 **Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.**

565

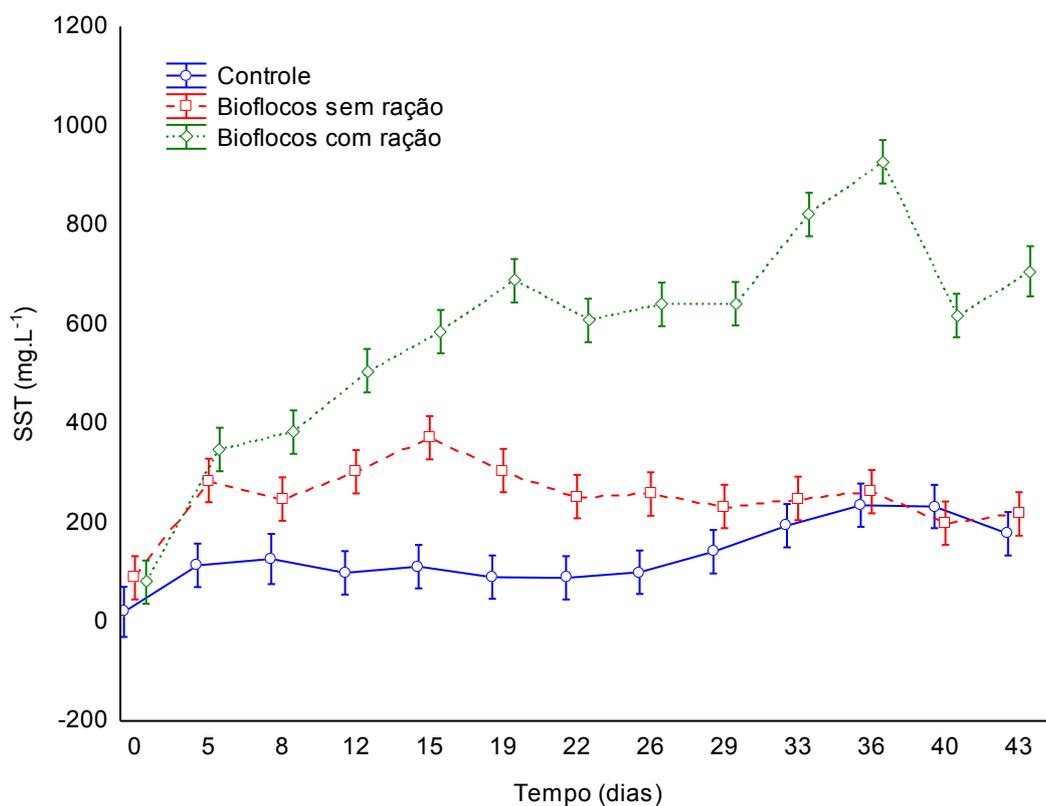


566

567 **Figura 4: Variações médias das concentrações de nitrito (mg.L^{-1}) nos tratamentos Controle,**
568 **Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.**

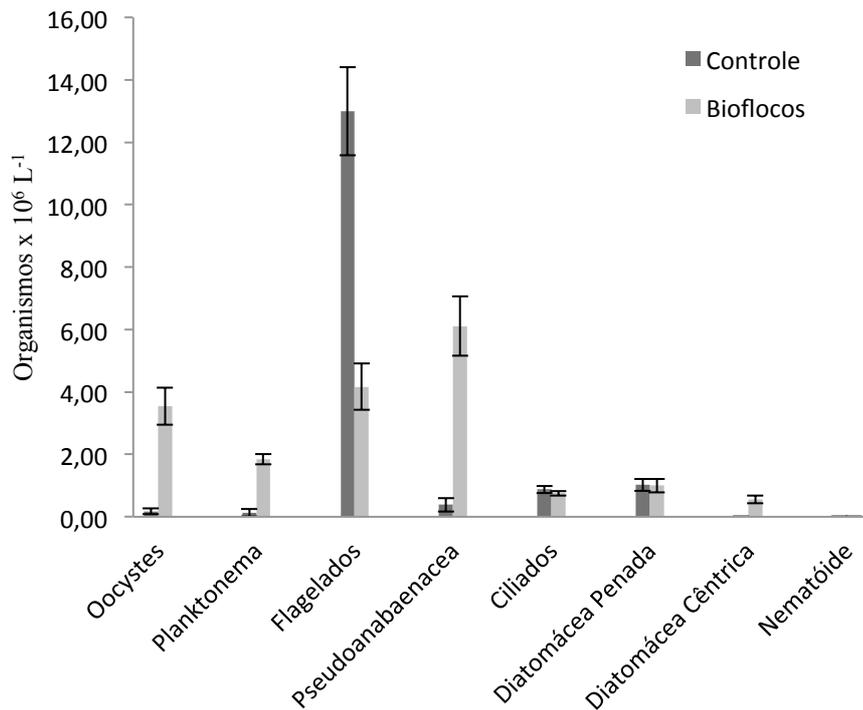
569 Os valores médios de sólidos suspensos totais (mg.L^{-1}), de turbidez (NTU) e de
570 disco de secchi (cm) estão apresentados na tabela 1. Tanto os sólidos suspensos totais
571 (SST) assim como a turbidez apresentaram valores médios mais elevados no tratamento
572 de Bioflocos com ração. Sendo que os valores de SST foram diferentes estatisticamente
573 nos três tratamentos, e os valores de turbidez dos tratamentos Controle e Bioflocos sem
574 ração não apresentaram diferenças estatísticas, mas ambos diferiram do tratamento de
575 Bioflocos com ração. Quanto à transparência da água medida com o disco de secchi os
576 valores médios diferiram estatisticamente entre todos os tratamentos, sendo maiores no
577 tratamento Controle.

578 Na figura 5 são apresentadas as variações para os valores de sólidos suspensos
579 totais acima citados ao longo do período experimental.



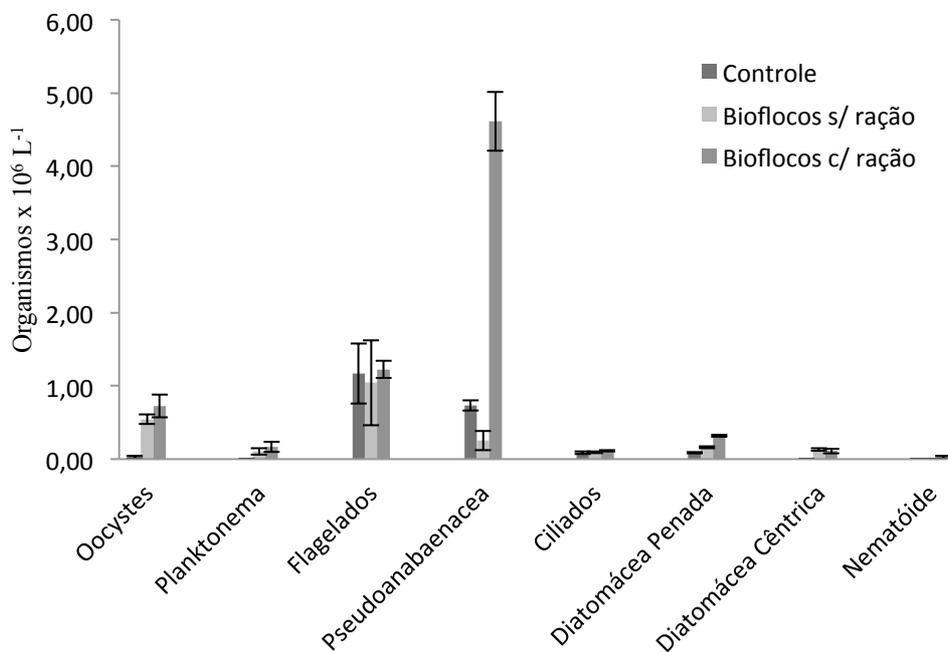
580
 581 **Figura 5: Variações nas concentrações de sólidos suspensos totais nos tratamentos Controle,**
 582 **Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.**

583 Dentre os principais microrganismos encontrados no experimento da fase de
 584 berçário estão *Oocystes sp.*, diatomáceas penadas, plaktonemas, ciliados, flagelados,
 585 microalgas cêntricas, nematoides e cianobactéria da família *Pseudoanabaenacea*. As
 586 médias e os desvios das densidades dos microrganismos presentes na comunidade
 587 microbiana dos tratamentos no início e no final do cultivo de *L. vannamei* estão
 588 descritos nas figuras 6 e 7.



589

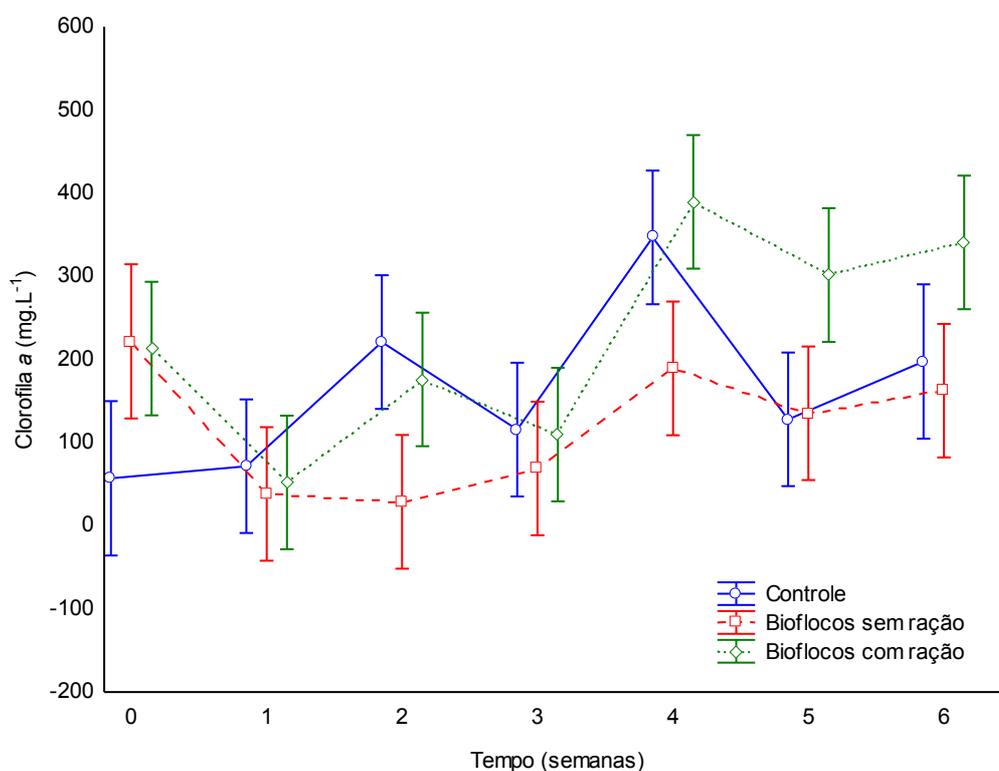
590 **Figura 6:** Valores médios \pm desvio padrão da comunidade microbiana no início do cultivo de *L.*
 591 *vannamei* nos tratamentos Controle e com bioflocos durante a fase de berçário.



592

593 **Figura 7:** Valores médios \pm desvio padrão da comunidade microbiana no final do cultivo de *L.*
 594 *vannamei* nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração durante a fase de
 595 berçário.

596 As variações dos níveis de clorofila registrados ao longo do experimento nos
597 tratamentos de Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração estão ilustradas na
598 figura 8.



599
600 **Figura 8: Variações nas concentrações de clorofila a nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração**
601 **e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de berçário.**

602 Os resultados apresentados na tabela 2 mostram os principais resultados com
603 respeito ao desempenho zootécnico dos camarões ao final do experimento nos
604 diferentes tratamentos. O peso médio final (g) foi superior no tratamento Controle,
605 sendo que o peso médio final foi estatisticamente diferente entre todos os tratamentos.
606 Enquanto que a sobrevivência foi mais elevada nos tratamentos Controle e Bioflocos
607 com ração, não apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si, diferindo
608 apenas do tratamento de Bioflocos sem ração que foi significativamente menor ($p < 0,05$)
609 quando comparada aos outros tratamentos. A conversão alimentar foi significativamente
610 menor ($p < 0,05$) no tratamento Controle. Igualmente, as produtividades em kg.m^{-2} e
611 kg.m^{-3} foram significativamente maiores ($p < 0,05$) no tratamento Controle, e os valores
612 médios foram estatisticamente diferentes entre todos os tratamentos.

613 **Tabela 2: Desempenho zootécnico dos camarões (média ± desvio padrão) nos tratamentos de**
 614 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* na fase de**
 615 **berçário.**

Parâmetros	Controle	Bioflocos sem ração	Bioflocos com ração
Peso Inicial (g)	0,01 ± 0,007	0,01 ± 0,007	0,01 ± 0,007
Peso Final (g)	1,14 ± 0,49 ^a	0,09 ± 0,11 ^b	0,55 ± 0,29 ^c
Sobrevivência (%)	96,32 ± 12,58 ^a	14,80 ± 12,56 ^b	89,45 ± 9,15 ^a
TCA	0,94 ± 0,10 ^a	-	2,11 ± 0,09 ^b
Produtividade (kg.m ⁻²)	1,73 ± 0,18 ^a	0,19 ± 0,01 ^b	0,77 ± 0,03 ^c
Produtividade (kg.m ⁻³)	2,16 ± 0,22 ^a	0,19 ± 0,01 ^b	0,96 ± 0,04 ^c
TCE (%.dia ⁻¹)	9,82 ± 0,27	4,06 ± 1,05	8,28 ± 0,28

616 *Letras iguais na mesma linha discorrem que não apresentaram diferenças significativas (p>0,05).

617 A média e desvio padrão dos valores isotópicos de carbono e nitrogênio dos
 618 bioflocos e da ração utilizados como fonte de alimento nos tratamentos Controle,
 619 Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração estão descritos na tabela 3.

620 **Tabela 3: Valores isotópicos (média ± desvio padrão) de carbono e nitrogênio das fontes de**
 621 **alimento dos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração.**

Fontes	Tratamentos	δ ¹³ C (‰)	δ ¹⁵ N (‰)
Bioflocos	Bioflocos s/ ração	-16.77±1.16	4.25±0.55
Bioflocos	Bioflocos c/ ração	-18.64±0.20	7.07±1.14
Ração	Controle e Bioflocos c/ ração	-22.29±0.45	5.70±0.36

622

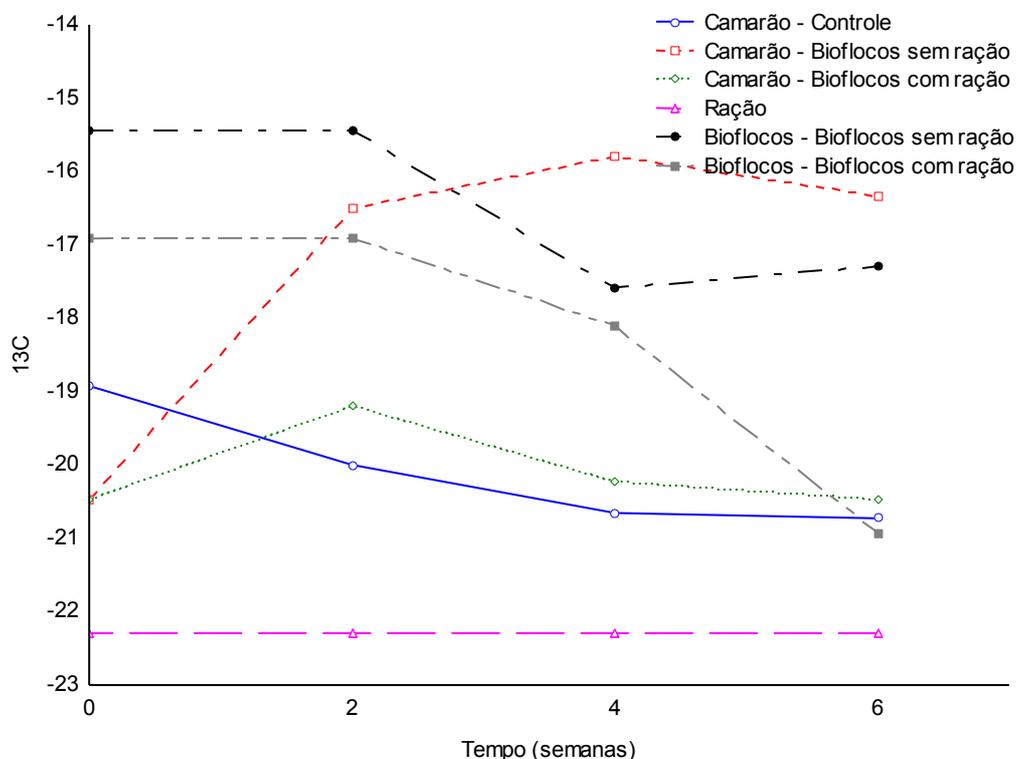
623 Os valores de contribuição dos bioflocos e da ração utilizada para as pós-larvas de
 624 *L. vannamei* com a da técnica de isótopos estáveis estão descritos na tabela 4.

625 **Tabela 4: Valores de contribuição das fontes de alimento (%) no equilíbrio isotópico durante o**
 626 **cultivo de *L. vannamei* na fase de berçário.**

Fontes	Ração	Bioflocos
Carbono	56 – 78%	22 – 43%
Nitrogênio	56 – 100%	0 – 43%
C e N*	56 – 78%	22 – 43%

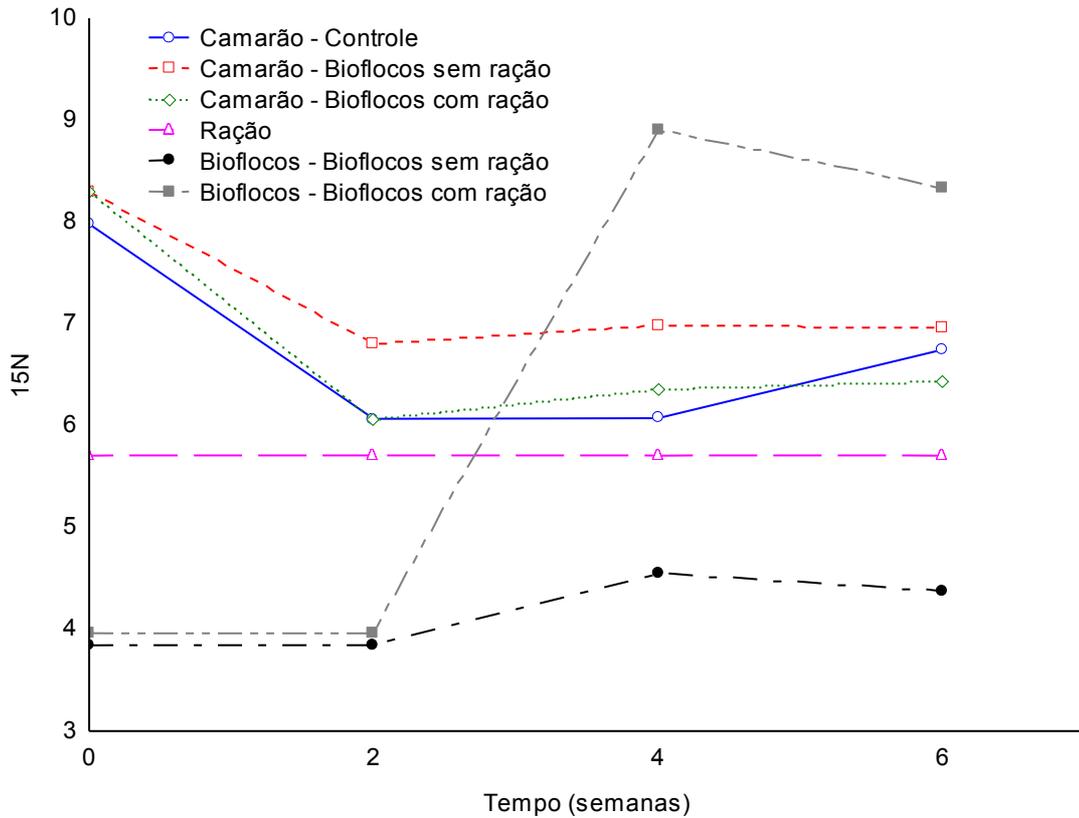
627 *Valores referentes à média dos intervalos de contribuição.

628 As figuras 9 e 10 mostram os valores isotópicos dos tecidos dos camarões ao
 629 longo do experimento, onde mostra que os valores dos isótopos de carbono (C) no
 630 tratamento Controle e Bioflocos com ração se aproxima mais dos valores das rações, e
 631 no tratamento de Bioflocos sem ração se aproximam mais do valor dos bioflocos do
 632 tratamento de Bioflocos sem ração. Os valores dos isótopos de nitrogênio (N) nos três
 633 tratamentos foram se aproximando mais da ração, ao longo do experimento. Os valores
 634 isotópicos de C e N das fontes e dos tecidos dos camarões de acordo com seus
 635 respectivos fracionamentos, onde mostra que os valores isotópicos dos camarões
 636 ficaram dentro do intervalo das fontes (Figura 11).



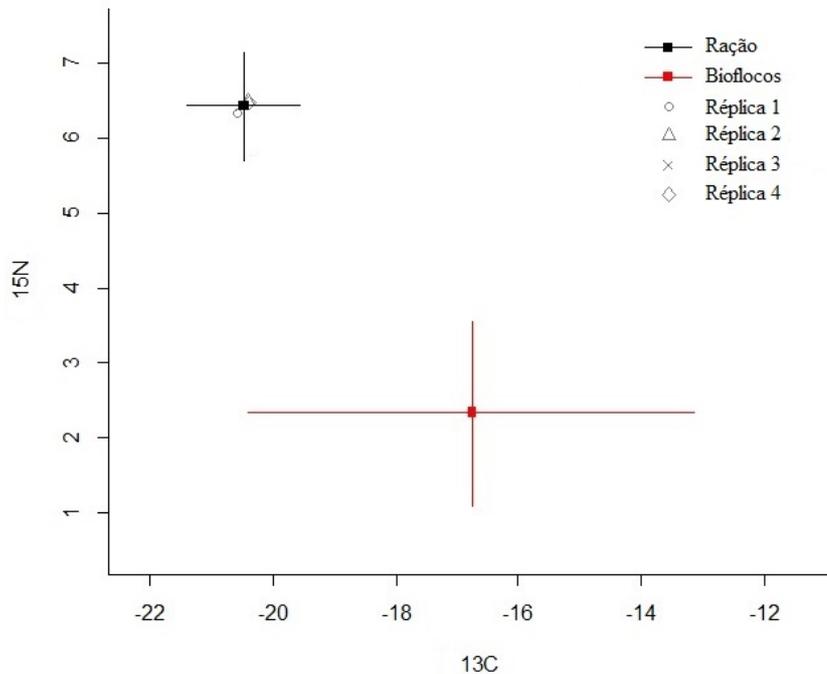
637 **Figura 9: Alterações dos valores isotópicos de carbono ($\delta^{13}C$) nos tecidos do camarão de acordo**
 638 **com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao longo do tempo.**
 639

640



641
 642 **Figura 10: Alterações dos valores isotópicos de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tecidos do camarão de acordo**
 643 **com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao longo do tempo.**

644



645
 646 **Figura 11: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para as fontes de alimento, Ração e**
 647 **Bioflocos, e para as réplicas de camarão, 1, 2, 3 e 4, no tratamento de Bioflocos com ração.**

648

649

650 Experimento 2 - Engorda

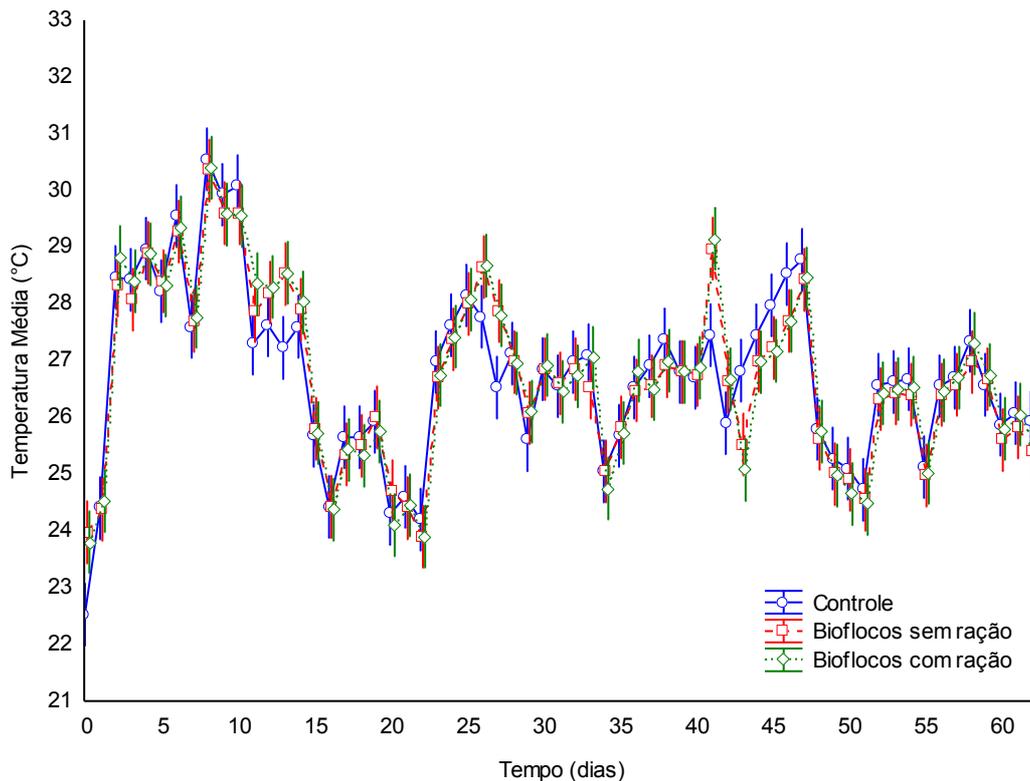
651 As médias dos resultados obtidos para a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), o oxigênio dissolvido
 652 (mg.L^{-1}), o pH e a salinidade durante o período experimental nos diferentes tratamentos
 653 estão apresentadas na tabela 5. Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$)
 654 para os parâmetros de temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade entre os três
 655 tratamentos.

656 **Tabela 5: Parâmetros físicos e químicos da água (médias \pm desvio padrão) nos tratamentos**
 657 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em**
 658 **fase de engorda.**

Parâmetros	Controle	Bioflocos sem ração	Bioflocos com ração
Oxigênio Dissolvido (mg.L^{-1})	6,49 \pm 0,79	6,66 \pm 0,81	6,42 \pm 0,80
pH	7,85 \pm 0,21 ^a	8,01 \pm 0,30 ^b	7,68 \pm 0,30 ^a
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	26,75 \pm 1,64	26,72 \pm 1,57	26,75 \pm 1,58
Salinidade	25,21 \pm 3,05	21,83 \pm 2,04	21,92 \pm 2,81
Amônia (mg.L^{-1})	0,74 \pm 1,81 ^a	0,04 \pm 0,04 ^b	0,06 \pm 0,06 ^b
Nitrito (mg.L^{-1})	1,48 \pm 2,10 ^a	0,12 \pm 0,31 ^b	0,15 \pm 0,15 ^b
Nitrato (mg.L^{-1})	6,72 \pm 5,37 ^a	18,15 \pm 12,09 ^b	21,25 \pm 12,43 ^c
Fosfato (mg.L^{-1})	1,55 \pm 0,85 ^a	2,45 \pm 1,07 ^b	3,09 \pm 1,27 ^c
Alcalinidade (mg.L^{-1})	164,38 \pm 17,18	181,50 \pm 22,82	151,38 \pm 22,07
SST (mg.L^{-1})	123,44 \pm 84,12 ^a	329,81 \pm 170,08 ^b	440,88 \pm 218,75 ^c
Turbidez (NTU)	44,23 \pm 30,27 ^a	142,23 \pm 97,17 ^b	172,31 \pm 109,36 ^c
Clorofila a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	140.76 \pm 106.48	363.70 \pm 166.70	392.10 \pm 145.99

659

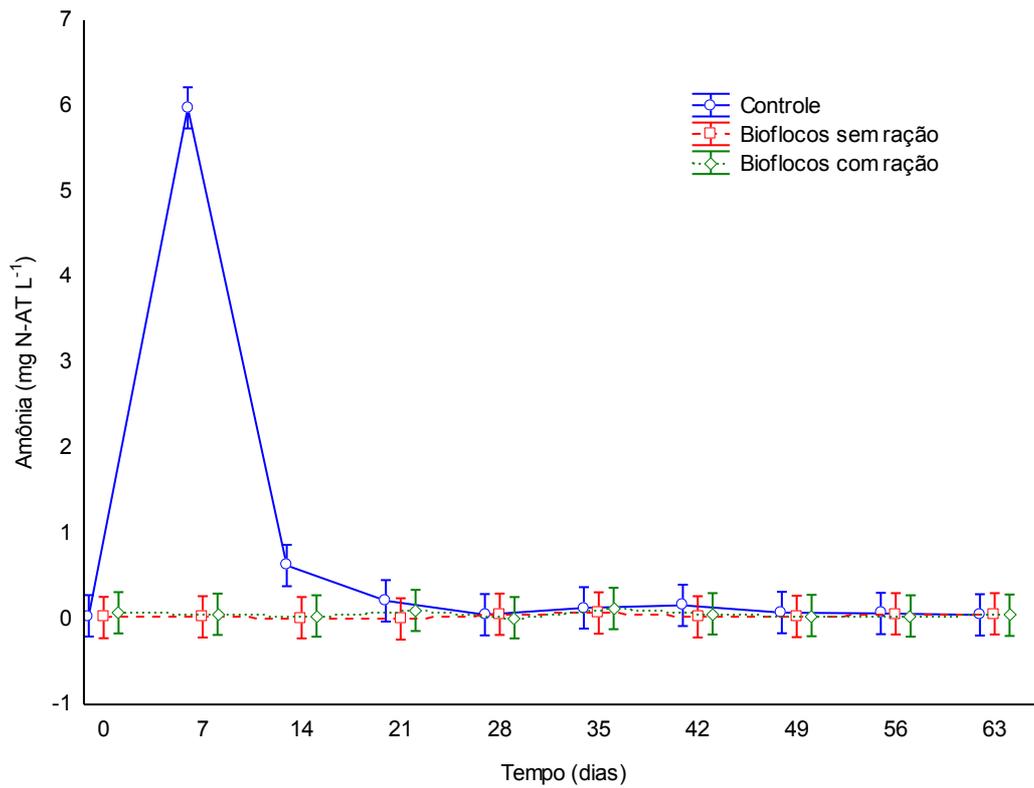
660



661 **Figura 12: Variações (médias \pm desvio padrão) das temperaturas registradas ($^{\circ}\text{C}$) nos tratamentos**
 662 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de**
 663 **engorda.**
 664

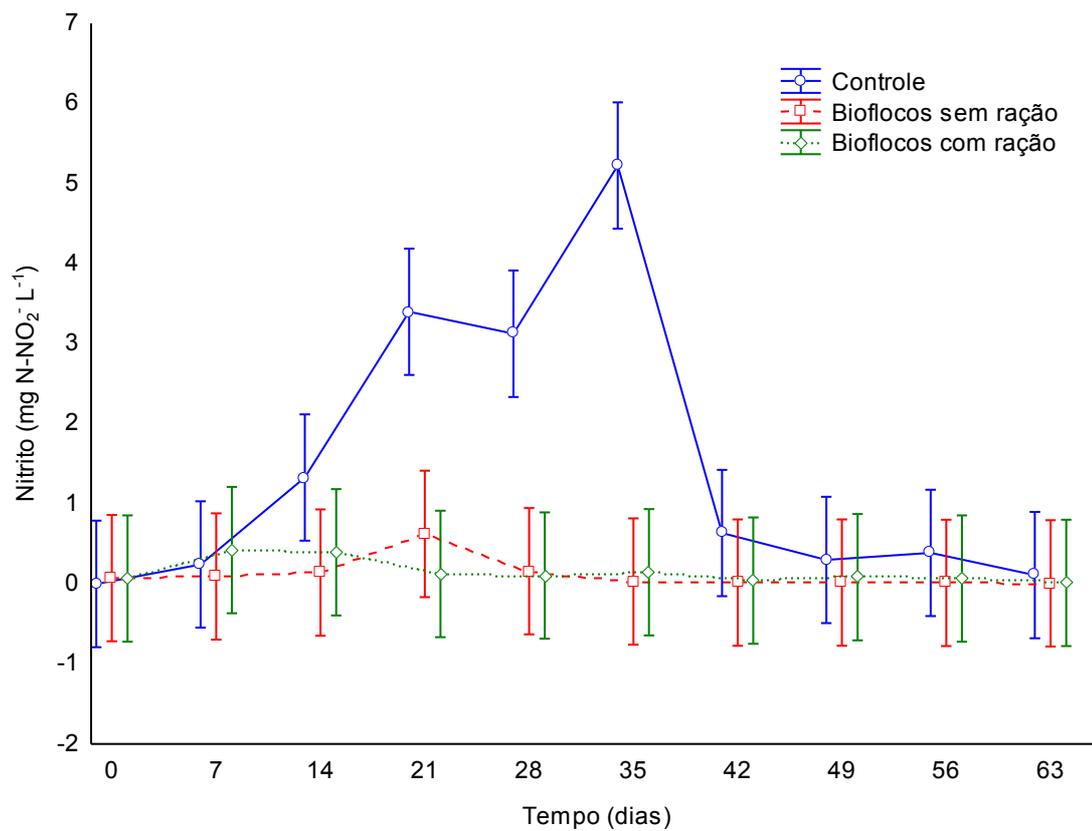
665 As temperaturas registradas ao longo do experimento podem ser visualizadas na
 666 figura 12. As médias dos resultados obtidos para os compostos nitrogenados (amônia,
 667 nitrito e nitrato) nos diferentes tratamentos são apresentadas na tabela 5. As
 668 concentrações médias de amônia total (mg.L^{-1} N-AT) foram significativamente menores
 669 nos tratamentos com bioflocos e não diferiram significativamente ($p>0,05$) entre eles,
 670 no tratamento Controle, foram significativamente maiores. As concentrações de nitrito
 671 foram significativamente mais elevadas ($p<0,05$) no tratamento Controle e
 672 significativamente mais baixas ($p<0,05$) nos tratamentos com bioflocos, quando
 673 comparadas. Porém, entre os tratamentos com bioflocos, não foram observadas
 674 diferenças significativas ($p>0,05$) para as concentrações médias de nitrito dissolvido na
 675 água. As concentrações de nitrato apresentaram valores médios significativamente mais
 676 elevados no tratamento de Bioflocos com ração, e os valores médios de todos os
 677 tratamentos diferiram entre si.

678 As figuras 13, 14 e 15 apresentam as variações médias para os compostos
 679 nitrogenados ao longo dos 60 dias experimentais nos diferentes tratamentos.



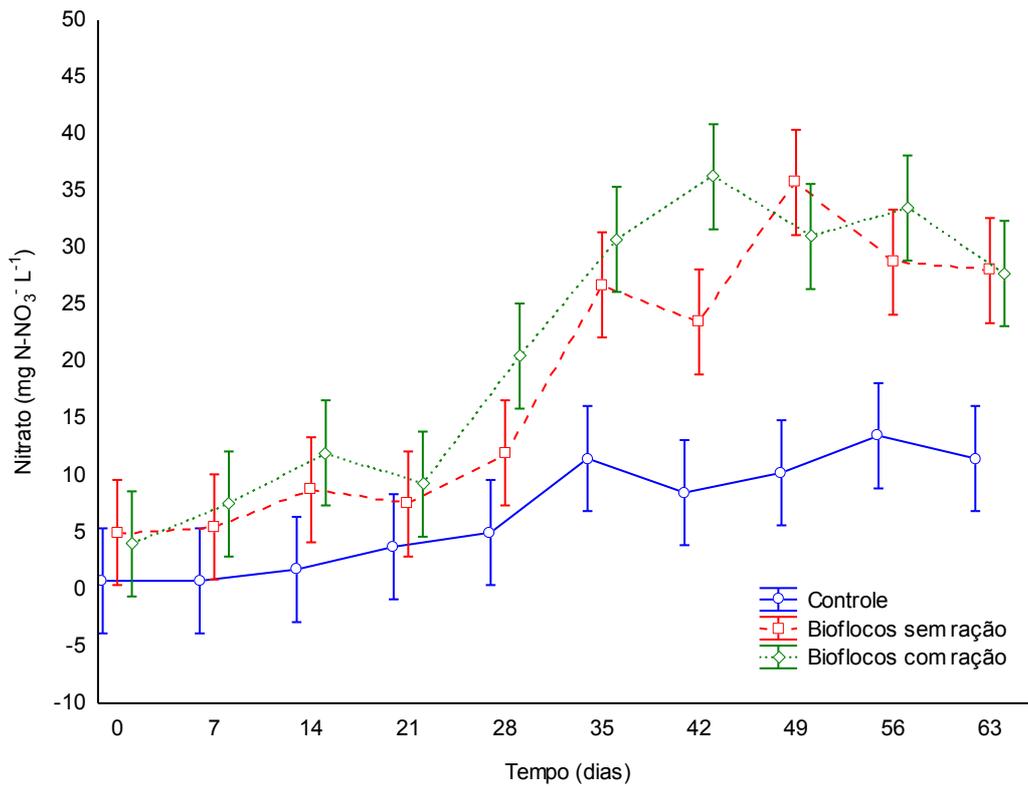
680
681
682
683
684

Figura 13: Variações (médias ± desvio padrão) das concentrações de amônia total (mg.L⁻¹) nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de engorda.



685
 686 **Figura 14: Variações (médias ± desvio padrão) das concentrações de nitrito (mg.L⁻¹) nos**
 687 **tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei***
 688 **em fase de engorda.**

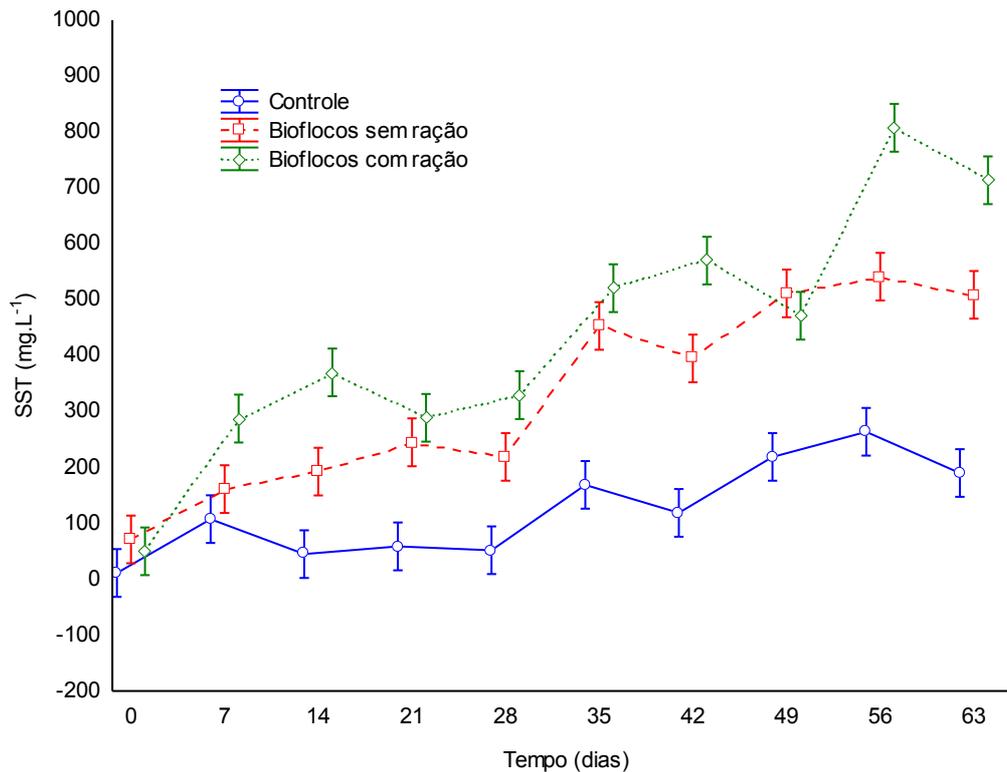
689



690
 691 **Figura 15: Variações (médias ± desvio padrão) das concentrações de nitrato (mg.L⁻¹) nos**
 692 **tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei***
 693 **em fase de engorda.**

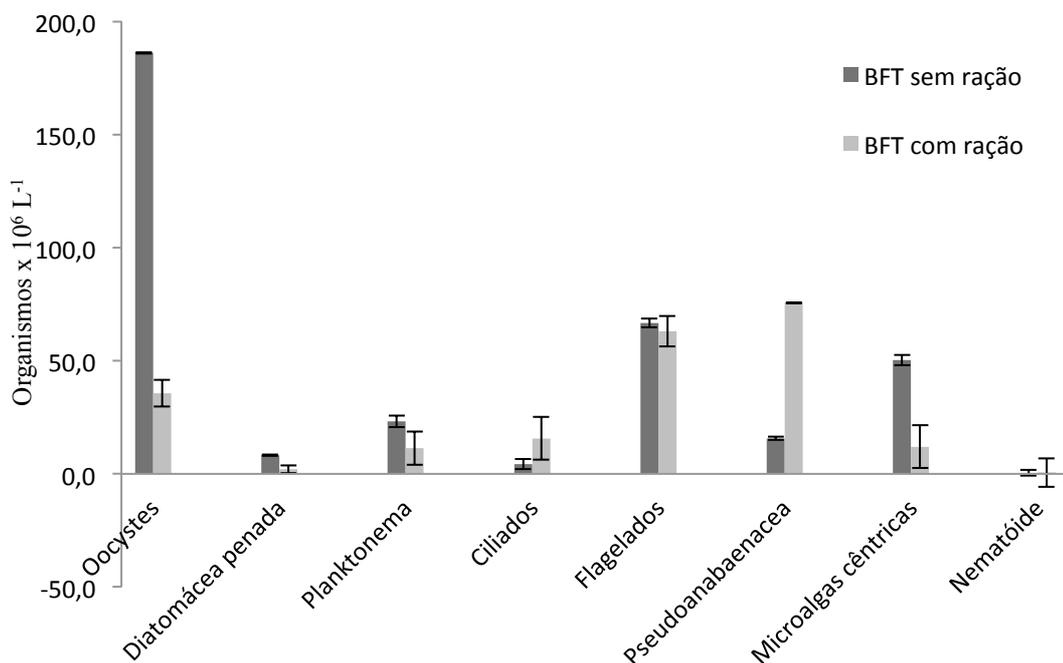
694 Os valores médios de sólidos suspensos totais (mg.L⁻¹) e de turbidez (NTU) estão
 695 apresentados na tabela 5. Tanto os sólidos suspensos totais (SST) quanto a turbidez
 696 apresentaram valores médios mais elevados no tratamento de Bioflocos com ração.
 697 Sendo que tanto para SST quanto para turbidez os valores médios apresentaram
 698 diferenças significativas entre três tratamentos.

699 Na figura 16 são apresentadas as variações para os valores de sólidos suspensos
 700 totais acima citados ao longo do período experimental.



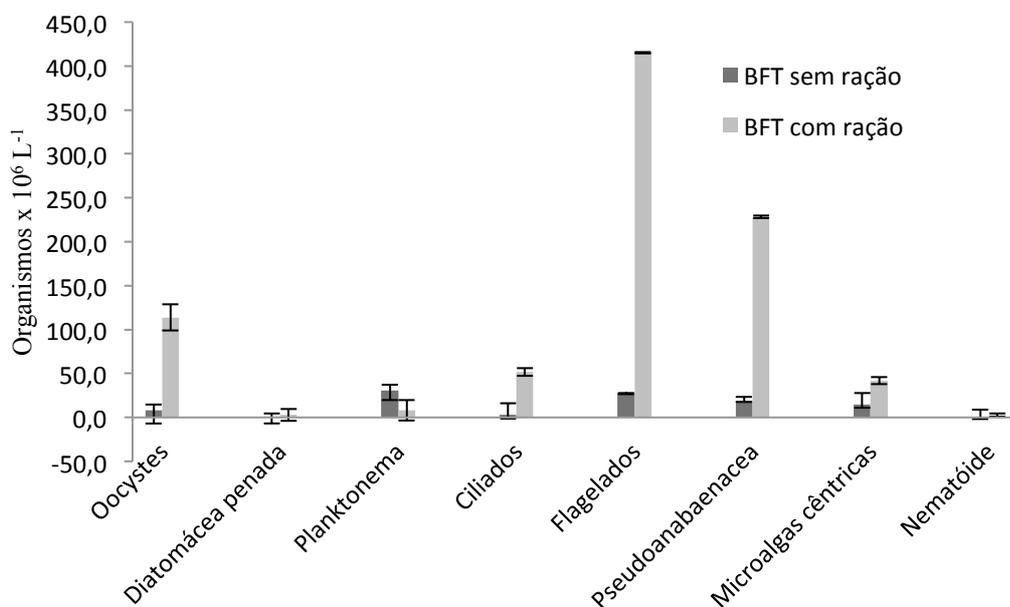
701
 702 **Figura 16: Variações nas concentrações de sólidos suspensos totais nos tratamentos Controle,**
 703 **Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de engorda.**

704 Dentre os principais microrganismos presentes nos tratamentos com bioflocos
 705 estão *Oocystes sp.*, diatomáceas penadas, plaktonemas, ciliados, flagelados, microalgas
 706 cêntricas, nematoides e cianobactéria da família *Pseudoanabaenacea*. As médias e
 707 desvios dos microrganismos presentes na comunidade microbiana dos tratamentos de
 708 Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, no início e no final do cultivo de *L.*
 709 *vannamei* na fase de engorda, estão descritas nas figuras 17 e 18.



710

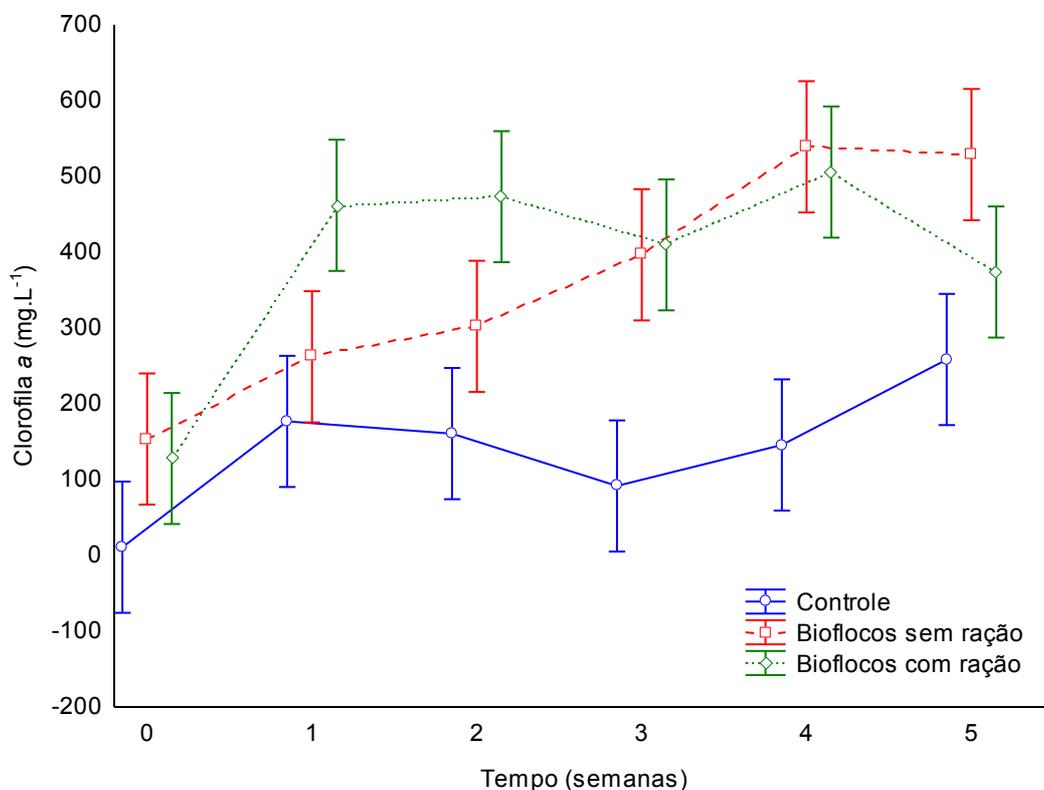
711 **Figura 17: Valores médios ± desvio padrão da comunidade microbiana no início do cultivo de *L.***
 712 ***vannamei* nos tratamentos com bioflocos durante a fase de engorda.**



713

714 **Figura 18: Valores médios ± desvio padrão da comunidade microbiana no final do cultivo de *L.***
 715 ***vannamei* nos tratamentos com bioflocos durante a fase de engorda.**

716 A figura 19 mostra as variações dos níveis de clorofila registrados ao longo do
717 experimento nos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração.



718 **Figura 19: Variações (média ± desvio padrão) nas concentrações de clorofila a nos tratamentos**
719 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* em fase de**
720 **engorda.**
721

722 Os resultados apresentados na tabela 6 mostram as principais conclusões a
723 respeito do desempenho zootécnico dos camarões ao final do experimento nos
724 diferentes tratamentos. O peso médio final (g) não apresentou diferença estatística no
725 tratamento com Controle e no tratamento de Bioflocos com ração, sendo que ambos
726 foram estatisticamente diferentes do tratamento de Bioflocos sem ração. Já a
727 sobrevivência foi mais elevada nos tratamentos Controle e Bioflocos com ração,
728 apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si, diferindo do tratamento de
729 Bioflocos sem ração que foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparada aos
730 outros tratamentos. A conversão alimentar foi significativamente menor ($p < 0,05$) no
731 tratamento Controle. Igualmente, as produtividades em kg.m^{-2} e kg.m^{-3} foram
732 significativamente maiores ($p < 0,05$) no tratamento Controle, e os valores médios foram
733 estatisticamente diferentes entre todos os tratamentos.

734 **Tabela 6: Desempenho zootécnico dos camarões (média ± desvio padrão) nos tratamentos de**
 735 **Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, durante o cultivo de *L. vannamei* na fase de**
 736 **berçário.**

Parâmetros	Controle	Bioflocos sem ração	Bioflocos com ração
Peso Inicial (g)	0,83 ± 0,53	0,83 ± 0,33	0,83 ± 0,33
Peso Final (g)	7,97 ± 2,03 ^a	1,05 ± 1,04 ^b	7,69 ± 2,27 ^a
Sobrevivência (%)	88,35 ± 12,58 ^a	8,98 ± 12,56 ^b	78,74 ± 9,15 ^c
TCA	1,66 ± 0,23 ^a	-	1,95 ± 0,15 ^b
Produtividade (kg.m ⁻²)	2,25 ± 0,29 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	1,90 ± 0,13 ^c
Produtividade (kg.m ⁻³)	2,82 ± 0,37 ^a	0,05 ± 0,04 ^b	2,37 ± 0,16 ^a
TCS (%.semana ⁻¹)	0,60 ± 0,08	0,11 ± 0,01	0,60 ± 0,05

737 *Letras iguais na mesma linha discorrem que não apresentaram diferenças significativas.

738 A média e desvio padrão dos valores isotópicos de carbono e nitrogênio dos
 739 bioflocos e da ração utilizados como fonte de alimento nos tratamentos Controle,
 740 Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração estão descritos na tabela 7.

741 **Tabela 7: Valores isotópicos (média ± desvio padrão) de carbono e nitrogênio das fontes de**
 742 **alimento dos tratamentos Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração.**

Fontes	Tratamentos	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Bioflocos	Bioflocos s/ ração	-22.27±0.17	7.29±0.60
Bioflocos	Bioflocos c/ ração	-22.71±0.18	6.67±0.37
Ração	Controle e Bioflocos c/ ração	-22.83±0.17	4.40±0.49

743

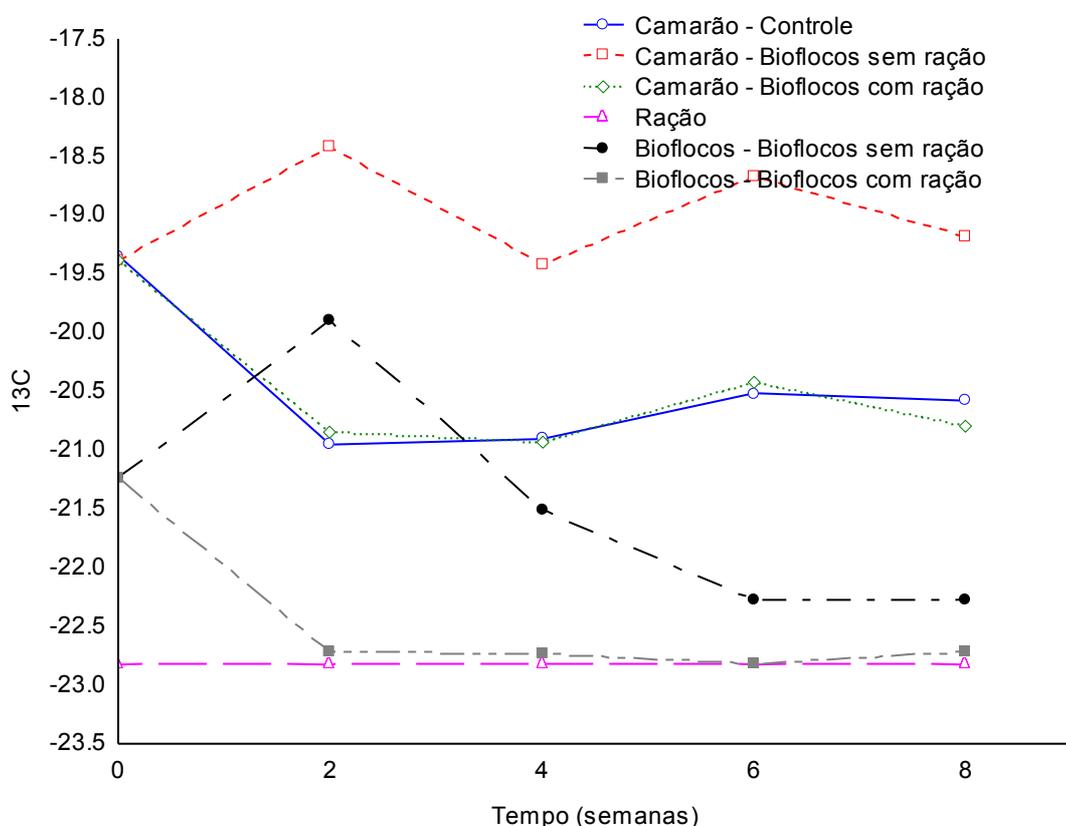
744 Os valores de contribuição dos bioflocos e da ração utilizada para as pós-larvas de
 745 *L. vannamei* por meio da técnica de isótopos estáveis estão apresentados na tabela 8.

746 **Tabela 8: Valores de contribuição das fontes de alimento (%) no equilíbrio isotópico durante o**
 747 **cultivo de *L. vannamei* na fase de engorda.**

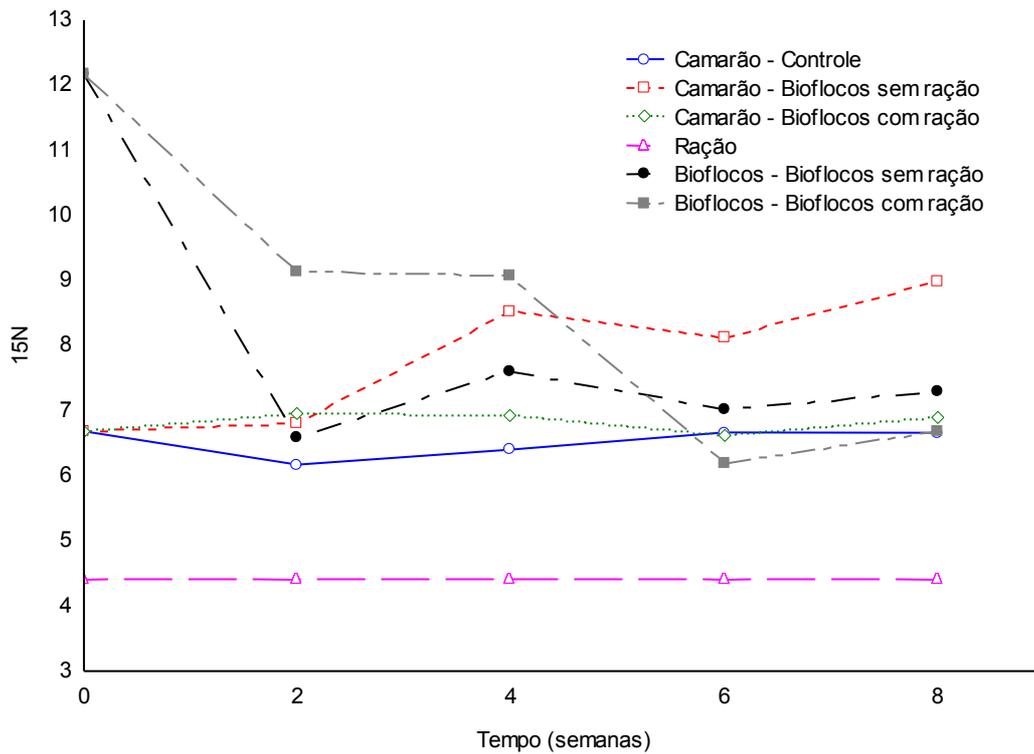
Fontes	Ração	Bioflocos
Carbono	0 – 36%	63 – 100%
Nitrogênio	13 – 64%	35 – 86%
C e N*	13 – 36%	63 – 86%

748 *Valores referentes à média dos intervalos de contribuição.

749 As figuras 20 e 21 mostram os valores isotópicos do músculo dos camarões ao
 750 longo do experimento, onde mostra que tanto os valores dos isótopos de carbono (C)
 751 quanto os valores dos isótopos de nitrogênio (N) no tratamento Controle e Bioflocos
 752 com ração vão se aproximando mais dos valores das rações, e no tratamento de
 753 Bioflocos sem ração se aproxima mais do valor dos bioflocos. A figura 22 mostra os
 754 valores isotópicos de C e N das fontes e dos camarões de acordo com seus respectivos
 755 fracionamentos, ilustrando os valores isotópicos dos camarões ficaram dentro do
 756 intervalo das fontes.

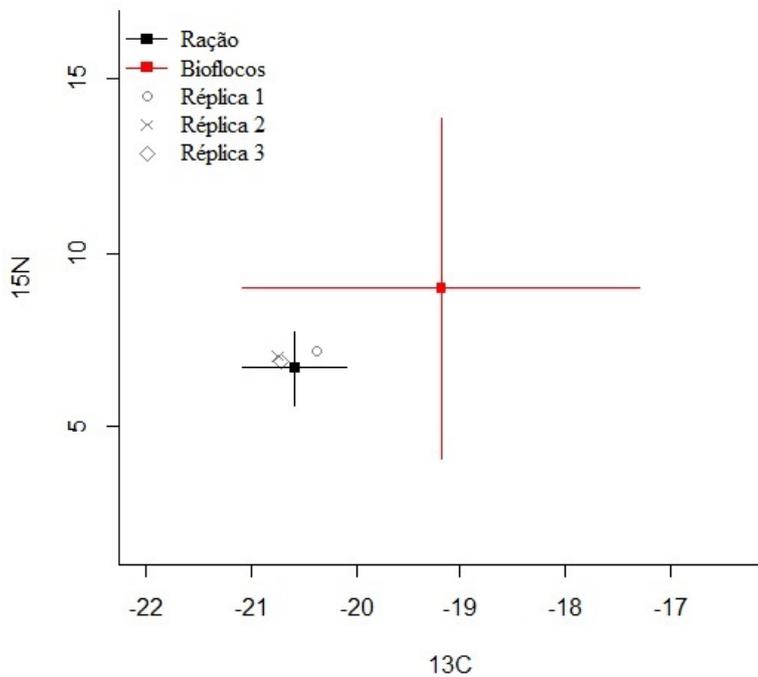


757 **Figura 20: Alterações dos valores isotópicos de carbono no músculo do camarão de acordo com os**
 758 **tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao longo do tempo.**
 759



760
761
762

Figura 21: Alterações dos valores isotópicos de nitrogênio no músculo do camarão de acordo com os tratamentos: Controle, Bioflocos sem ração e Bioflocos com ração, ao longo do tempo.



763
764
765

Figura 22: Distribuição dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para as fontes de alimento, Ração e Bioflocos, e para as replicas de camarão, 1, 2 e 3, no tratamento de Bioflocos com ração.

766 Discussão

767 O oxigênio dissolvido está diretamente relacionado com o crescimento e
768 sobrevivência dos organismos cultivados, tornando-se assim um fator limitante e suas
769 concentrações devem estar acima de 5,0 mg L⁻¹ para camarões peneídeos, o que ocorreu
770 em ambos os experimentos (Van Wyk & Scarpa 1999, Zhang et al. 2006). Da mesma
771 forma, a temperatura é diretamente proporcional ao metabolismo, consumo de oxigênio,
772 crescimento e sobrevivência dos crustáceos (Zhang *et al.* 2006), e os valores registrados
773 permaneceram acima de 24°C durante todo o período experimental, onde está situada a
774 faixa adequada de crescimento de *L. vannamei* (24 a 35°C), não afetando a
775 sobrevivência dos camarões. Por outro lado, no experimento da fase de engorda estes
776 valores não ficaram na faixa ideal, que está entre 28 e 32°C (Van Wyk & Scarpa 1999),
777 afetando negativamente as taxas de crescimento. Os níveis ideais de pH para o cultivo
778 de camarões marinhos estão em uma faixa que varia entre 7 – 9, sendo que nos dois
779 experimentos o pH se manteve acima de 7,5, não ultrapassando 8,3, em todos os
780 tratamentos, estando dentro dos valores ótimos para o crescimento do *L. vannamei*, na
781 faixa de 7,0 - 8,3 (Van Wyk & Scarpa 1999).

782 Com relação aos compostos nitrogenados, no experimento de berçário os valores
783 de amônia não atingiram o nível de segurança encontrado por Lin & Chen (2001) para
784 *L. vannamei*, de 3,55 mg.L⁻¹ em salinidade de 25. Somente os valores de nitrito
785 registrados ao final do experimento no tratamento Controle ultrapassaram os valores de
786 segurança recomendados por Furtado *et al.* (2016) de 10 mg.L⁻¹ em salinidade de 24 em
787 meio aos bioflocos. Porém, assim como Serra *et al.* (2015), que registraram
788 concentrações de nitrito acima de 20 mg.L⁻¹ no final do experimento, não afetou o
789 desempenho do camarão cultivado devido ao curto tempo de exposição. Já no
790 experimento de engorda, somente no início do experimento, os valores de amônia no
791 tratamento Controle ultrapassaram o nível de segurança encontrado por Lin & Chen
792 (2001) para *L. vannamei*, de 3,55 mg.L⁻¹ em salinidade de 25, mas não afetaram o
793 desempenho dos animais devido a renovação imediata, e nos tratamentos com bioflocos
794 os valores permaneceram próximos de 0,0 mg.L⁻¹. Da mesma forma, os valores de
795 nitrito foram mais elevados no tratamento Controle, mas não chegaram ao nível de
796 segurança de 15,2 mg.L⁻¹ em salinidade de 25 encontrados por Lin & Chen (2003), e

797 em nenhum dos tratamentos o nitrito ultrapassou os valores de segurança recomendados
798 por Furtado *et al.* (2016) de 10 mg.L⁻¹ em salinidade de 24 em meio aos bioflocos. Já o
799 nitrato, que é considerado pouco tóxico aos organismos aquáticos (Van Rijn *et al.*
800 1990), no presente estudo, ao contrário do esperado, o tratamento Controle com
801 renovação de água, em ambos os experimentos apresentaram processos de nitrificação,
802 com níveis de nitrato de até 10 e 15 mg.L⁻¹, no berçário e engorda, respectivamente, o
803 que pode ter ocorrido devido à alta densidade de camarões e ao biofilme aderido nas
804 paredes dos tanques, visualmente identificado após três semanas nas paredes dos
805 tanques. O que também foi observado por Ballester *et al.* (2007), em que o biofilme
806 presente nos substratos acelera o processo de nitrificação nos tanques de cultivo. Em
807 relação aos tratamentos de Bioflocos sem ração e de Bioflocos com ração os níveis de
808 nitrato não ultrapassaram 50 mg.L⁻¹, nos dois experimentos, não afetando assim o
809 desempenho dos camarões, visto que Kuhn *et al.* (2010) observaram que concentrações
810 inferiores a 220 mg.L⁻¹ de nitrato não afetaram a sobrevivência, o crescimento e a
811 biomassa de *L. vannamei*.

812 A formação dos bioflocos é constante no sistema BFT, onde ocorre um acúmulo
813 dos SST durante o ciclo devido à adição de fontes de carbono orgânico, o que pode
814 levar a alterações diretamente proporcionais às concentrações de oxigênio dissolvido na
815 água devido à presença de microrganismos aeróbios agregados aos bioflocos e também
816 quando em altas concentrações podem causar obstrução de brânquias nos camarões
817 (Avnimelech 2009, Ray *et al.* 2010b). No entanto, as concentrações de SST
818 recomendadas para *L. vannamei* em um sistema BFT podem variar entre 200 e 600
819 mg.L⁻¹ (Samocha *et al.* 2007, Avnimelech 2009, Ray *et al.* 2010a, Ray *et al.* 2011,
820 Gaona *et al.* 2011, Schweitzer *et al.* 2013).

821 Portanto, aparentemente, os níveis de SST registrados no tratamento de Bioflocos
822 com ração não afetaram o desempenho dos camarões, pois se mantiveram próximos de
823 600 mg.L⁻¹ durante maior parte do experimento, só foram registrados valores maiores
824 ao final dos dois experimentos, mas sem afetar o crescimento devido ao curto período
825 de exposição, uma vez que Gaona *et al.* (2016) mantiveram *L. vannamei* em
826 concentrações de SST de até 4000 mg.L⁻¹ não tiveram suas taxas de crescimento
827 afetadas.

828 Segundo Ray et al. (2010b), a abundância de certos microrganismos,
829 principalmente cianobactérias, no sistema pode afetar o crescimento e a sobrevivência
830 dos camarões. No presente estudo durante a fase de berçário, verificou-se uma alta
831 concentração de cianobactérias filamentosas (*Pseudanabaenaceae*), provavelmente, a
832 presença desses organismos pode ter contribuído para um menor crescimento dos
833 camarões neste tratamento, o mesmo foi reportado por Nunes et al. (2004), onde foi
834 observado uma alta concentração de tricomas de cianobactérias filamentosas
835 pertencentes a mesma família da encontrada no presente trabalho. Segundo os mesmos
836 autores a presença desses organismos foi o principal vetor de contaminação dos
837 camarões cultivados. Diferentes tipos de cianobactérias vêm ocasionando baixas
838 produtividades nos cultivos de camarões, por exemplo, Pacheco et al. (2016) detectaram
839 um bloom da cianobactéria *Nodularia spumigena* em um sistema de produção
840 localizado no mesmo laboratório do presente estudo. Outro exemplo, avaliando a
841 toxicidade de um tipo de cianobactéria filamentosa (*Schizothrix calcícola*) no cultivo de
842 *L. vannamei* foi realizado por Pérez-Linares et al. (2003), onde foi detectada grave
843 desordem em tecidos do trato digestório do animal, afetando a absorção e assimilação
844 dos alimentos. Além disso, quando essas cianobactérias filamentosas chegam às
845 brânquias dos camarões elas interferem no processo respiratório do animal, causando
846 um estresse no animal, podendo desencadear alguma enfermidade (Lightner 1978). Fato
847 que pode ter ocorrido no tratamento Bioflocos com ração do berçário, visto que foi
848 observado obstrução de brânquias ao longo do experimento.

849 As microalgas são de grande importância para a manutenção da qualidade da água
850 nos viveiros de cultivo, e a produção primária apresenta componentes essenciais à dieta
851 do camarão, sendo melhores do que as bactérias no fornecimento de alguns
852 aminoácidos, vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados (Patil & Gislerød 2006, Burford
853 et al. 2003, Moss et al. 2002). No tratamento de Controle da fase de berçário foi
854 observado uma maior quantidade de *Oocystes sp.* e diatomáceas penadas o que pode ter
855 levado a um maior crescimento e uma menor taxa de conversão alimentar, assim como
856 Godoy et al. (2012) observaram que juvenis de *L. vannamei* cultivados em ambiente
857 contendo diatomáceas como suplemento ganharam 17% mais peso e apresentaram
858 conversão alimentar excelente (0,47), comparados àqueles cultivados em bioflocos e de
859 mistura entre os dois (conversão alimentar 0,76 e 0,80, respectivamente). Já durante a

860 fase de engorda, da mesma forma como relatado por Burford et al. (2003), trabalhando
861 em sistema BFT, os bioflocos deste estudo também apresentaram ciliados, flagelados e
862 cianobactérias, sendo que no tratamento de Bioflocos sem ração foi observado uma
863 maior quantidade dos microrganismos no início do experimento quando comparada à
864 quantidade no final, demonstrando assim que esses microrganismos podem ter sido
865 predados pelos camarões, essa pastagem dos agregados por camarões também foi
866 observada por Nagano & Decamp (2004). Já no tratamento de Bioflocos com ração, a
867 quantidade final desses microrganismos aumentou quando comparada à quantidade
868 inicial, o que provavelmente ocorreu devido à presença da ração.

869 A produção primária não atua apenas na manutenção da qualidade da água, mas
870 também na nutrição dos camarões, sendo esta muito influenciada pela presença de
871 microalgas fotossintetizantes (Burford *et al.* 2003, Moss *et al.* 2002). Estas microalgas
872 são melhores do que as bactérias no fornecimento de alguns aminoácidos e ácidos
873 graxos insaturados de cadeia longa da série n-3 (Van Wyk 2006). Além disso, durante
874 as fases de larvicultura e de berçário, a comunidade fitoplanctônica fornece nutrientes
875 importantes para o crescimento do camarão porque são fontes ricas em nutrientes
876 essenciais, importantes para o crescimento e desenvolvimento bem sucedido de
877 camarões peneídeos (Ballester *et al.* 2007, Silva *et al.* 2008). Os tratamentos Controle e
878 Bioflocos com ração, durante a fase de berçário, tiveram seus níveis de clorofila
879 próximos ao longo do experimento, no Controle estes níveis se justificam pela
880 produtividade primária devido à penetração de luz, o que pode ter ocorrido também no
881 biofoco, pois altas concentrações de Clorofila *a* também foram observadas por Burford
882 *et al.* (2003) e Decamp *et al.* (2007) em viveiros de camarão operados em sistemas de
883 bioflocos, o mesmo ocorreu no experimento de engorda, em que os tratamentos com
884 bioflocos apresentaram altas concentrações de Clorofila *a*. No experimento 1 ocorreu
885 maior crescimento dos camarões no tratamento Controle, com renovação de água, e a
886 sobrevivência não diferiu estatisticamente quando comparado ao tratamento de
887 Bioflocos com ração, e no experimento 2 como a temperatura não ficou na faixa ideal e
888 não houve diferença significativa no desempenho dos camarões entre o tratamento
889 Controle e o de Bioflocos com ração, o bom desempenho em ambos os experimentos no
890 tratamento Controle se deu pela produtividade primária, o mesmo ocorreu no trabalho
891 de Godoy *et al.* (2012) que reportaram melhores resultados de crescimento no cultivo

892 com renovações constantes devido a essa produtividade. Por outro lado, Wasielesky et
893 al. (2006) observaram ganho de peso adicional de até 32% associado a ingestão de
894 flocos microbianos por camarões *L. vannamei* quando comparou o cultivo em sistema
895 BFT com o cultivo com renovação de água.

896 A técnica de isótopos estáveis com carbono e nitrogênio ($\delta^{13}\text{C}$ e ^{15}N) vem sendo
897 bastante utilizada para auxiliar no entendimento de qual fonte alimentar (natural ou
898 artificial) se sobrepõe em importância para o crescimento de camarões peneídeos
899 (Nunes et al. 1997, Epp 2002, Burford *et al.* 2004a, b). Sendo assim, os fatores de
900 discriminação ou fracionamento isotópico são indispensáveis para correção dos dados
901 isotópicos, porém são frequentemente desconhecidos e na maior parte das vezes é
902 necessária utilização de dados encontrados na bibliografia (Gamboa-Delgado et al.
903 2013). No entanto, este fracionamento depende da espécie em questão, da fase de
904 desenvolvimento, dos tecidos considerados e da composição da dieta (Lochman e
905 Phillips 1996). Porém, de uma maneira geral o fracionamento entre os animais e sua
906 dieta varia na média de 3-5 partes em relação ao nitrogênio e de 0-1 em relação ao
907 carbono (Peterson & Fry 1987). Assim como Gamboa-Delgado e Le Vay (2009), que
908 obtiveram uma variação deste fator de 0,8 a 6,6 para o nitrogênio e de 2,3 a 4,1 para o
909 carbono, no presente trabalho o valor encontrado para esse fracionamento foi distinto e
910 sua variação ficou entre 0,45 e 1,88 para C e 0,73 e 2,59 para N, no experimento de
911 berçário, e entre 0,13 e 2,96 para C e 0,12 e 2,99 para N, no experimento de engorda.
912 Além disso, assim como Cardona *et al.* (2015), os tratamentos foram separados com um
913 usando camarões consumindo apenas bioflocos e o outro com camarões consumindo
914 somente a dieta experimental para obter esses fatores de discriminação distinguindo as
915 fontes utilizadas.

916 Nestas condições e com base em estimativas de um modelo de mistura simples de
917 duas fontes, o C e o N dos bioflocos ou produtividade natural contribuiram para o
918 crescimento do camarão em níveis de 22 a 43% no experimento de berçário, valor muito
919 próximo ao encontrado por Cardona *et al.* (2015) em trabalho análogo a este, mas
920 trabalhando com a espécie *Litopenaeus stylirostris*, que obtiveram uma contribuição de
921 37 a 40% da produtividade natural, e níveis 63 a 86% no experimento de engorda, valor
922 similar ao encontrado por Anderson *et al.* (1987), em estudo realizado em viveiros

923 escavados, onde observaram que a biota natural contribuiu entre 53 e 77% para o
924 crescimento de *L. vannamei*. Gamboa-Delgado *et al.* (2016) relataram que um nível de
925 inclusão de 25% de farinha de biofloco em dietas para *L. vannamei* têm o nitrogênio
926 proveniente do biofloco refletido no músculo dos camarões e um crescimento
927 comparável ao de 100% de farinha de peixe, enquanto que Burford *et al.* (2004a)
928 estimaram que o nitrogênio derivado dos bioflocos foi retido a um nível entre 18 e 29%
929 para juvenis de *L. vannamei*, valores similares a estes foram encontrados durante a fase
930 de berçário do presente estudo, que indicou que até 43% do nitrogênio dos camarões é
931 proveniente dos bioflocos. Analisando somente os isótopos de nitrogênio, Abreu *et al.*
932 (2007), observaram que o biofilme formado nos tanques de cultivo pode fornecer mais
933 de 70% do nitrogênio utilizado por *Farfantepenaeus paulensis*, percentual este similar
934 ao encontrado na fase de engorda, em que pode ser observado que os bioflocos podem
935 fornecer de 35 a 86% do nitrogênio utilizado pelo *L. vannamei*.

936 Por outro lado, Rios da Silva *et al.* (2013), realizando um balanço de massa do
937 nitrogênio no sistema de bioflocos observou que 38,9% do nitrogênio proveniente da
938 ração fornecida não é aproveitado pelos camarões, ficando disponível no sistema. Os
939 resultados do presente estudo comprovam o que foi observado por esses autores, pois
940 ficou evidente que ao longo do tempo a assinatura isotópica da ração incorporou nos
941 bioflocos, ou seja, uma parcela de ração que seria perdida acabou retornando na forma
942 de biomassa bacteriana.

943 Quanto ao Carbono proveniente dos bioflocos, no experimento 1 foi observado um
944 valor de 22 a 43% de contribuição para o crescimento de *L. vannamei*, valor similar ao
945 encontrado por Epp *et al.* (2002), que utilizando uma metodologia diferente, estimaram
946 que 50% de Carbono assimilado para o crescimento de *L. vannamei* veio a partir dos
947 bioflocos. Já em relação aos isótopos de carbono no experimento 2 foi observado um
948 valor de contribuição dos bioflocos de 63 a 100% para o crescimento do *L. vannamei*,
949 níveis próximos foram encontrados por Nunes *et al.* (1997) que, avaliando o conteúdo
950 estomacal e a taxa dos isótopos estáveis de carbono, atribuíram 75% do crescimento do
951 camarão *Penaeus subtilis* à produtividade natural presente em um cultivo semi-
952 intensivo.

953

954 Conclusão

955 Em virtude dos fatos mencionados, a análise de isótopos estáveis reforça a nossa
956 compreensão sobre o papel desempenhado pelos bioflocos na alimentação de *L.*
957 *vannamei*, concluindo que os camarões em fase de berçário cultivados em sistema BFT
958 obtiveram de 22 a 43% de contribuição a partir da produtividade natural dos bioflocos
959 para a formação dos seus tecidos.

960 Além disso, as análises isotópicas das fontes e dos camarões indicaram que os
961 valores isotópicos de carbono e nitrogênio dos bioflocos foram refletidos no músculo
962 em menos de 20 dias, onde os camarões em fase de engorda cultivados em meio aos
963 bioflocos obtiveram uma contribuição de 63 a 86% a partir da produtividade natural dos
964 flocos microbianos para a formação dos tecidos do músculo.

965

966 Referências Bibliográficas

- 967 Abreu, P.C., Ballester, E.L., Odebrecht, C., Wasielesky Jr., W., Cavalli, R.O., Granéli,
968 W., Anesio, A.M., 2007. Importance of biofilm as food source for shrimp
969 (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). J. Exp.
970 Mar. Biol. Ecol. 347 (1), 88–96.
- 971 American Public Health Association (APHA), 1989. Standard methods for the
972 examination of water and wastewater. Washington. pp.1193.
- 973 Anderson, R.K., Parker, P.L., Lawrence, A., 1987. A $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the
974 utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Penaeus*
975 *vannamei* in a pond growout system1. J. World Aquacult. Soc. 18 (3), 148–155.
- 976 Arnold, S.J., Coman, F.E., Jackson C.J., Groves S.A., 2009. High-intensity, zero-
977 exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: An evaluation of
978 artificial substrates and stocking density. Aquaculture 293, 42-48.
- 979 Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
980 systems. Aquaculture, 176: 227-235.
- 981 Avnimelech, Y., 2009. Biofloc technology: a practical guide book. Baton Rouge: World
982 Aquaculture Society. 182p.
- 983 Ballester, E.L.C., Wasielesky, W., Cavalli, R.O., Santos, M.H.S., Abreu, P.C., 2007.
984 Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial
985 substrates: Biofilm composition and shrimp performance. Aquaculture 269:355–
986 362.
- 987 Barbieri R.C. Jr. & Ostrensky Neto A., 2001. Camarões Marinhos: reprodução,
988 Maturação e Larvicultura. Viçosa: Aprenda Fácil ed. 255p.
- 989 Boyd, C.E., 2003. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm- level.
990 Aquaculture, 226: 101-112.
- 991 Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2003.
992 Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in
993 Belize. Aquaculture 219, 393–411.

- 994 Burford, M.A., Thompson, P.J., Mcintosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004a.
995 The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*)
996 nutrition in a high-intensity, zero exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537.
- 997 Burford, M.A., Sellars, M.J., Arnold, S.J., Keys, S.J., Crocos, P.J., Preston, N.P., 2004b.
998 Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional
999 requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-
1000 density rearing systems. *Aquaculture Research*, 35:508–515.
- 1001 Cardona, E., Lorgeoux, B., Geffroy, C., Richard, P., Saulnier, D., Gueguen, Y., Guillou,
1002 G., Chim, L., 2015. Relative contribution of natural productivity and compound feed
1003 to tissue growth in blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) reared in biofloc:
1004 Assessment by C and N stable isotope ratios and effect on key digestive enzymes.
1005 *Aquaculture* 448 : 288–297.
- 1006 Decamp, O.E., Conquest, L., Cody, J. & Forster, I., 2007. Effect of shrimp stocking
1007 density on size-fractioned phytoplankton and ecological groups of ciliated protozoa
1008 within zero-water exchange shrimp culture systems. *Journal of the World*
1009 *Aquaculture Society* 38, 395–406.
- 1010 Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the
1011 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of
1012 ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture* 257: 346-358.
- 1013 Edwards, P., 2015. Aquaculture environment interactions: Past, present and likely future
1014 trends. *Aquaculture* 447 : 2–14.
- 1015 Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O. & Wasielesky, W., 2012. Biofloc
1016 Technology application as a food source in a limited water exchange nursery system
1017 for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture*
1018 *Research*, 43:447-457.
- 1019 Epp, M.A., Ziemann, D.A., Schell, D.M., 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-
1020 water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. *Aquac. Res.* 33
1021 (11), 839–846.

- 1022 FAO, 2013. Fisheries and Aquaculture Report No. 1053. Vietnam 2013 65p.
- 1023 FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food
1024 security and nutrition for all. Rome. 200 p.
- 1025 Fóes, G., Froes, C., Krumenauer, D., Poersch, L., Wasielesky, W., 2011. Nursery of
1026 Pink Shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in Biofloc Technology Culture System:
1027 Survival and Growth at Different Stocking Densities. Journal of Shellfish Research,
1028 v. 30, p. 367-373.
- 1029 Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2011. Effect of calcium hydroxide,
1030 carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of
1031 shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems.
1032 Aquaculture (Amsterdam), v. 321, p. 130-135.
- 1033 Furtado, P.S., Valenzuela, M.A.J., Rodriguez-Fuentes, G., Campos, B.R., Wasielesky
1034 Jr., W. & Gaxiola, G., 2016. Chronic effect of nitrite on the rearing of the white
1035 shrimp *Litopenaeus vannamei* in two salinities, Marine and Freshwater Behaviour
1036 and Physiology, 49:3, 201-211, DOI: 10.1080/10236244.2016.1163837
- 1037 Gamboa-Delgado, J., Cañavate, J.P., Zerolo, R., Le Vay, L., 2008. Natural carbon stable
1038 isotope ratios as indicators of the relative contribution of live and inert diets to
1039 growth in larval Senegalese sole (*Soela senegalensis*). Aquaculture, 280:190-197.
- 1040 Gamboa-Delgado, J., Le Vay, L., 2009. Natural stable isotopes as indicators of the
1041 relative contribution of soy protein and fish meal to tissue growth in Pacific white
1042 shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed compound diets. Aquaculture 291 (1), 115–123.
- 1043 Gamboa-Delgado, J., Rojas-Casas, M.G., Nieto-Lopez, M.G., Cruz-Soarez, L.E., 2013.
1044 Simultaneous estimation of the nutritional contribution of fish meal, soy protein
1045 isolate and corn gluten to the growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus*
1046 *vannamei*) using dual stable isotope analysis. Aquaculture, 380-383:33-40.
- 1047 Gamboa-Delgado, J., Oca, G.A.R.M., Reyes, J.C.R., Villarreal-Cavazos, D.A., Nieto-
1048 Lopez, M. & Cruz-Suarez, L.E., 2016. Assessment of the relative contribution of
1049 dietary nitrogen from fish meal and biofloc meal to the growth of Pacific white

1050 shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Research, 1-10.
1051 DOI:10.1111/are.13129.

1052 Gaona, C.A.P., Poersch, L.H., Krummenauer, D., Foes, G.K., Wasielesky, W., 2011.
1053 The Effect of Solids Removal on Water Quality, Growth and Survival of
1054 *Litopenaeus vannamei* in a Biofloc Technology Culture System. International
1055 Journal of Recirculating Aquaculture, v. 12, p. 54-73.

1056 Gaona, C.A.P., Serra, F.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2016. Effect of
1057 different total suspended solids concentrations on the growth performance of
1058 *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. Aquacultural Engineering 72 : 65–69.

1059 Godoy, L.C., Odebrecht, C., Ballester, E.L.C., Martins, T.G., Wasielesky, W., 2012.
1060 Effect of diatom supplementation during the nursery rearing of *Litopenaeus*
1061 *vannamei* (Boone, 1931) in a heterotrophic culture system. Aquaculture
1062 International, 20: 559-569.

1063 Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional
1064 Aquaculture Center (SRAC Publication), No. 4503, USA.

1065 Jimenéz-Yan, L., Brito, A., Cuzon, G., Gaxiola, G., Garcia, T., Taboada, G., Soto, L.A.,
1066 Brito, R., 2006. Energy balance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed on animal
1067 or vegetable protein based compounded feeds. Aquaculture, 260:337-345.

1068 Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R., Poersch, L., Wasielesky, W., 2011.
1069 Superintensive Culture of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a Biofloc
1070 Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities. Journal of
1071 the World Aquaculture Society, v. 42, p. 726-733.

1072 Krummenauer, D., Lara, G., Poersch, L.H.S., Wasielesky Jr., W., 2014. The Reuse of
1073 Water on the Culture of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT
1074 System. Journal of the World Aquaculture Society, v. 45, p. 3-14.

1075 Kuhn, D.D., Drahos, D.D., Marsh, L., Flick, G.J. Jr., 2010. Evaluation of nitrifying
1076 bacteria product to improve nitrification efficacy in recirculating aquaculture
1077 systems. Aquacult Eng. 43:78–82.

- 1078 Lightner, D.V., 1978. Possible toxic effects of the marine blue-green alga, *Spirulina*
1079 subsalsa, on the blue shrimp *Penaeus stylirostris*. *Journal of Invertebrate Pathology*,
1080 32, 139–150.
- 1081 Lightner, D.V., 2005. Biosecurity in Shrimp Farming: Pathogen Exclusion through Use
1082 of SPF Stock and Routine Surveillance. *J. World Aquacult. Soc.* 36, 229–248.
- 1083 Lin, Y.C., Chen, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei*
1084 Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259, 109– 119.
- 1085 Lin, Y.C., Chen J.C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *L. vannamei* (Boone) juveniles at
1086 different salinity levels. *Aquaculture* 224, 193–201.
- 1087 Lochman, R., Phillips, H., 1996. Stable isotopic evaluation of the relative assimilation
1088 of natural and artificial foods by golden shiners *Notemigonus crysoleucas* in
1089 ponds. *J. World Aquacult. Soc.* 27 (2), 168–177.
- 1090 McIntosh, B.J., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., Mckee, D.A., Horowitz,
1091 S., Horowitz, A., 2000. The effect of a bacterial supplement on the high-density
1092 culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system
1093 and no water exchange. *Aquacultural Engineering.* 21:215-227.
- 1094 Moss, S.M., 2002. Dietary importance of microbes and detritus in Penaeid shrimp
1095 aquaculture. In: LEE CS and P O'BRYEN (Eds.), *Microbial approaches to aquatic*
1096 *nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*, World
1097 *Aquaculture Society.* 1-18.
- 1098 Moss, K.R.K. & Moss, S.M., 2004. Effects of artificial substrate and stocking density
1099 on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal*
1100 *of World Aquaculture Society*, 35(4):536-542.
- 1101 Nagano, N. & Decamp, O., 2004. Ingestion of a ciliated protozoa by first-feeding larval
1102 stage of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Res.*,
1103 35: 516-518.

- 1104 Nunes, A.J.P., Gesteira, T.C.V., Goddard, S., 1997. Food ingestion and assimilation by
1105 the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE
1106 Brazil. *Aquaculture* 149 (1), 121–136.
- 1107 Nunes, A.J.P., Martins, P.C.C., Gesteria, T.C.V., 2004. Carcinicultura ameaçada:
1108 produtores sofrem com as mortalidades decorrente do Vírus da Mionecrose
1109 Infecçiosa (IMNV). *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, p. 37 – 51.
- 1110 Patil, V. & Gislerød, H.R., 2006. The importance of omega-3 fatty acids in diet. *Curr*
1111 *Sci* 90: 908-909.
- 1112 Pearson, D.F., Levey, D.J., Greenberg, C.H., Martinez del Rio C., 2003. Effects of
1113 elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon
1114 isotopic signatures in an omnivorous songbird. *Oecologia* 135: 516–523
- 1115 Pérez-Linares, J., Cadena, M., Rangel, C., Unzueta-Bustamante, M.L., Ochoa, J.L.,
1116 2003. Effect of *Schizothrix calcícola* on white shrimp *Litopenaeus vannamei*
1117 postlarvae. *Aquaculture*, 218 : 55-65.
- 1118 Peterson, B.J., FRY, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Eco.*
1119 *Syst.*, 18, 293-320.
- 1120 Phillips, D.L., Gregg, J.W., 2001. Uncertainty in source partitioning using stable
1121 isotopes. *Oecologia* 127 (2), 171–179.
- 1122 Philips, D.L., 2012. Converting isotope values to diet composition: the use of mixing
1123 models. *Journal of Mammology*, 93(2):342-352.
- 1124 Ray, A.J., Lewis, K.S., Browdy, C.L., Leffler, J.W., 2010a. Suspended solids removal to
1125 improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-
1126 based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*
1127 299,89-98.
- 1128 Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010b.
1129 Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive
1130 aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*
1131 310,130-138.

- 1132 Ray, A.J., Dillon, K.S., Lotz, J. M., 2011. Water quality dynamics and shrimp
1133 (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with
1134 two levels of biofloc management. *Aquacult. Eng.* 45,127-136.
- 1135 Rios da Silva, K., Wasielesky Jr., W. & Abreu, P.C., 2013. Nitrogen and Phosphorus
1136 Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus*
1137 *vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 44, p. 30-41.
- 1138 Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A.M., Burger, J.M., Almeida, R.V., Ayub,
1139 Z., Harisanto, M., Horowitz, A., Brock, D.L., 2007. Use of molasses as carbon
1140 source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus*
1141 *vannamei*. *Aquacult. Eng.*, 36:184–191
- 1142 Schweitzer, R., Arantes, R., Costodio, P.F.S., Santo, C.M.E., Vinatea, L.A., Seiffert,
1143 W.Q. & Andreatta, E.R., 2013. Effect of different biofloc levels on microbial
1144 activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system
1145 operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering* 56, 59–70.
- 1146 Serra, F.P., Gaona, C.A., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2015. Use of
1147 diferente carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and
1148 grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, DOI
1149 10.1007/s10499-015-9887-6 (Publicado Online 11 Fevereiro 2015).
- 1150 Silva, C.F., Ballester, E.L.C., Monserrat, J., Geracitano, L., Wasielesky, W. & Abreu,
1151 P.C., 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutrition quality:
1152 protein and lipid contents. *Aquaculture Nutrition*, 14: 507-514.
- 1153 Soares, R.B., Peixoto, S., Wasielesky, W., D'Incao, F., 2005. Feding rhythms and diet
1154 of *Farfantepenaeus paulensis* under pen culture in Patos Lagoon estuary, Brazil.
1155 *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 322:167-176.
- 1156 Sokal, R.R., & Rohlf, F.J., 1969. *Biometry. Principle and practices of statistics in*
1157 *biological research*. W. H. Freeman & Co, 776 p.
- 1158 Strickland, J.D.H. & Parsons, T.R., 1972. *A practical handbook of seawater analysis*.
1159 Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310 p.

- 1160 Suita, S.M., Romano, L.A., Cardozo, A.P., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2015a.
1161 Development of the hepatopancreas and quality analysis of postlarvae Pacific white
1162 shrimp *Litopenaeus vannamei* produced in a BFT system. *Aquaculture*
1163 *International*, 23:449-463.
- 1164 Thompson, R.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2002. Importance of biofilm for water
1165 quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203:263- 278.
- 1166 Unesco, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual
1167 and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission.
- 1168 Utermohl, H., 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton metthodik.
1169 *Int. Ver. Theor. Angew. Limnology* 9:1-38.
- 1170 Van Rijn, J., Rivera, G., 1990. Aerobic and anaerobic biofiltration in an aquaculture
1171 unitnitrite accumulation as a result of nitrification and denitrification. *Aquac. Eng.*
1172 9, 217–234.
- 1173 Van Wyk, P., Scarpa, J., 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al.
1174 (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida
1175 Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, pp. 128–138.
- 1176 Van Wyk, P., 2006. Production of *Litopenaeus vannamei* in recirculating aquaculture
1177 systems: Management and design considerations. In: *Proceedings o the 6th*
1178 *Internacional conference Recirculating Aquaculture*. p. 38-47 Virginia Tech
1179 University. Blacksburg.
- 1180 Wasielesky, W.J., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural
1181 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive
1182 culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396-
1183 403.
- 1184 Wasielesky, W., Froes, C., Foes, G.K., Krummenauer, D., Lara, G., Poersch, L.H.,
1185 2013. Nursery of *Litopenaeus vannamei* Reared in a Biofloc System: The Effect
1186 of Stocking Densities and Compensatory Growth. *Journal of Shellfish Research*,
1187 v. 32, p. 799-806.

- 1188 Welschmeyer, NA., 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of
1189 chlorophyll b and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1985–1992.
- 1190 Zhang, P., Zhang, X., Li J., Huang G., 2006. The effects of body weight, temperature,
1191 salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg
1192 shrimp, *L. vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture* 256, 579–587.