

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE PESCA E AQÜICULTURA PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQÜICULTURA

SÂMIA RÉGIA ROCHA MONTEIRO

UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ARTIFICIAL EM CULTIVO DO CAMARÃO Litopenaeus vannamei, EM ÁGUA OLIGOHALINA E MEIO HETEROTRÓFICO

SÂMIA RÉGIA ROCHA MONTEIRO

UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ARTIFICIAL EM CULTIVO DO CAMARÃO Litopenaeus vannamei, EM ÁGUA OLIGOHALINA E MEIO HETEROTRÓFICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura.

Orientador: **Dr. Paulo de Paula Mendes,** Depto. de Pesca e Aqüicultura/UFRPE.

FICHA CATALOGRÁFICA

M775u Monteiro, Sâmia Régia Rocha

Utilização de substrato artificial em cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, em água oligohalina e meio heterotrófico / Sâmia Régia Rocha Monteiro. -- 2008.

65 f.: il.

Orientador : Paulo de Paula Mendes Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultu – ra) — Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca e Aqüicultura.

Inclui anexo e bibliografia.

- 1. Litopenaeus vannamei
- 2. Substrato
- 3. Oligohalina
- 4. Heterotrófico
- I Mendes, Paulo de Paula
- II. Título

Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

Parecer da comissão examinadora da defesa de dissertação de mestrado de

SÂMIA RÉGIA ROCHA MONTEIRO

"Utilização de substrato artificial em cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, em água oligohalina e meio heterotrófico"

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera a candidata **SÂMIA RÉGIA ROCHA MONTEIRO** como APROVADA.

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes (UFRPE)
Orientador

Prof. Dr. André Fernando Lavorante (UFRPE)
Membro externo

Profª Dra. Emiko Shinozaki Mendes (UFRPE)
Membro interno

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (UFRPE)
Membro interno

Profª Dra. Roberta Borda Soares (UFRPE)

Suplente

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha mãe Regina, a meus irmãos Tiago e Sâmille e a minha avó Maria Stela, que mesmo com a distância me deram confiança, apoio e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar saúde, paz e esperança recebida nos momentos difíceis.

Ao Departamento de Pesca e Aqüicultura da UFRPE e, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura e a Estação de Aqüicultura Continental Professor Johei Koike, em nome de todos os professores e funcionários, por toda a infraestrutura disponibilizada. A agência Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), através da Rede de Carcinicultura do Nordeste (RECARCINE), pelo apoio financeiro necessário para o desenvolvimento do referido projeto.

Ao orientador Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes, por toda orientação, incentivo, dedicação e amizade. Ao Laboratório de Carcinicultura - LaCar, em nome do seu coordenador Dr. Paulo de Paula Mendes, pela acolhida e oportunidade de pesquisa. Ao mesmo tempo a todos que fazem esse laboratório: A Engenheira de Pesca Elaine Cristina e aos Engenheirandos Cláudio Figueiroa e Karolline Correia pela amizade, companheirismo e ajuda durante o período de montagem, instalação e desenvolvimento experimental. E em especial aos Engenheiros de Pesca Dijaci Araújo e Yuri Vinícius pela excelente amizade, conselhos dados nas horas mais difíceis e afeição com a qual dedicaram-se ao experimento.

Ao Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos – LASAq, em especial a Dra. Emiko Shinozaki Mendes e a Veterinária Joanna Dourado, por ter realizado as análises bacteriológicas. Aos amigos e colegas de turma de mestrado 2006: Allan Inácio, Ana Cecília, Beatriz Regina, Danielle Lima, Danielli Matias, Diogo Bessa, Dráusio Pinheiro, Fernando Kim, Irũ Menezes, Isabela Maria, José Carlos, Juliana Ferreira, Kátia Santos, Miguel Arcanjo, Mônica Maria, Renata Triane, Ugo Lima, Sandra Cristina, Verônica da Silva e Wanessa de Melo, pela convivência durante o período de mestrado e acima de tudo a amizade.

Aos meus amigos de hoje e sempre: Aprigio Neto, Ariane Ximenes, Herlanete Brito, Lidiane Alencar, Magna Kelly, Maria Rosalina e Wanessa de Melo, pela ajuda nas horas mais difíceis, torcendo para que o objetivo fosse atingido. Ao Biólogo Isaac Farias, por tudo que representa em minha vida, por toda a ajuda na hora de decidir qual caminho seguir, sempre com paciência e amor.

A todos os familiares, em especial meus irmãos Sâmille e Tiago, meus pais Regina Lucia e Francisco Antônio, e à minha avó Maria Stela, aos amigos, colegas, companheiros de estudo e de trabalho que de alguma forma me deram forças e ânimo para iniciar, manter e finalizar mais essa etapa da minha vida profissional.

RESUMO

O uso de substratos artificiais na aquicultura vem sendo utilizado para disponibilizar maior área de cultivo e alimento natural, melhorando a qualidade de água e desempenho do camarão. Objetivando maximizar a sobrevivência, conversão alimentar e peso final do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, quando cultivado em água oligohalina (>0,5‰) e em meio heterotrófico, foram avaliadas a influência da adição de telas como substrato artificial. Pós-larvas com 10 dias (PL₁₀) foram aclimatadas de 34% para 0,5%, durante um período de 12 dias. Ao final do processo de aclimatação, as pós-larvas (PL₂₂) foram cultivadas até se obter o peso de 0,3±0,1g e, posteriormente, foram transferidas para 18 tanques de fibra de vidro (800L de volume útil) e estocadas com 150 PL/tanque. A porcentagem de adição de substrato (PAS) foi representada por 100, 150, 200, 250 e 300% da área de fundo dos tanques (1,0 m²), e o controle com "0" de PAS, analisadas em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Durante a fase de cultivo, foi utilizada, nos 30 primeiros dias, ração com 40% de proteína bruta (PB) e nos 15 posteriores, com 35% PB, administrada diariamente às 8, 12 e 17 horas. Ao final de 45 dias de cultivo, a sobrevivência variou de 45 a 84%, entre os tratamentos com 300% e 100% de substrato, respectivamente. O peso final dos camarões, quando relacionado ao comprimento orbital e ao tempo de cultivo, não teve diferença estatística entre as PAS (P>0.05). Na relação entre comprimento com o tempo de cultivo, as PAS de 0, 200 e 250% diferenciaram de 300%. Conclui-se que o uso de substrato artificial favorece as variáveis ganho de peso, fator de conversão alimentar, taxa de crescimento diária e sobrevivência quando se utiliza PAS entre 87,8 e 166,7%.

ABSTRACT

The use of artificial substrates in aquaculture has been used to provide the increase of culture area and natural food, improving the water quality of shrimp performance. In order to maximize the survival, feed conversion and final weight of marine shrimp Litopenaeus vannamei, cultured in oligohaline water (>0.5%) and in heterotrophic system, were evaluated the effect of adding screens as artificial substrate. Post-larvae with 10 days (PL₁₀) were acclimated from 34% to 0.5%, during 12 days. After of the acclimatization process, the postlarvae (PL₂₂) were reared to obtain 0.3±0.1g of weight and then they were transferred to 18 fiberglass tanks (800 L of net volume) and stocked with 150 PL/tanque. The substrate percentage addition (SPA), represents 100, 150, 200, 250 and 300% of bottom area (1m²) and the control "0" SPA, it was evaluated in completely randomized design, with three replicates. During the culture, were used a 40% crude protein (CP) ration during the first 30 days, and another with 35% CP during the a 15 days, offered daily at 8, 12 and 17 hrs. After 45 days of culture the survival ranged from 45 to 84%, between treatments with 300% and 100% of substrate, respectively. The shrimp final weight, when related to the length orbit and the time of culture, did not present statistical difference between the SPA (P>0.05). In the ratio length and culture time, the treatment 300% was statistical different in the SPA-0, 200 and 250%. In conclusion, the use of artificial substrate increased the variables weight gain, feed conversion ratio, growth rate and survival when using SPA between 87.8 and 166.7%.

SUMÁRIO

D.
Resumo
Abstract
Lista de tabelas
Lista de figuras
1. INTRODUÇÃO11
2. REVISÃO DE LITERATURA13
2.1. Aqüicultura e carcinicultura13
2.2. Litopenaeus vannamei e seu cultivo em água de baixa salinidade14
2.3. Sistema heterotrófico16
2.4. Flocos bacterianos18
2.5. Substratos artificiais20
3. ARTIGO CIENTÍFICO – Utilização de substrato artificial em cultivo do camarão marinho
Litopenaeus vannamei em água oligohalina e meio heterotrófico22
RESUMO24
INTRODUÇÃO26
MATERIAL E MÉTODOS28
RESULTADOS33
DISCUSSÃO35
CONCLUSÃO39
AGRADECIMENTOS39
REFERÊNCIAS40
ANEXOS46
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS51

6. ANEXO------55

6.1. Normas da revista ------55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Variáveis de qualidade da água de cultivo do <i>L. vannamei</i> quando em águ oligohalinas e meio heterotrófico (médias ± erro padrão, amplitude ent parênteses)	tre
Tabela 2 - Relação do peso com o comprimento do camarão <i>L. vannamei</i> em me heterotrófico durante 45 dias de cultivo	
Tabela 3 - Relação do peso em função do tempo de cultivo do camarão <i>L. vannamei</i> e meio heterotrófico durante 45 dias de cultivo	
Tabela 4 - Relação do comprimento em função do tempo de cultivo do camarão vannamei em meio heterotrófico durante 45 dias de cultivo	

LISTA DE FIGURAS

Figura	1-	Influência da porcentagem de adição de substrato no ganho de peso do camarão <i>L. vannamei</i> cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias47
Figura	2-	Influência da porcentagem de adição de substrato na sobrevivência do camarão <i>L. vannamei</i> cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias48
Figura	3-	Influência da porcentagem de adição de substrato no fator de conversão alimentar do camarão <i>L. vannamei</i> cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias48
Figura	4-	Influência da porcentagem de adição de substrato na taxa de crescimento do camarão <i>L. vannamei</i> cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias49
Figura	5-	Desenvolvimento das bactérias heterotróficas e autotróficas nas águas de cultivo do <i>L. vannamei</i> 49

1. INTRODUÇÃO

A aqüicultura vem assumindo uma importância cada vez maior em todo o mundo, por ser uma atividade econômica, altamente relevante e, principalmente, por representar uma alternativa para mitigar a sobreexplotação das espécies dos recursos naturais aquáticos.

Em 2006, a produção aqüícola ultrapassou 66 milhões de toneladas atingindo um valor superior a US\$ 86 bilhões (FAO, 2008). No Brasil, o cultivo experimental do *Litopenaeus vannamei* iniciou na década de 70, mas só a partir de 1996 esse agronegócio foi considerado tecnicamente viável pelo setor privado e teve seu crescimento de forma exponencial.

O *L. vannamei* suporta rápidas e grandes flutuações de salinidade e, em várias partes do mundo, pode ser encontrado em águas hipersalinas (> 40°/_{oo} (partes por mil)) e até mesmo oligohalinas (0,5 – 3,0°/_{oo}). Devido a essa grande capacidade de adaptação é uma espécie reconhecida como potente osmorreguladora (VALENÇA, 2001) sendo, portanto, classificada como eurihalina.

Alguns estados brasileiros apresentam dificuldades em expandir a carcinicultura devido a algumas restrições como preservação das áreas de manguezais, pequenos perímetros costeiros e alto custo das áreas litorâneas. Desta forma, como estratégia para a expansão desse agronegócio ter-se-ia a utilização de águas interioranas, desde as classificadas como doce (<0,5%)_{oo}) até as águas ligeiramente salgadas (oligohalinas), existente em abundância no agreste e no sertão nordestino.

O sistema mais utilizado para o cultivo de camarão no Brasil é o autotrófico, baseado no sistema semi-intensivo, com fertilização, troca regular da água dos viveiros e oferta de ração. Com o intuito de produzir camarões com uma maior biossegurança e diminuição na emissão de efluentes, o sistema heterotrófico vem sendo objeto de estudo em algumas fazendas de camarão (Belize, Taiwan, etc). No entanto, é imprescindível a utilização de técnicas e o domínio da comunidade bacteriana através do balanceamento da relação

Carbono/Nitrogênio (C/N). Essas bactérias são responsáveis pela redução dos compostos orgânicos da água gerados pelas excretas e sobras de ração dos camarões, além de possibilitarem regimes de cultivo sem troca de água, apesar das altas densidades de estocagem utilizadas (>150 camarões/m²).

Nos sistemas com altas densidades de estocagem, os substratos artificiais são utilizados como forma de aumentar a área útil dos viveiros, disponibilizando acomodação para os camarões (MODESTO e MAIA, 2004; MOSS e MOSS, 2004), como substrato adicional para bactérias nitrificantes (MOSS e MOSS, 2004) e colonização com microbiota natural, o que pode aumentar a disponibilidade de alimento natural, fornecendo uma dieta adequada ao camarão (STUART et al., 2005).

Apesar do cultivo do *L. vannamei* em água oligohalina ser uma realidade em algumas fazendas, pouco se conhece das técnicas a serem adotadas, nos cultivos em meio heterotrófico dessa espécie em água oligohalina e com a utilização de substratos artificiais. Desta forma, objetivou-se avaliar a influência da porcentagem de adição de substrato (0, 100, 150, 200, 250 e 300% de aumento da área útil do tanque) na sobrevivência, fator de conversão alimentar e peso final do *L. vannamei*.

2. REVISAO DE LITERATURA

2.1. Aqüicultura e carcinicultura

A importância da aqüicultura como atividade produtora de alimentos, especialmente com a finalidade de suprir o déficit da pesca extrativa, confirma um crescimento contínuo nos últimos anos (MAGALHÃES, 2004). Em 2006, a produção de organismos aquáticos ultrapassou 66 milhões de toneladas, atingindo um valor superior a US\$ 86 bilhões, segundo dados publicados pela Food and Agriculture Organization (FAO, 2008). A atual taxa de crescimento da aqüicultura mundial, para esses últimos 10 anos, foi de 3 milhões de toneladas de pescado/ano. No Brasil, essa taxa foi de 18,40 mil toneladas (FAO, 2008).

Em termos mundiais, a carcinicultura marinha é a atividade da aqüicultura que mais tem se desenvolvido, com uma produção que atingiu 3,16 milhões de toneladas no ano de 2006, correspondendo a um incremento de 16,5% em relação a 2005 (FAO, 2008). Países da Ásia, América Latina e recentemente da África vêm contribuindo para o crescimento do setor.

No Brasil, a carcinicultura é representada pelo cultivo de camarões peneídeos (STREIT et al., 2002). O cultivo de camarões marinhos em escala comercial no Brasil teve início na década de 70, com a introdução da espécie exótica *Marsupenaeus japonicus* e, posteriormente, o cultivo das espécies nativas *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus subtilis* e *Litopenaeus schmitti*. Contudo, apenas na década de 90 utilizando-se a espécie exótica *L. vannamei*, a indústria brasileira começou a ter representatividade na produção mundial de crustáceos (BARBIERI Jr. e OSTRENSKY NETO, 2002).

A adoção do *L. vannamei* como espécie alvo da carcinicultura brasileira foi decorrente do seu alto grau de rusticidade, rentabilidade, crescimento, conversão alimentar e grande aceitação no mercado internacional que, aliados às condições edafo-climáticas das diversas macro-regiões do Brasil e, de forma especial da Região Nordeste, possibilitaram o desenvolvimento do setor (ANDREATTA e BELTRAME, 2004).

O recorde de produção foi em 2003, chegando a 90.190 toneladas e uma produtividade média de 6.084 kg/ha/ano, destacando-se como a maior entre os países produtores (ROCHA, 2005). No entanto, a partir de 2004 a atividade enfrentou problemas de enfermidades que afetaram seu desempenho, provocando uma redução de aproximadamente 30% nos valores produzidos entre 2003 e 2005. Segundo a FAO (2008), a produção chegou em 2005 a 63.134 toneladas, tendo um pequeno aumento em 2006, chegando a 65.000 toneladas.

2.2. Litopenaeus vannamei e seu cultivo em água de baixa salinidade

A espécie *L. vannamei* não ocorre naturalmente na costa brasileira, é restrita ao Oceano Pacífico e sua distribuição vai do México (Província de Sonora) ao Peru (Sul de Tumbes) (BENZIE, 2000 e GUSMÃO, 2001 apud FREITAS, 2003). Com a evolução do *L. vannamei* no Equador, o Brasil adotou a espécie nos anos 90 e a carcinicultura chegou a um bom estágio de desenvolvimento no país. Em pouco tempo, o camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) destacou-se devido a sua capacidade de adaptação às mais variadas condições de cultivo, altas taxas de crescimento e sobrevivência, boa produtividade e grande aceitação no mercado, transformando-se na principal espécie cultivada comercialmente no país (BARBIERI Jr. e OSTRENSKY NETO, 2002).

Os potenciais impactos ambientais negativos de fazendas comerciais de camarão em zonas costeiras estuarinas têm gerado vários debates nestes últimos anos. A aqüicultura usando água de baixa salinidade, mostrou-se como uma vantajosa solução para o cultivo de várias espécies e servindo como alternativa à aqüicultura tradicional costeira (GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2007).

O *L. vannamei* já nasce com uma tolerância à salinidade da água (NUNES, 2001). Essa espécie é encontrada em águas com salinidade entre 1,0 a 40‰ (DAVIS, et al. 2004). Apesar de alguns camarões peneídeos serem classificados como estenohalinos, suportando

apenas uma estreita faixa de variação na salinidade, outras espécies como o *L. vannamei* e o *Penaeus monodon*, são consideradas eurihalinas, tolerando rápidas e amplas flutuações na salinidade de até 10‰ (NUNES, 2001). O *L. vannamei* por ser uma espécie eurihalina, vive bem em salinidades que variam de 5 a 55‰ (ANDRADE et al., 1999). Embora uma espécie possa ser encontrada em salinidade extremamente baixa ou alta, não significa que possa atingir máximo crescimento e sobrevivência em tais ambientes (LARAMORE et al., 2001).

Diversos autores já aclimataram o *L. vannamei* para a água doce, na fase equivalente ao berçário e obtiveram excelentes resultados (ALBUQUERQUE, 2005; OLIVEIRA, 2004). Segundo McGraw et al. (2002) a capacidade do camarão de tolerar mudanças na salinidade parece ser influenciada pela idade, espécie e fatores ambientais. Para aclimatar em salinidades menores que 4‰, necessita-se um período de 24 a 48h, a fim de evitar a mortalidade por estresse de aclimatação, que pode acontecer em até dois dias após o processo, levando a confundir a causa da morte (DAVIS et al., 2004). Tamoyo (1998) aclimatou, com sucesso, pós-larvas (PL) desse camarão para o cultivo com salinidade zero. Mendes et al. (2006) adaptaram juvenis da espécie em água doce, obtendo taxa de sobrevivência equivalente a 77,74 e 98,04%.

Segundo Saoud et al. (2003), pós-larvas de peneídeos não são tolerantes a grandes flutuações de salinidade quando muito jovens e parecem perder a tolerância quando juvenis. Segundo o mesmo autor, PL₁₅ e PL₂₀ de *L. vannamei* toleraram águas de baixa salinidade melhor do que PL₁₀. Em geral, PL₁₀ pode ser aclimatada a 4‰ com boa sobrevivência. No entanto, somente pós-larvas com mais de 15 dias (PL₁₅) podem ser aclimatadas a menores salinidades (DAVIS et al., 2004).

Ao contrário da água do mar, as constituições iônicas da água doce variam consideravelmente. Enquanto algumas águas podem ser apropriadas para o cultivo de camarão, algumas podem comprometer a sobrevivência ou crescimento (SAOUD et al.,

2003). Segundo Davis et al. (2004), a água é considerada adequada para o cultivo de camarões se a salinidade for acima de 0,5‰, os níveis de Na⁺, K⁺, Cl⁻ forem semelhantes aos níveis da água salgada diluída para a mesma salinidade, se tiverem uma elevada concentração de Ca²⁺ e se a alcalinidade for superior a 75 mg/L¹ de CaCO₃.

2.3. Sistema heterotrófico

Segundo Silva e Souza (1998), organismos heterotróficos são aqueles que não possuem a capacidade de sintetizar seu próprio alimento, ou seja, necessitam da presença de matéria orgânica para sua nutrição. Segundo Michaud et al. (2006) a população bacteriana heterotrófica é suspeita de ter um efeito positivo contra bactérias patogênicas.

Os cultivos super-intensivos de organismos aquáticos, sem renovação de água e com biota predominantemente aeróbica e heterotrófica (ou em inglês, Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems - ZEAH) vêm surgindo como um novo paradigma na aqüicultura mundial (EMERENCIANO et al., 2007). Sistemas com baixa troca de água não só irão reduzir os custos com utilização de água e de bombeamento, como também reduzir os custos com alimentação, já que a produtividade natural é alta (GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2007).

O cultivo de camarões em sistemas heterotróficos, super-intensivo e utilizando troca zero de água já foi relatado por alguns autores. Alguns pesquisadores têm estimulado o uso deste tipo de sistema fechado, principalmente induzindo a produção de camarões em meios heterotróficos, como forma de obter altas produtividades (MOSS, 2002; BURFORD et al., 2003; BURFORD et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006b).

Em 2005, experimentos comerciais foram iniciados para validar o sistema de cultivo de engorda super-intensivo adotado por alguns países, como Belize e Tailândia. Este sistema pode ser operado sob altas densidades (>150 camarões/m²), viveiros revestidos (manta de

PVC), uso de aeração e renovação zero de água, podendo gerar produtividades superiores a 18t/ha/ciclo (NUNES, 2005).

Segundo McIntosh (2001), densidades de estocagem inferiores a 100 camarões/m² não favorecem as condições heterotróficas, sugerindo que densidades mais altas podem acelerar o processo de estabilização bacteriana. Para estimular a formação do meio heterotrófico, o ambiente de cultivo deve ser fortemente oxigenado e fertilizado com fontes ricas em carbono, como por exemplo, o melaço de cana-de-açúcar (WASIELESKY, 2006b). Atualmente o melaço vem sendo utilizado como promotor de crescimento bacteriano em viveiros de cultivo de camarão no Brasil e no mundo. No entanto, sua eficiência é ainda muito pouco conhecida (WASIELESKY et al., 2006b).

No meio heterotrófico utiliza-se uma relação carbono/nitrogênio (C/N) entre 14 e 30/1 para que ocorra a formação do floco bacteriano (WASIELESKY, 2006b). Para obter esta relação faz-se necessário adicionar à água de cultivo um fertilizante orgânico como, por exemplo, o melaço de cana-de-açúcar, que tem a capacidade de elevar esta relação. O uso de fertilizantes inorgânicos (Nitrogênio-N e Fósforo-P) promove o incremento das algas e os fertilizantes orgânicos suplementam as fontes de carbono, beneficiando o crescimento de bactérias e organismos bentônicos e também estimulando o crescimento do fitoplâncton (BOYD, 1982; 2001).

Em estudo sobre multi-espécies no biofilme (OHASHI et al. apud ZHU e CHEN, 2001) relataram que a porcentagem de amônia e nitrito diminuíram com o aumento da relação (C/N) e as bactérias heterotróficas se tornaram mais dominantes em relações mais elevadas. Em altas relações de C/N, bactérias heterotróficas podem competir pelo oxigênio disponível e espaço no biofilme. Somente quando esta relação é relativamente baixa as bactérias autotróficas são capazes de competir com bactérias heterotróficas. Contudo, a baixa relação

C/N afetando a taxa de nitrificação, varia entre sistemas e está relacionada a características do carbono orgânico disponível (MICHAUD et al., 2006).

De acordo com Wasielesky et al. (2006a), o pH abaixo de 7,0 afeta o crescimento do *L. vannamei* em meio heterotrófico. Para manter níveis ótimos de pH para o desenvolvimento de bactérias em cultivo intensivos de camarão em água com baixa salinidade, geralmente é necessário aplicar tampões alcalinos, tais como bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio (BOLETIN NICOVITA, acesso em 2008).

As bactérias redutoras de matéria orgânica são eficientes decompositoras em níveis curtos de pH, sendo ótimo entre 7,0 e 8,0, entretanto não são eficientes em níveis maiores. Em pH abaixo de 6,8, as bactérias nitrificantes são inibidas e não removem os dejetos nitrogenados (BOLETIN NICOVITA, acesso em 2008). A desnitrificação heterotrófica influencia positivamente o pH da água (BOLEY et al., 2000).

2.4. Flocos bacterianos

De acordo com a teoria do esqueleto filamentoso (JENKINS et al., 1993) os flocos são formados por bactérias filamentosas que irão gerar sua estrutura e pelas bactérias zoogleais, as quais são produtoras de exopolímeros que servem para uní-las, formando o floco bacteriano. Os flocos ou agregados microbianos são uma mistura complexa composta por bactérias, protozoários (BRATVOLD e BROWDY, 2001; EMERENCIANO et al., 2007), algas, fungos, rotíferos, nematóides (BRATVOLD e BROWDY, 2001), microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de organismos mortos, invertebrados, entre outros (EMERENCIANO et al., 2007).

Utilizando um correto dimensionamento da aeração, visando a ressuspensão do material particulado, macro agregados ou "flocos" são formados durante o ciclo de produção. Uma vez formados, servem de suplemento alimentar aos animais e assimilam compostos nitrogenados presentes na água, portanto, gerando condições para a mesma ser reutilizada por

diversos ciclos (EMERENCIANO et al., 2007). Wasielesky et al. (2006b) afirmaram que os microrganismos presentes no floco assimilam os compostos nitrogenados originados dos restos de alimento em decomposição e das excretas dos animais, as quais são a principal fonte de nitrogênio para a formação dos flocos.

A proteína (biomassa microbiana) obtida com a conversão de detritos orgânicos é consumida regularmente pelos camarões durante o cultivo (BARBIERI Jr. e OSTRENSKY NETO, 2002; CUZON, 2004). A retenção de proteína pelos animais é dependente de um número de fatores, incluindo a ingestão de alimentos, nível de proteína nos alimentos, balanço de aminoácidos, bem como os fatores ambientais (GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2007). Além de proteína, os flocos contêm um número importante de macro (cálcio, fósforo, potássio e magnésio) e micro-nutrientes (cobre, ferro, manganês e zinco), assim como amino-ácidos e ácidos graxos (MOSS et al., 2006).

A formação do biofilme bacteriano, em substrato, pode ser uma importante estratégia de baixo custo para impulsionar a produção de peixes (RAMESH et al., 1999) e também de camarões, visto que mais de 29% do alimento consumido pelo *L. vannamei* pode ser originado de flocos bacterianos contidos no meio heterotrófico (BURFORD et al., 2004). Assim, o cultivo super-intensivo, desta espécie, em meio heterotrófico, em que a proteína microbiana efetivamente consumida reduz a demanda de proteína na ração, melhora significativamente as taxas de conversão alimentar, reduzindo os custos com rações (WASIELESKY et al., 2006b).

Normalmente, não mais do que 25 a 30% de nitrogênio e fósforo aplicados nos viveiros via fertilizantes e ração é recuperada no peixe ou camarão (BOYD, 2003). Burford et al. (2004) afirmaram que entre 18 e 29% do nitrogênio consumido pelo *L. vannamei* pode ser originado de flocos bacterianos contidos no meio heterotrófico, enquanto McIntosh (2000) reporta níveis de retenção de até 37%.

Wasielesky et al. (2006a) avaliaram o efeito da produtividade natural em meio heterotrófico, durante o cultivo de *L. vannamei*, tendo como resultado a influência positiva do meio sobre o ganho de peso, consumo de ração, crescimento, conversão alimentar e sobrevivência. Em meio heterotrófico com 300 cam/m², a taxa de crescimento foi de 47% maior que o cultivo em meio com água clara, mostrando a contribuição de flocos microbianos.

Burford et al. (2004) ao analisarem a utilização da matéria floculada para nutrição do camarão, no sistema super-intensivo, obtiveram taxa de sobrevivência entre 91 e 99%. Burford et al. (2003) utilizaram cinco tanques com altas densidades (120 cam/m²) sem troca de água e com aeração durante três semanas, tendo como resultado altas concentrações de nutrientes, os quais promoveram o crescimento de bactérias, fitoplâncton (principalmente flagelados autotróficos) e protozoário. Cerca de 40% das bactérias foram associadas com matéria floculada.

2.5. Substratos artificiais

A utilização de substratos artificiais na carcinicultura tem como objetivo proporcionar: (1) maior área útil no viveiro, diminuindo as perdas por canibalismo e disponibilizando uma maior superfície para o crescimento das algas periféricas (MODESTO e MAIA, 2004); (2) acomodação para os camarões (MODESTO e MAIA, 2004; MOSS e MOSS, 2004); (3) substrato adicional para bactérias nitrificantes (MOSS e MOSS, 2004); e (4) colonização com biota natural, o que pode aumentar a disponibilidade de alimento natural fornecendo uma dieta adequada ao camarão (STUART et al., 2005).

Ressalta-se que os substratos artificiais nada mais são do que uma cortina ou mantas colocadas no interior do viveiro, em posição que não dificulte o manejo (BARBIERI Jr. e OSTRENSKY NETO, 2002). O biofilme aderido às telas pode ser definido como um

consórcio microbiano associado à substâncias poliméricas extracelulares anexado a superfícies submersas (THOMPSON et al. 2002).

Carvalho et al. (2004) ao compararem a utilização de substrato artificial com substrato natural, verificaram que o substrato artificial também foi apropriado para a colonização por macroinvertebrados, tendo similaridade na estrutura da comunidade.

Os organismos presentes nos substratos aceleram a decomposição da matéria orgânica presente na água e removem os metabólitos tóxicos (amônia, nitrito, gás carbônico) existentes no meio, garantindo melhor qualidade da água e reduzindo a necessidade de renovação (BARBIERI Jr. e OSTRENSKY NETO, 2002). Segundo Ballester et al. (2004), o biofilme aderido aos substratos, utilizados em seu experimento, era formado por bactérias heterotróficas, cianobactérias filamentosas, ciliados, nematódeos e diatomáceas. Estes autores observaram que os camarões tiveram maior crescimento e maior sobrevivência quando cultivados na presença destes substratos artificiais, demonstrando que a utilização de substratos artificiais pode diminuir os efeitos negativos causados pelo aumento da densidade de estocagem.

Segundo Moss e Moss (2004), a densidade pode ser aumentada sem comprometer significativamente o crescimento do *L. vannamei* quando é utilizado substrato artificial. Os mesmos autores verificaram um aumento significativo no crescimento e/ou sobrevivência de camarões juvenis de *L. vannamei* através da adição de substrato artificial durante a produção intensiva. Sendo assim, o substrato artificial em sistemas berçário, pode ser utilizado para mitigar os potenciais efeitos negativos da alta densidade sobre o crescimento de *L. vannamei*.

3. ARTIGO CIENTÍFICO

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa dissertação é apresentada no artigo intitulado "UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ARTIFICIAL EM CULTIVOS DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*, EM ÁGUA OLIGOHALINA E MEIO HETEROTRÓFICO" (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

"UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ARTIFICIAL EM CULTIVOS DO CAMARÃO MARINHO Litopenaeus vannamei, EM ÁGUA OLIGOHALINA E MEIO HETEROTRÓFICO"

Manuscrito a ser submetido à revista

Aquaculture ISSN: 0044-8486

- Utilização de substrato artificial em cultivos do camarão marinho Litopenaeus 1
- 2 vannamei, em água oligohalina e meio heterotrófico

3

- Sâmia Régia Rocha Monteiro^{1,2*}; Yuri Vinicius de Andrade Lopes²; Dijaci Araújo 4
- Ferreira^{1,2}; Paulo de Paula Mendes^{1,2}; Emiko Shinozaki Mendes³ 5

6

- ¹Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura; ²Deptartamento de 7
- Pesca e Aquicultura; ³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal 8
- Rural de Pernambuco Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, 9
- Recife, Pernambuco, Brasil. *Autor para correspondência. Tel: 081-3320-6507. E-mail: 10
- samiarrm@gmail.com 11

12

13

25

RESUMO

Embora a utilização de substratos artificiais seja uma técnica utilizada em várias 14 15 carciniculturas do mundo, estudos complementares são necessários para validar sua eficiência nos novos sistemas de cultivo. No presente trabalho, avaliou-se a 16 porcentagem de adição de substrato (PAS), em relação ao aumento da área útil do fundo 17 dos tanques de 0 (controle), 100, 150, 200, 250 e 300% no cultivo heterotrófico do 18 camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, em água oligohalina. As PAS foram avaliadas 19 em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Pós-larvas com 10 dias 20 (PL₁₀) foram aclimatadas à água oligohalina com 0,5 ‰ (partes por mil) e ao final do 21 processo (PL₂₂) foram cultivadas até atingirem o peso de 0,3+0,1g. Posteriormente, 22 foram estocadas em 18 tanques de fibra de vidro (1,0 m² e 800 L de volume útil) a 150 23 PL tanque⁻¹. Ao final de 45 dias de cultivo observou-se que a maior sobrevivência 24 (84%) e a menor (45%) ocorreram nos tratamentos com PAS de 100 e 300%,

26	respectivamente. Ao relacionar o peso final dos camarões com o comprimento orbital e
27	o tempo de cultivo, verificou-se que não houve diferença estatística entre as PAS
28	(P≥0,05). As relações entre os comprimentos e os tempos de cultivo com as PAS de 0
29	200 e 250% diferenciaram de 300%. Concluiu-se que o uso de substrato artificia
30	favorece os parâmetros zootécnicos (fator de conversão alimentar, taxa de crescimento
31	diária, ganho de peso e sobrevivência) do L. vannamei ao utilizarem as porcentagens de
32	adição de substrato entre 88 e 167%.
33	
34	Palavras chave: Substrato, oligohalina, heterotrófico, Litopenaeus vannamei.
35	
36	
37	
38	
39	
10	
4 1	
12	
13	
14	
1 5	
16	
1 7	
18	
19	
50	

INTRODUÇÃO

A produção de organismos aquáticos em 2006, ultrapassou 66 milhões de toneladas e atingiu valores superiores a US\$ 86 bilhões, segundo dados publicados pela Food and Agriculture Organization (FAO, 2008). Desse total, 6,3% foram gerados nos estuários, 44,8% nas águas interioranas e 48,9% nas águas salgadas. A aqüicultura, em águas interioranas tem se revelado como uma vantajosa solução para o cultivo de várias espécies além de servir como alternativa a aqüicultura tradicional costeira (González-Félix et al., 2007). Entre os vários setores da aqüicultura destaca-se o cultivo de camarões, seja de ambiente marinho ou de águas interiores.

Das espécies utilizadas em cultivo, o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* tem se destacado mundialmente ao ser produzido em todos os ambientes e liderar a produção com 67,77% dos peneídeos cultivados. Essa espécie já nasce com tolerância à salinidade da água (Nunes, 2001) e são encontrados em águas de 1,0 a 40,0 % (Davis, et al. 2004). Apesar de alguns camarões peneídeos serem classificados como estenohalinos, por suportarem apenas uma estreita faixa de variação da salinidade, as espécies *L. vannamei* e *Penaeus monodon* são classificadas como eurihalinas, por tolerarem rápidas e grandes flutuações da salinidade (Nunes, 2001).

Os potenciais impactos negativos das fazendas comerciais de camarão que são alocadas nas zonas costeiras, têm gerado muitos debates nestes últimos anos e como alternativa de mitigar esses problemas, os cultivos super-intensivos, sem renovação de água e com biota predominantemente aeróbica e heterotrófica (ou Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems-"ZEAH") vêm surgindo como um novo paradigma na aqüicultura mundial (Emerenciano et al., 2007). Sistemas com baixa troca de água não só reduzem os custos do uso da água e de bombeamento, como também

reduzem os custos com alimentação, já que a produtividade natural é alta (González-Félix et al., 2007).

Para estimular a formação do meio heterotrófico, o ambiente de cultivo deve ser fortemente oxigenado e fertilizado com fontes ricas em carbono, como exemplo, o melaço de cana-de-açúcar (Wasielesky, 2006). Através de um correto dimensionamento da aeração, visando a ressuspensão do material particulado, macro-agregados ou flocos são estimulados a formação durante o ciclo de produção, sendo formados de microalgas, fezes, exoesqueletos, bactérias, entre outros. Uma vez formados, servem de suplemento alimentar aos animais (Emerenciano et al., 2007). Barbieri Jr. e Ostrensky Neto (2002) destacam ainda que os organismos presentes nos substratos aceleram a decomposição da matéria orgânica presente na água e removem os metabólitos tóxicos (amônia, nitrito, gás carbônico) existentes no meio, garantindo melhor qualidade da água e reduzindo a necessidade de renovação. Ressalta-se que a proteína efetivamente consumida através do floco reduz a demanda de proteína da ração, potencializando a conversão alimentar (Wasielesky et al., 2006).

Nos sistemas super-intensivos os substratos artificiais são utilizados como forma de aumentar a área útil dos viveiros, disponibilizar acomodações para os camarões, favorecer substratos adicionais para bactérias nitrificantes (Moss e Moss, 2004) e aumentar a superfície para colonização da biota natural, podendo aumentar a disponibilidade do alimento natural e fornecer uma dieta adequada ao camarão (Stuart et al., 2005).

Desta forma, objetivou-se avaliar a influência da adição de substratos artificiais em cultivos do *L. vannamei* em água oligohalina e em meio heterotrófico.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivos experimentais do *L. vannamei* foram realizados na Estação de Aqüicultura Continental Professor Johei Koike da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de janeiro a abril de 2008. Foram realizados em duas etapas, em que a primeira foi destinada ao processo de aclimatação e a segunda a fase de engorda.

Na fase de aclimatação, pós-larvas (PL) do camarão *L. vannamei* foram adquiridas de uma larvicultura comercial, com 10 dias (PL₁₀). Após sua aquisição, foram transportadas em sacos plásticos, para o laboratório e acomodadas em um tanque de 1000 L onde ocorreu o processo de aclimatação. As pós-larvas foram estocadas à densidades de 10 PL L⁻¹ e no primeiro dia não se alterou a salinidade da água (34 ‰). Do segundo ao décimo segundo dia a salinidade foi reduzida diariamente até se obter 0,5 ‰. O volume inicial da água do tanque de aclimatação foi de 100 L e para redução da salinidade inicial, adicionou-se água doce diariamente, o equivalente a 100% do volume existente. Após o preenchimento do volume total (800 L), retirou-se diariamente 50% desse volume, com reposição com água doce.

Durante o processo de aclimatação, foram administradas biomassa de artêmia e ração com 40% de proteína bruta (PB). A biomassa e a ração foram ofertadas alternadamente seis vezes ao dia com intervalos de duas horas, com início às 8 e término às 18 h. Diariamente foram monitorados o nível da água, a salinidade, o oxigênio dissolvido (OD), o pH e a temperatura.

Ao término da primeira etapa, os camarões foram cultivados até se obter indivíduos com 0,3±0,1 g, sendo posteriormente transferidos para os tanques experimentais (18 tanques de 1000 L). Cada tanque foi abastecido com 800 L de água,

filtrada em malha de 185 μm e salinidade de 0,5 ‰. O sistema de aeração da unidade experimental foi realizado por compressores radiais e, em cada tanque, utilizaram-se 5 pontos de saída de ar com pedra porosa. As pós-larvas foram estocadas à densidade de 150 PL m⁻² e cultivadas durante 45 dias.

Os substratos consistiram de telas de polietileno com malha de 1,0 mm e dimensões de 0,63 m x 0,40 m. As telas foram fixadas na posição vertical, distanciadas de 10 cm do fundo do tanque e para sua fixação foram utilizados quatro tijolos maciços. A área de fundo de cada tanque foi de 1,0 m², portanto foram adicionadas 0, 2, 3, 4, 5 e 6 telas que representaram, respectivamente, a porcentagem de adição de substrato (PAS) de 0, 100, 150, 200, 250 e 300%. Para cada tela foi considerada uma adição de área de 0,5 m² (2 lados x 0,63m x 0,40m). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (PAS) e três repetições.

Durante a fase experimental utilizou-se uma dieta à base de ração peletizada comercial, com 40% PB, durante os primeiros 30 dias. Posteriormente, utilizou-se ração com 35% PB, que foram ministradas às 8 h, 12 h e 17 h, em um comedouro com 14 cm de diâmetro. O volume de ração ministrado, diariamente, foi ajustado de acordo com a sobra da ração ofertada no dia anterior, as quais foram retiradas, secas em estufa e quantificadas.

Realizou-se fertilização em todos os tanques, cinco dias antes do povoamento, utilizando-se fertilizantes comerciais, nas proporções de 2,0 mg L⁻¹ de nitrogênio, 0,2 mg L⁻¹ de fósforo e 1,0 mg L⁻¹ de silício, conforme recomendado por Samocha et al. (2007).

Durante o cultivo não foi realizada troca de água, apenas reposição devido às perdas por evaporação. Em se tratando de um sistema de cultivo em água oligohalina, foi realizado, quinzenalmente, o monitoramento da alcalinidade (Felfoldy, 1987),

dureza total (Felfoldy, 1987), as concentrações de amônia, nitrito e nitrato foram determinadas por colorimetria utilizando kits de reagente Policontrol. A transparência foi monitorada diariamente às 12 h, utilizando disco de Secchi. Semanalmente, foi efetuada análise bacteriológica da água de todos os tanques, concernente a contagem de bactérias autotróficas e heterotróficas e coliformes totais.

Como aporte de carbono foi utilizado melaço de cana-de-açúcar e as quantidades adicionadas foram calculadas com base na relação de 20/1 de C/N. A quantidade de melaço ($\Delta_{Melaço}$) necessária para atender essa demanda foi estimada com base na quantidade de nitrogênio da ração, convertida em amônia (ΔN) e no conteúdo de carbono do melaço (%C), de acordo com equações adaptadas de Avnimelech (1999) Hari et al. (2004, 2006) e Samocha et al. (2007), conforme a equação 1.

$$\Delta_{\text{Melaço}} = [\Delta N \cdot (C/N)] \cdot \%C^{-1}$$
 (Eq. 1)

Assumiu-se que o fluxo de amônia na água, diretamente da excreção ou indiretamente da degradação microbiana dos resíduos de nitrogênio orgânico, foi de aproximadamente 50% do nitrogênio da ração (Avnimelech, 1999), como apresentado na equação 2.

$$\Delta N = Q_{Rac\tilde{a}o} \cdot \% N_{Rac\tilde{a}o} \cdot \% N_{Excrec\tilde{a}o}$$
 (Eq. 2)

Em que: $Q_{Ração}$ - quantidade de ração ofertada diariamente; $%N_{Ração}$ - quantidade de nitrogênio inserido no sistema (% Proteína Bruta . $6,25^{-1}$) e $%N_{Excreção}$ - quantidade de nitrogênio excretado no sistema.

O percentual de carbono (% C) no melaço foi estimado em cerca de 30% em relação à matéria seca. Portanto, ao utilizar ração comercial contendo 35% de proteína (5,6% N) e que 50% do nitrogênio da ração são excretados (%N_{Excreção}), obteve-se a equação 3.

175
$$\Delta_{Melaço} = [(Q_{Ração} . \%N_{Ração} . \%N_{Excreção}) . (C/N)] . \%C^{-1}$$

176
$$\Delta_{Melaço} = [(Q_{Ração} . 0,056 . 0,5) . (C/N)] . 0,30^{-1}$$
177
$$\Delta_{Melaco} = Q_{Racão} . 0,0933 . (C/N)$$
(Eq. 3)

Quinzenalmente, foram realizadas biometrias para monitorar o crescimento em comprimento (cm) e peso (g) dos camarões. Para a realização das biometrias, foram coletados 10% de camarões de cada tanque, os quais foram medidos, com precisão de ± 1,0 mm, da ponta do telson até o pedúnculo ocular (comprimento orbital), pesados em balança eletrônica (±0,01g) e analisados quanto aos demais dados zootécnicos (repleção intestinal, necrose e muda). Após avaliação, os camarões foram repostos aos seus respectivos tanques. Ao término do experimento, realizou-se a despesca e, paralelamente, a biometria final e a análise de sobrevivência.

Para avaliar o fator de condição dos camarões, quando cultivados com diferentes quantidades de substratos, utilizou-se a relação peso em função do comprimento (Eq. 4). Com base no parâmetro de crescimento da equação, utilizou-se os critérios recomendados por King (1995) para classificar se a relação foi alométrica ou não.

$$W_{i} = \phi L_{i}^{\theta}$$
 (Eq. 4)

191 Em que: W - Peso, θ e Ø - parâmetros de crescimento, L - comprimento, i - i-ésima
192 observação.

Para avaliar a taxa de crescimento diária (β_1) dos camarões utilizou-se a relação do comprimento em função do tempo de cultivo (Eq. 5).

196
$$L_i = \beta_0 + \beta_1 T_i$$
 (Eq. 5)

197 Em que: L - comprimento, β_0 e β_1 - parâmetros do modelo, T - tempo de cultivo, i - i-198 ésima observação.

200 Para avaliar o crescimento em peso em função do tempo de cultivo utilizou-se o 201 seguinte modelo matemático apresentado na (Eq.6).

$$W_{i} = \beta_{0} e^{\beta_{1} T_{i}}$$
 (Eq. 6)

Em que: W – Peso, β_0 e β_1 – parâmetros do modelo, T – tempo de cultivo, e – Base do logaritmo neperiano e i – i-ésima observação.

A taxa de sobrevivência (TS) foi obtida pelo quociente entre o número de camarões ao final do cultivo (N_F) e o número de camarões estocados (N_0) , expressandose da forma representada na equação 7.

208
$$TS = (N_F / N_0)100$$
 (Eq. 7)

Para comparar os modelos de sobrevivência, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), associado ao teste de comparação de médias (Teste de Tukey), ao nível de significância de 5%. Para estimar os parâmetros dos modelos definidos nas equações 4, 5 e 6, utilizou-se o método dos mínimos quadrados. A comparação dos parâmetros dos modelos foi feita com base na estatística "W" definida em Mendes (1999), apresentada na equação 8.

- $W = (n_1 + n_2) Ln[SQres_{(1,2)}/(n_1 + n_2)] n_1 Ln(SQres_{(1)}/n_1) n_2 Ln(SQres_{(2)}/n_2)$ (Eq. 8)
- Em que: W estatística a ser comparada com a distribuição de $\chi^2_{(p-2;\alpha\%)}$, sendo "p" o número de parâmetros do modelo; n_1 e n_2 número de pontos das retas 1 e 2; $SQ_{res(1,2)}$ soma de quadrados do resíduo das retas 1 e 2, quando juntas; $SQ_{res(1)}$, $SQ_{res(2)}$ soma dos quadrados do resíduo das retas 1 e 2, respectivamente.
- Todos os cálculos foram realizados utilizando-se o programa computacional SysEapro (V.1).

RESULTADOS

Ao cultivar o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* durante 45 dias em água oligohalina e meio heterotrófico, verificou-se que a temperatura, salinidade e transparência, diferenciaram significativamente (P<0,05) entre as porcentagens de adição de substrato (PAS). Durante esse período a temperatura, o pH, o oxigênio dissolvido, a salinidade e a transparência variaram de 25,2 a 29,8 °C, 6,83 a 7,99, 4,8 a 8,1 mg L⁻¹, 0,4 a 0,6 % e 13 a 67 cm, respectivamente (Tabela 1).

A transparência variou significativamente para o experimento na PAS 300%, a qual apresentou a maior média (51,56 \pm 2,45 cm). Nesse tratamento, verificou-se o valor máximo de 67 cm de transparência por vários dias de cultivo. Nos demais tratamentos, a média variou de 28,26 \pm 1,79 cm a 36,97 \pm 3,09 cm. Nos valores médios da transparência verificou-se que quanto maior a porcentagem de adição de substrato no tanque, maior foi a transparência verificada.

A alcalinidade manteve-se com valores abaixo de 50,0 mg L⁻¹ CaCO₃. No início do cultivo, os valores mínimos de alcalinidade variaram entre 18,0 e 26,0 mg L⁻¹ CaCO₃ nos tratamentos com 100 e 200%, respectivamente. As calagens semanais realizadas propiciaram aumento máximo de 32,0 mg L⁻¹ CaCO₃ no tratamento 250% e 44,0 mg L⁻¹ CaCO₃ no 200%. A amônia, considerada tóxica para o camarão, aumentou durante o cultivo, sendo observado no final do experimento, o valor máximo de 4,09 mg L⁻¹ NH₃ no tratamento com 250% de substrato (Tabela 1). As concentrações de nitrito estiveram dentro dos limites aceitáveis para o cultivo da espécie e o nitrato, que não apresenta elevada toxidade ao camarão, variou de 0,85 a 1,53 mg L⁻¹, entre os tratamentos.

Ao comparar as variáveis ganho de peso (Figura 1), sobrevivência (Figura 2) e fator de conversão alimentar (FCA) (Figura 3), verificou-se uma tendência de

maximização dessas variáveis entre o intervalo de PAS avaliada. Os modelos estatísticos foram ajustados com níveis de probabilidade "P(F)" que variaram <0,05 a 0,01. A tendência do ganho de peso foi de aumentar até o tratamento 150%, em que o valor 133,3% foi estimado o máximo e, posteriormente, uma redução. Quanto à sobrevivência, a maximização estimada ocorreu com a PAS de 87,8%, as PAS de 100 e 300 propiciaram os valores máximos reais (84,22±10,52%) e mínimos de (45,56±19,36%), respectivamente. O FCA variou de 1,42±0,25 a 2,25±0,96 com a adição de substrato de 100 e 300%, respectivamente e sua minimização foi estimada ao utilizar uma PAS de 125%.

Na relação peso em função do comprimento do *L. vannamei*, evidenciou-se uma igualdade dos modelos entre os tratamentos. Com base no parâmetro "θ" verificouse uma tendência de crescimento alométrico negativo (indivíduos magros) com variações de 1,97 (PAS 300%) a 2,11 (PAS 250%). Em decorrência dos valores de R² (89,06 a 92,86) e das probabilidades P(F) da estatística "F", pode-se afirmar que os modelos podem ser aplicáveis para estas condições (Tabela 2).

A relação entre o peso em função do tempo de cultivo (Tabela 3) não diferenciou entre as porcentagens de adição de substrato utilizadas. Os valores de (e^{β_1}), representaram em porcentagem a variação do aumento de peso, mostrando que o tratamento com adição de 200% de substrato propiciou os valores mais altos, com β_1 igual a 0,053. A maximização do modelo, para o ganho de peso final, foi obtida para PAS de 133,3% (Figura 1).

Ocorreu diferença significativa (P<0,05) na relação do comprimento em função do tempo de cultivo do *L. vannamei*, entre as porcentagens de adição de substrato. Entre os modelos avaliados, o linear foi o que gerou as melhores estatísticas (R^2), P(F) e sem pontos discrepantes (out-liers). Para os modelos nesta condição, o parâmetro β_1 refere-se

a taxa de crescimento diário. Ao relacionar essas taxas com a porcentagem de adição de substrato, pode-se estimar o valor (PAS=166,7%) que maximizou a taxa de crescimento diário (Figura 4 e Tabela 4).

A contagem de bactérias heterotróficas e autotróficas, cinco dias antes do povoamento foi de até 1 UFC mL⁻¹ (unidade formadora de colônia mL⁻¹). Com o acréscimo diário de melaço no sistema, foi verificado um aumento na quantidade total de bactérias heterotróficas durante o cultivo (Figura 5). Observou-se que a partir do 10° dia de cultivo a população de bactérias autotróficas manteve-se estável até o final do cultivo.

DISCUSSÃO

Segundo Wyban (1995), o camarão *L. vannamei* pode ser cultivado em temperaturas entre 23 e 30 °C, no entanto 27 °C é considerada a temperatura ótima para cultivo de camarões com peso inferior a 5,0 g (Ponce-Palafox et al., 1997), estando de acordo com os valores encontrados no presente estudo. Considerando que os valores de temperatura durante toda a fase experimental estiveram dentro dessa faixa pode-se admitir que mesmo havendo diferença entre temperaturas nos tratamentos, não pode ser considerada relevante.

Os níveis de oxigênio dissolvido (OD) e pH, de acordo com os critérios de McGraw et al. (2001), foram considerados adequados ao cultivo da espécie. Wyk et al. (1999) relataram que o nível ótimo de OD para o cultivo de organismos aquáticos, incluindo-se camarões, deve ser mantido acima de 5 mg L⁻¹. Cohen et al. (2005) cultivando juvenis de *L. vannamei*, com poucas trocas de água, obtiveram pH entre 6,7 e 8,5 e OD entre 2,1 e 8,3 mg L⁻¹, portanto, abaixo do verificado neste experimento, no qual o mínimo detectado foi de 4,8 mg L⁻¹ (Tabela 1). Os níveis de alcalinidade, mesmo

com as calagens semanais, estiveram abaixo do recomendado por McNevin et al. (2004) e Davis et al. (2004) que é de 75 mg L⁻¹ e por Wyk et al. (1999), que citaram valores maiores que 100 mg L⁻¹ durante todo o cultivo.

O aumento da transparência, com o aumento da porcentagem de área de substrato foi relacionada à redução na circulação de água provocada pelo aumento na quantidade de substratos, que funcionaram como uma barreira física dentro do tanque, o que ocasionou a decantação do material floculado. Sugere-se também que o floco bacteriano em suspensão aderiu-se ao substrato, reduzindo assim sua presença na coluna d'água e, conseqüentemente, aumentando a transparência. Burford et al. (2003) afirmaram que mais de 50% das bactérias estão livres na coluna d'água e o restante associado com detritos na forma de material floculado.

O aumento na quantidade total de bactérias heterotróficas, em relação às autotróficas, provavelmente foi consequência do acréscimo de carbono adicionado via o melaço de cana-de-açúcar, resultados similares foram encontrados por Hari et al. (2004, 2006). Mesmo com a adição de melaço no sistema, houve elevação do teor de amônia, divergindo dos resultados encontrados por Hari et al. (2006) e Avnimelech (1999), em que a quantidade de amônia total foi reduzida com o acréscimo de carbono no sistema.

Samocha et al. (2007) relataram que os baixos níveis de amônia e nitrito sugeriram que a adição de carbono, na forma de melaço, é um efetivo instrumento no controle dessa forma de nitrogênio. Thompson et al. (2002) afirmaram que o biofilme melhora a qualidade de água em cultivos com níveis mais altos de salinidade, porém neste caso, como a salinidade é baixa (0,5 ‰), pode-se não ter conseguido este efeito. O aumento da amônia é concordante com o relatado por Gonzálex-Félix (2007) o qual cita que sistemas fechados, com baixa salinidade, são particularmente susceptíveis ao acúmulo de nitrogênio.

Poucos estudos foram realizados no sentido de avaliar o desempenho das bactérias heterotróficas e autotróficas em águas com baixa salinidade. Possivelmente, a baixa salinidade, utilizada no presente trabalho, afetou as interações entre os organismos presentes no sistema, prejudicando a minimização de nitrogênio.

Apesar dos altos teores da amônia, o teor de nitrito, que também é tóxico para o camarão, manteve-se dentro dos níveis normais (<0,45 mg L⁻¹) para o cultivo do *L. vannamei*, em água com baixa salinidade, de acordo com o preconizado por Gross et al. (2004). Wyk et al. (1999) relataram que o nitrito é mais tóxico em salinidade e pH mais baixos e suas concentrações devem estar abaixo de 1,0 mg L⁻¹. O nitrato, que é pouco tóxico para o camarão, manteve-se dentro dos níveis normais, segundo Wyk et al. (1999), os quais relataram que os níveis devem ser mantidos até 60 mg L⁻¹. Os mesmos autores relataram que os camarões podem sobreviver com níveis de nitrato de até 200 mg L⁻¹, mas não se sabe se estes níveis elevados podem afetar o crescimento ou a resistência às doenças.

Observou-se uma grande variabilidade nos resultados de sobrevivência entre os tratamentos e entre as repetições. Estes resultados corroboram com as afirmações de González-Félix et al. (2007) de que a sobrevivência em sistemas com baixa salinidade é considerada um problema por ser altamente variável e apontaram como uma das principais razões a variação na qualidade da água e o aumento da sensibilidade do camarão, para algumas variáveis de qualidade de água. Li et al. (2007) relataram que apesar do *L. vannamei* tolerar uma ampla faixa de salinidade, o mesmo é mais sensível a toxidade da amônia em baixa salinidade (<5,0 ‰). Portanto, pode-se atribuir que os altos índices de mortalidade podem ter ocorrido devido às altas concentrações de amônia nos tanques experimentais (Tabela 1).

Verificou-se que o aumento da adição de substrato favoreceu significativamente o ganho de peso (P<0,05) até a PAS de 150%, em que foi estimada a maximização em 133,3% (Figura 1). Maior ganho de peso ao adicionar substratos no cultivo também foi verificado por Thompson et al. (2002) e Moss e Moss (2004). Otoshi et al. (2006) obtiveram resultados similares com o do presente experimento quando verificaram um maior ganho de peso em camarões cultivados em tanques com substrato artificial após 43 dias de cultivo. Ballester et al. (2007) verificaram que pós-larvas de *Farfantepenaeus paulensis* criadas em gaiolas tiveram um aumento considerável na sua biomassa e sobrevivência com a adição de substratos. No presente estudo, a adição de substratos influenciou a sobrevivência até o limite de 87,8% (Figura 2).

O fator de conversão alimentar (FCA) foi minimizado estatisticamente (P<0,05) entre as PAS de 100 e 150%, em que 125% foi estimado como mínimo. Resultados divergentes foram encontrados por Samocha et al. (1993), que verificaram que a adição de substrato vertical não melhorou a sobrevivência, crescimento ou FCA do *P. vannamei*, cultivado sob condições intensivas. No entanto, endossam os resultados apresentados por Moss e Moss (2004), os quais relataram que o fator de conversão alimentar foi significativamente melhor na presença de AquaMats (substrato artificial) durante o cultivo do *L. vannamei* em berçário.

Segundo King (1995), o fator de condição indica se a relação entre o peso e comprimento é alométrico (um parâmetro varia mais que o outro) ou isométrico (parâmetros variam semelhantes). Quando os valores tendem a três o crescimento é isométrico, quando menores que três são alométricos negativos e quando maiores que três são alométricos positivos. Peixoto et al. (2004) avaliando as relações morfométricas de peso e comprimento do *F. paulensis*, cultivados sob densidades entre 5 e 20 cam m⁻², encontraram valores de θ igual a 2,53. Albertoni et al. (2003) estudando o crescimento e

o fator de condição do *Penaeus brasiliensis*, capturados em ambiente natural, obtiveram coeficientes de crescimento menores que 3,00. Silva e Mendes (2006) utilizando artêmia adulta como dieta para pós-lavas do *L. vannamei* na fase berçário, encontraram um θ igual a 2,90. Os resultados obtidos para camarões peneídos por diversos autores apontam para uma tendência de desenvolvimento alométrico negativo como sendo o mais comum, corroborando os dados obtidos no presente trabalho (Tabela 2).

Os resultados encontrados na relação comprimento em função do tempo de cultivo do *L. vannamei* estão de acordo com os relatos de Otoshi et al. (2006), os quais verificaram que o comprimento de juvenis de *L. vannamei* em função do tempo foi maior em cultivos com substratos artificiais. Os resultados encontrados na relação peso em função do tempo de cultivo do *L. vannamei* estão semelhantes aos obtidos por Ballester et al. (2003), os quais verificaram um aumento no peso dos camarões com o acréscimo de panagens dentro de gaiolas no cultivo de *F. paulensis* em sistemas de berçário.

CONCLUSÃO

É possível cultivar o *Litopenaeus vannamei* em água oligohalina e em meio heterotrófico. A adição de substrato artificial na faixa de 87,8 a 166,7% influencia positivamente a sobrevivência, o crescimento diário (cm dia⁻¹), o ganho de peso e o fator de conversão alimentar.

AGRADECIMENTOS

A Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), através da Rede de Carcinicultura do Nordeste (RECARCINE) pelo apoio financeiro. A Universidade Federal Rural de Pernambuco, por disponibilizar toda a infra-estrutura necessária ao desenvolvimento do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

399

398

- Albertoni, E.F., Palma-Silva, C., Esteves, F.A., 2003. Crescimento e fator de condição
- 401 na fase juvenil de Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille) e F. paulensis (Pérez-
- Farfante) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em uma lagoa costeira tropical do Rio de
- Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia 20 (3), 409–418.

404

- 405 Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
- 406 systems. Aquaculure 176, 227-235.

407

- Ballester, E.L.C., Wasielesky, W.Jr., Cavalli R.O., Santos, M.H.S., Abreu, P.C. 2003.
- 409 Influência do biofilme no crescimento do camarão-rosa Farfantepenaeus paulensis em
- sistemas de berçário. Atlântica, Rio Grande, 25(2), 117-122.

411

- Ballester, E. L. C., Wasielesky, W. Jr., Cavalli, R. O., Abreu, P. C., 2007. Nursery of the
- pink shrimp Farfantepenaeus paulensis in cages with artificial substrates: Biofilm
- composition and shrimp performance. Aquaculture 269, 355-362.

415

- Barbieri Junior, R.C., Ostrensky Neto, A., 2002. Camarões marinhos: engorda. Viçosa:
- 417 Aprenda Fácil, 370 pp.

418

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

- Cohen, J.M., Samocha, M.T., Fox, J.M., Gandy, R.L., Lawrence, A.L., 2005.
- 424 Characterization of water quality factors during intensive raceway production of
- 425 juvenile Litopenaeus vannamei using limited discharge and biosecure management
- tools. Aquacultural Engineering 32, 425–442.

- Davis, A.D., Samocha, M.T., Boyd, E.C., 2004. Acclimating pacific white shrimp,
- 429 Litopenaeus vannamei, to inland, low-salinity waters. Southern Regional Aquaculture
- 430 Center. Publication 2601.

431

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

436

- 437 FAO. Fishery Information, Data and Statistics Unit. FishStat plus: universal software
- 438 for fishery statistical time series. Version 2.3. Rome, 2008. Disponível em:
- 439 http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp. Acesso em: 6 maio 2008.

440

- Felfoldy, L.; Szabo, E.; Toth, L., 1987. A biological vizminosités. Budapest: Vizugyi
- 442 Hydrology Vizdok, 258pp.

- González-Felix, M. L.; Gómez-Jimenez, S.; Perez-Velazquez, M.; Davis, D. A. &
- Velazco-Rameños, J. G., 2007. Nitrogen budget for a low salinity, zero-water exchange
- culture system: I. Effect of dietary protein level on the performance of *Litopenaeus*
- vannamei (Boone). Aquaculture Research 38, 798-808.

- Gross, A., Abutbul, S., Zilberg, D., 2004. Acute and Chronic Effects of Nitrite on White
- Shrimp, Litopenaeus vannamei, Cultured in Low-Salinity. Journal of the World
- 450 Aquaculture Society 35, 315-321.

- Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W., Verdegem, M.C.J., 2004. Effects
- of carbohydrate addition on production in intensive shrimp culture systems.
- 454 Aquaculture 241, 197-194.

455

- Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W., Verdegem, M.C.J., 2006. The
- effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive
- shrimp culture systems. Aquaculture. 252, 248-263.

459

- 460 King. M., 1995. Fiaheries Biology, Assessment and Mamagement. Oxford, lackwell
- 461 Science, 341pp.

462

- 463 Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q., Qin, G.J., 2007. Growth, body
- 464 composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white
- shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. Aquaculture 265, 385–390.

466

- 467 McGraw, W., Teichert-Coddington, D. R., Rouse, D. B., Boyd, C. E., 2001. Higher
- 468 minimum dissolved oxygen concentrations increase penaeid shrimp yields in earthen
- 469 ponds. Aquaculture 199, 311–321.

- 471 McNevin, A.A., Boyd, C.E., Silapajarn, O., Silapajarn, K., 2004. Ionic Supplementation
- of Pond Waters for Inland Culture of Marine Shrimp. Journal of the World Aquaculture
- 473 Society. 35, 460-467.

475 Mendes, P.P. Estatística aplicada à aquicultura. Recife: Bagaço, 1999. 265pp.

476

- 477 Moss, K.R.K. and Moss, S.M., 2004. Effects of Artificial Substrate and Stocking
- Density on the Nursery Production of Pacific White Shrimp Litopenaeus vannamei.
- Journal of the World Aquaculture Society 35, 536-542.

480

- Nunes, A.J.P., 2001. O Cultivo do Camarão Litopenaeus vannamei em Águas
- Oligohalinas. In: Revista Panorama da Aqüicultura, Julho/Agosto, 15-23.

483

- Otoshi, C.A., Montgomery, A.D., Matsuda, E.M., Moss, S.M., 2006. Effects of
- 485 Artificial Substrate and Water Source on Growth of Juvenile Pacific White Shrimp,
- 486 Litopenaeus vannamei. Journal Of The World Aquaculture Society 37, 210-213.

487

- Peixoto, S., Soares, R., Wasielesky, W., Cavalli, R.O., Jensen, L. 2004. Morphometric
- relationship of weight and length of cultured Farfantepenaeus paulensis during nursery,
- 490 grow out, and broodstock production phases. Aquaculture 241, 291–299.

491

- 492 Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C.A., Ross, L.G. 1997. The effects of salinity and
- 493 temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus*
- 494 *vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture 157, 107-115.

Samocha, T.M., Lawrence, A.L., 1993. The effect of vertical netting and water 496 497 circulation pattern on growth and survival of *Penaeus vannamei* postlarvae in an intensive raceway system. Journal of Applied Aquaculture 2, 55-64. 498 499 Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Abdul-Mehdi A., Burger, J.M., Almeida R.V., 500 Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A., Brock, D.L., 2007. Use of molasses as carbon 501 source in limited discharge nursery and grow-out systems for Litopenaeus vannamei. 502 Aquacultural Engineering 36, 184-191. 503 504 505 Silva, A.P. e Mendes, P.P. 2006. Utilização da artêmia nacional como dieta para póslarvas do Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) na fase berçário. Acta Sci. Anim. Sci. 506 Maringá, 28 (3), 345-351. 507 508 Stuart, J.A., Melony J.S., Peter, J.C., Greg, J.C., 2005. Response of juvenile brown tiger 509 510 shrimp (Penaeus esculentus) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three-dimensional artificial substrate. Aquaculture 246, 231–238. 511 512 Thompson, F.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2002. Importance of biofilm for water 513 quality and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture 203, 263–278. 514

515

- Wasielesky, W., Emerenciano, M., Ballester, E., Soares, R., Cavalli, R., Abreu, P.C. 516
- 2006. Cultivos em Meios com Flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. 517
- In: Revista Panorama da Agüicultura, Julho/Agosto, 14-23. 518

520	Wyban, J., Walsh, W.A., Godin, D.M., 1995. Temperature effects on growth, feeding
521	rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (Penaeus vannamei). Aquaculture
522	I38, 267-279.
523	
524	Wyk, P.V., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Mountain, J., Scarpa, J.,
525	1999. Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Florida
526	Department of Agriculture and Consumer Services, 216pp.
527	
528	
529	
530	
531	
532	
533	
534	
535	
536	
537	
538	
539	
540	
541	
542	
543	
544	

Tabela 1-Variáveis de qualidade da água de cultivo do *L. vannamei* quando em águas oligohalinas e meio heterotrófico (média ± erro padrão, amplitude entre parênteses).

Variáveis	Porcentagem de adição de substrato (PAS) %					
	0	100	150	200	250	300
pН	7,41 <u>+</u> 0,03a ¹	7,40 <u>+</u> 0,03a	7,37 <u>+</u> 0,03a	7,40 <u>+</u> 0,03a	7,36 <u>+</u> 0,04a	7,43 <u>+</u> 0,03a
	(6,83-7,98)	(6,83-7,99)	(6,85-7,85)	(6,88-7,95)	(6,88 <u>+</u> 7,87)	(6,88-7,93)
Temperatura (°C)	27,35 <u>+</u> 0,05ab	27,40 <u>+</u> 0,06ab	27,47 <u>+</u> 0,05bc	27,60 <u>+</u> 0,05c	27,46 <u>+</u> 0,06abc	27,30 <u>+</u> 0,05a
	(25,50-29,60)	(25,30-29,80)	(25,30-29,60)	(25,60-29,80)	(25,40-29,40)	(25,20-29,40)
$\mathrm{OD}^3 (\mathrm{mg} \; \mathrm{L}^{\text{-}1})$	6,61 <u>+</u> 0,03a	6,62 <u>+</u> 0,03a	6,61 <u>+</u> 0,03a	6,62 <u>+</u> 0,03a	6,61 <u>+</u> 0,04a	6,71 <u>+</u> 0,03a
	(4,80-7,70)	(5,30-7,90)	(5,00-7,90)	(5,20-8,10)	(5,60-7,80)	(5,40-7,90)
Salinidade (‰) ⁴	0,52 <u>+</u> 0,00c	0,50 <u>+</u> 0,00ab	0,50 <u>+</u> 0,00a	0,52 <u>+</u> 0,00c	0,51 <u>+</u> 0,00bc	0,50 <u>+</u> 0,00a
	(0,40-0,60)	(0,40-0,60)	(0,40-0,60)	(0,40-0,60)	(0,40-0,60)	(0,40-0,60)
Transparência	28,26 <u>+</u> 1,79a	33,49 <u>+</u> 2,15a	35,66 <u>+</u> 2,25a	31,77 <u>+</u> 2,11a	36,97 <u>+</u> 3,09a	51,56 <u>+</u> 2,45b
(cm)	(13-67)	(13-67)	(14-67)	(14-67)	(14-67)	(14-67)
Alcalinidade	21 50 12 500	20.50+2.965	30,50 <u>+</u> 3,59a	24 90 12 972	28,00 <u>+</u> 4,00a	21.00+2.000
Total	31,50 <u>+</u> 2,50a	29,50 <u>+</u> 3,86a		34,80 <u>+</u> 2,87a	- -	31,00 <u>+</u> 3,00a
(mg L ⁻¹ CaCO ₃)	(24,00-34,00)	(18,00-34,00)	(20,00-36,00)	(26,00-44,00)	(20,00-32,00)	(22,00-34,00)
Dureza Total	153,40 <u>+</u> 4,90a	149,75 <u>+</u> 1,41a	147,42 <u>+</u> 3,37a	157,96 <u>+</u> 11,13a	150,60 <u>+</u> 1,60a	148,62 <u>+</u> 3,57a
(mg L ⁻¹ CaCO ₃)	(142,7-66,5)	(147,2-152,2)	(137,9-152,2)	(133,2-200,0)	(147,4-152,2)	(137,9-152,2)
Amônia	1,27 <u>+</u> 0,48a	1,02 <u>+</u> 0,22a	1,33 <u>+</u> 0,31a	1,33 <u>+</u> 0,31a	1,54 <u>+</u> 0,85a	1,05 <u>+</u> 0,21a
$(mg L^{-1} NH_3)$	(0,40-3,16)	(0,39-1,71)	(0,46-2,29)	(0,53-2,19)	(0,51-4,09)	(0,54-1,83)
Nitrito	0,10 <u>+</u> 0,05a	0,16 <u>+</u> 0,07a	0,43 <u>+</u> 0,06a	0,22 <u>+</u> 0,09a	0,21 <u>+</u> 0,14a	0,29 <u>+</u> 0,10a
$(\text{mg L}^{-1} \text{ NO}_2^{2-})$	(0,00-0,17)	(0,03-0,27)	(0,31-0,49)	(0,08-0,48)	(0,00-0,49)	(0,15-0,49)
Nitrato ² (mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻)	1,23	1,02	1,08	1,27	0,85	1,53

547 1 - Letras diferentes, na mesma linha, diferenciam significativamente o parâmetro entre as PAS (P<0,05), pelo teste de 548 Tukey; 2 - Realizada apenas uma análise; 3 - OD - Oxigênio dissolvido; 4 - ‰ - partes por mil. 549

Tabela 2 – Relação do peso com o comprimento do camarão *L. vannamei* em meio heterotrófico durante 45 dias de cultivo.

PAS (%)	Modelo	$R^2(\%)^1$	F^2	Prob (F) ³
0	$W=0.0398 L^{2.08} a^4$	89,06	81,39	0,0000
100	$W=0,0401 L^{2,08} a$	92,83	129,38	0,0000
150	$W=0,0418 L^{2,08} a$	92,64	125,79	0,0000
200	$W=0,0379 L^{2,10} a$	90,78	98,49	0,0000
250	$W=0,0392 L^{2,11} a$	91,93	68,34	0,0002
300	W=0,0455 L ^{1,97} a	92,86	130,03	0,0000

PAS - Porcentagem de Adição de Substrato; W – peso (g); L – comprimento (cm); 1 – Coeficiente de determinação; 2 - Estatística de Snedecor; 3 - Probabilidade da estatística "F"; 4 - Letras iguais entre modelos não diferencia a porcentagem de adição de substrato ($P \ge 0.05$), utilizando a estatística W.

Tabela 3 – Relação do peso em função do tempo de cultivo do camarão *L. vannamei* em meio heterotrófico, durante 45 dias de cultivo.

PAS (%)	Modelo	$R^2 (\%)^1$	F^2	$Prob(F)^3$
0	$W=0,2678 e^{0,0490 T}$	a ⁴ 90,70	97,51	0,0000
100	$W=0,2565 e^{0,0506 T}$	a 94,37	167,67	0,0000
150	$W=0,2780 e^{0,0509 T}$	a 95,73	224,41	0,0000
200	$W=0,2466 e^{0,0530 T}$	a 96,45	271,40	0,0000
250	$W=0,2642 e^{0,0511 T}$	a 97,38	223,39	0,0000
300	$W=0,2886 e^{0,0456 T}$	a 87,92	72,81	0,0000

PAS - Porcentagem de Adição de Substrato; W - peso (g); T - tempo de cultivo; 1 - Coeficiente de determinação; 2 - Estatística de Snedecor; 3 - Probabilidade da estatística "F"; 4 - Letras iguais entre modelos não diferencia a porcentagem de adição de substrato ($P \ge 0.05$), utilizando a estatística W.

Tabela 4 - Relação do comprimento em função do tempo de cultivo do camarão *L. vannamei* em meio heterotrófico, durante 45 dias de cultivo.

PAS (%)	Modelo	$R^2(\%)^1$	F^2	$Prob(F)^3$
0	L=2,4221+0,0950T a ⁴	98,13	523,62	0,0000
100	L=2,3013+0,0995T ab	96,28	258,53	0,0000
150	L=2,4047+0,0984T ab	95,73	223,94	0,0000
200	L=2,2751+0,1053T a	97,51	391,95	0,0000
250	L=2,3856+0,0968T a	97,68	252,24	0,0000
300	L=2,5197+0,0925T b	85,71	59,97	0,0000

PAS - Porcentagem de Adição de Substrato; L – comprimento (cm); T- tempo (dias); 1 - Coeficiente de determinação; 2 - Estatística de Snedecor; 3 - Probabilidade da estatística "F"; 4 - Letras diferentes entre modelos diferenciam a porcentagem de adição de substrato (P < 0,05), utilizando a estatística W.



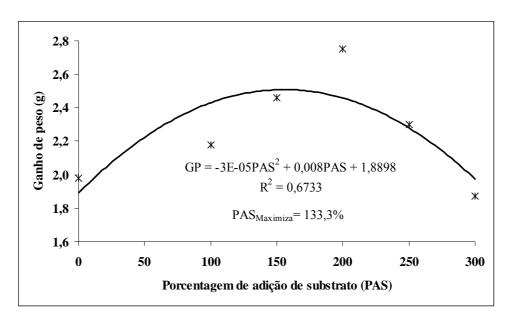


Figura 1 – Influência da porcentagem de adição de substrato no ganho de peso do camarão *L. vannamei* cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias.

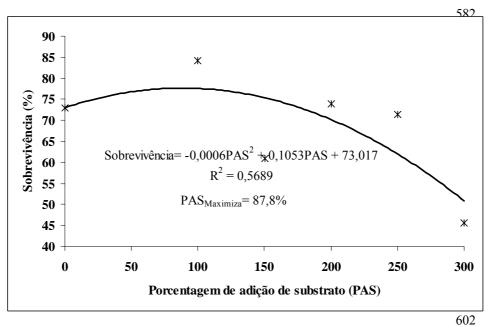


Figura 2 – Influência da porcentagem de adição de substrato na sobrevivência do camarão *L. vannamei* cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias.

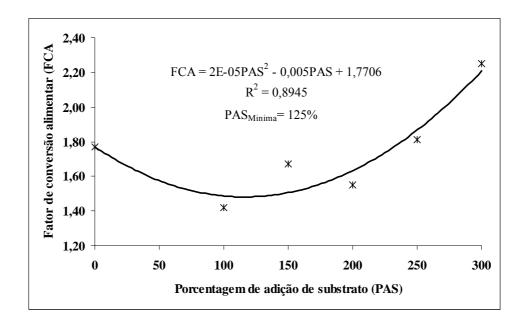


Figura 3 – Influência da porcentagem de adição de substrato no fator de conversão alimentar do camarão *L. vannamei* cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias.

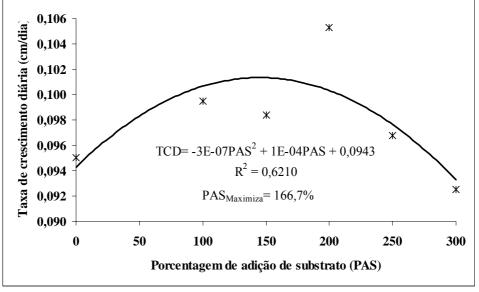


Figura 4 – Influência da porcentagem de adição de substrato na taxa de crescimento do camarão *L. vannamei* cultivado em meio heterotrófico, durante 45 dias.

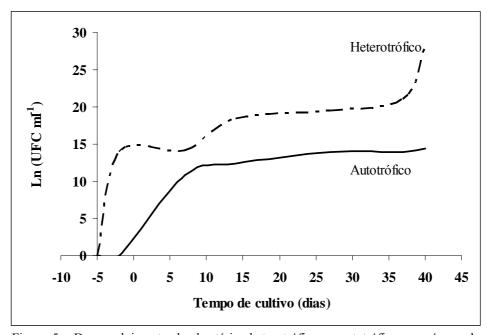


Figura 5 - Desenvolvimento das bactérias heterotróficas e autotróficas nas águas de cultivo do *L. vannamei*.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de substratos artificiais na carcinicultura tem como objetivo proporcionar uma colonização com biota natural, o que pode aumentar a disponibilidade de alimento natural para o camarão. Ao cultivar o *Litopenaeus vannamei* em água olighoalina e em meio heterotrófico, utilizando porcentagem de adição de substrato (PAS), pode-se concluir que PAS na faixa de 87,8 a 166,7% maximiza a sobrevivência, crescimento diário e ganho de peso, e minimiza o fator de conversão alimentar. Um maior número de substratos artificiais pode dificultar a circulação da água, sendo necessário um melhor dimensionamento e arranjo do sistema de aeração, o que acarretará um maior custo para implantação do sistema. Os sistemas heterotróficos, com e sem o uso de substrato artificial, necessitam de um sistema de aeração bastante eficiente, para manter o floco bacteriano em suspensão na coluna d'água, evitando uma elevada transparência da água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.L.L.T. Estratégias de manejo para aclimatar o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) à água doce. Dissertação (Mestrado em Recursos pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2005. 79 p.

ANDRADE, T. P. et al. Sobrevivência de Pós-larvas do camarão branco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) expostas à salinidade zero em condições de laboratório. In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca 11; Congresso Latino Americano de Engenharia de Pesca; Rodada de Negócios da Pesca, Recife. Recife: CONBEP (1999), p. 594-597. **Anais**.

ANDREATTA, E. R; BELTRAME, E. Cultivo de camarões marinhos. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. **Aqüicultura** – **Experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, p. 200-207. 2004.

BALLESTER, E. L. C.; WASIELESKY, W. Jr.; CAVALLI, R. O.; ABREU, P. C. O. V. Substratos Artificiais e aproveitamento do biofilme na criação do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*. **Aquaciência.** Vitória- ES. p. 191-202. 2004.

BARBIERI JUNIOR, R. C.; OSTRENSKY NETO, A. Camarões marinhos: engorda. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002. 370 p.

BOLEY, A.; MULLER, W.R.; HAIDER, G. Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 22, p. 75–85, 2000.

Boletin Nicovita- Consideraciones para el manejo de bactérias en cultivos intensivos de camaron. www.nicovita.com.pe/paginas/esp/camaron04T7.htm. v. 7. Ed. 04. Acessado em 04/01/2008.

BOYD, C. E. Water quality management for pond fish culture. Amsterdam: Elsevier, 1982. 318 p.

BOYD, C. E. Manejo da qualidade de água na aqüicultura e no cultivo do camarão marinho. Tradução Josemar Rodrigues. Recife: ABCC, 2001. 157p

BOYD, C. E. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. **Aquaculture**, v. 226, p. 101–112, 2003.

BRATVOLD, D.; BROWDY, C. L. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMatsTM) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. **Aquaculture**, v. 195, p. 81-94, 2001.

BURFORD, M.A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, v. 219, p. 393–411, 2003.

- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H. AND PEARSON, D. C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, v. 232, p. 525-537, 2004.
- CARVALHO, E. M.; UIEDA, V. S. Colonização por macroinvertebrados bentônicos em substrato artificial e natural em um riacho da serra de Itatinga, São Paulo, Brasil. **Revista Bras. Zoologia**. v. 21, n.2, 2004.
- CUZON, G.; LAURENCE, A.; GAXIOLA, G.; ROSAS, C.; GUILLAUME, J. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, v. 235, p. 513-531, 2004.
- DAVIS, A. D.; SAMOCHA, M. T.; BOYD E. C. Acclimating pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to inland, low-salinity waters. Southern Regional Aquaculture Center. Publication n 2601, 8p. 2004.
- EMERENCIANO, M. G. C.; WASIELESKY, W. JR.; SOARES, R. B.; BALLESTER, E. C., IZEPPI, E. M. E CAVALLI, R. O. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum. Biological Sciences.** v. 29, n. 1, p. 1-7, 2007.
- FAO. Fishery Information, Data and Statistics Unit. FishStat plus: universal software for fishery statistical time series. Version 2.3. Rome, 2008. Disponível em: http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp. Acesso em: 6 maio 2008.
- FREITAS, P. D. Estudo de diversidade genética em estoques reprodutores de camarões *Litopenaeus vannamei* cultivados no Brasil. Tese (Doutorado Genética e Evolução) Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003. 141p.
- GONZÁLEZ-FELIX, M. L.; GÓMEZ-JIMENEZ, S.; PEREZ-VELAZQUEZ, M.; DAVIS, D. A. & VELAZCO-RAMEÑOS, J. G. Nitrogen budget for a low salinity, zero-water exchange culture system: I. Effect of dietary protein level on the performance of Litopenaeus vannamei (Boone). **Aquaculture Research**, v. 38, p.798-808, 2007.
- JENKINS, D., RICHARD, M.G., DAIGGER, G.T. Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming, Lewis Publishers, 2nd Edition, Michigan. 1993.
- LARAMORE, S.; C. LARAMORE, R.; SCARPA, J. Effect of Low Salinity on Growth and Survival of Postlarvae and Juvenile *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 32, n. 4, p. 385-392, 2001.
- MAGALHÃES, M. E. S. Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em sistema multifásico. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2004. 60p.
- MENDES, P. P.; ALBUQUERQUE, M. L. L. T.; QUEIROZ, D. M.; SANTOS, B. L. S.; LIMA, A. C.; LOPES, Y. V. A. Aclimatação do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) à água doce com diferentes estratégias de alimentação e calagem. **Acta Sci. Anim. Sci.** Maringá, v. 28, n. 1, p. 89-95, 2006.

- MCGRAWD W. J.; DAVIS D. A., TEICHERT-CODDINGTAONDN D.; ROUSE B. Acclimation of *Litopenaeus vannamei* Postlarvae to Low Salinity: Influence of Age, Salinity Endpoint, and Rate of Salinity Reduction. **Journal of the World Aquaculture Society.** v. 33, n. 1, p 78-84, 2002.
- McINTOSH, P.R. Changing paradigms in shrimp farming: IV. Low protein feeds and feeding strategies. **Global Aquaculture Advocate**, v. 3, p. 44–50, 2000.
- McINTOSH, P.R. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of heterotrophic bacterial communities. **Global Aquaculture Advocate**, v. 4, p. 44–50, 2001.
- MICHAUD, L.; BLANCHETON, J.P.; BRUNI, V.; PIEDRAHITA, R. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p. 224–233, 2006.
- MODESTO, G. A. & MAIA, E. P. Cultivo de *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) em Viveiros Berçário Intensivo, XIII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura SIMBRAq, 2004, **Anais**, p. 88-94.
- MOSS, S. M. Dietery Inportance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: LEE, C. S.; O'BRYEN, P. (Eds.). Microbial Aprproaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Porduction Systems. **World Aquaculture Socyety**, Baton Rouge, USA, p. 1-18. 2002.
- MOSS, K. R. K. AND MOSS S. M. Effects of Artificial Substrate and Stocking Density on the Nursery Production of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society.** v. 35, n. 4, 2004.
- MOSS, S. M.; FORSTER, I. P.; TACON, A. G. J. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. **Aquaculture**, v. 258, p. 388–395, 2006.
- NUNES, A. J. P. O Cultivo do Camarão *Litopenaeus vannamei* em Águas Oligohalinas. **Panorama da Aqüicultura**. Rio de Janeiro. Julho/Agosto p.15-23. 2001.
- NUNES, A.J.P. Um ano de mudanças, perdas e ganhos. **Panorama da Aqüicultura.** Rio de Janeiro. v. 15, n. 92, p. 26. 2005.
- OLIVEIRA, L.C.B. Aclimatação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) à água doce: Fase Berçário. (Monografia para obtenção de grau no curso de Engenharia de Pesca). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2004. 31p.
- RAMESH M.R., SHANKAR K.M.; MOHAN C.V.; VARGHESE T.J. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. **Aquacultural Engineering**, v. 19, p. 119–131, 1999.
- ROCHA, I. P. Impactos sócio-econômicos e ambientais da carcinicultura brasileira: mitos e verdades. **Revista da ABCC**, Recife, v. 7, n. 4, p. 37-42, 2005.
- SAOUD, I. P.; DAVIS, D. A.; ROUSE, D. B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. **Aquaculture**, v.217, p. 373–383, 2003.

- SILVA, A. L. N.; SOUZA, R. A. L. **Glossário de aqüicultura**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 1998. 97 p.
- STREIT, D. P.; LUPCHINSKI, E.; MOREIRA, H. L. M. **Perspectivas atuais da aqüicultura marinha no Brasil**. Revista Acadêmica Multidisciplinar Urutágua. Maringá, PR. Ano 1 n. 04, Maio de 2002. Disponível em: www.uem.br/~urutagua/.
- STUART, J. A.; MELONY J. S.; PETER, J. C.; GREG, J. C. Response of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three-dimensional artificial substrate. **Aquaculture**, v. 246, p. 231–238, 2005.
- TAMOYO, B. P. M. A. Carcinicultura em água doce uma alternativa comparada. **Panorama Aquícola**, México, v.3, p. 32, 1998.
- THOMPSON, F. L.; ABREU, P. C.; WASIELESKY, W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture**, v. 203, p. 263–278, 2002.
- VALENÇA, A. R. Aclimatação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* à água doce. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2001. 51p.
- WASIELESKY, W. JR.; ATWOOD, H.; AL STOKES AND BROWDY, C. L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, p. 396-403. 2006a.
- WASIELESKY, W.; EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E.; SOARES,R.; CAVALLI, R; ABREU, P. C. Cultivos em Meios com Flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro. v. 16, n. 96, p. 14-23. 2006b
- ZHU S., CHEN S. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. **Aquacultural Engineering,** v. 25, p. 1–11, 2001.

6. ANEXO

6.1. Normas da revista

Guide for Authors

Submission of manuscripts

Types of contribution

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form. Review Articles can cover either narrow disciplinary subjects or broad issues requiring interdisciplinary discussion. They should provide objective critical evaluation of a defined subject. Reviews should not consist solely of a summary of published data. Evaluation of the quality of existing data, the status of knowledge, and the research required to advance knowledge of the subject are essential.

Short Communications are used to communicate results which represent a major breakthrough or startling new discovery and which should therefore be published quickly. They should not be used for preliminary results. Papers must contain sufficient data to establish that the research has achieved reliable and significant results.

Technical Papers should present new methods and procedures for either research methodology or culture-related techniques. The *Letters to the Editor* section is intended to provide a forum for discussion of aquacultural science emanating from material published in the journal.

Elsevier reserves the privilege of returning the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Copyright

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all Authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the Publisher.

- 1. An author, when quoting from someone else's work or when considering reproducing an illustration or table from a book or journal article, should make sure that he is not infringing a copyright.
- 2. Although in general an author may quote from other published works, he should obtain permission from the holder of the copyright if he wishes to make substantial extracts or to reproduce tables, plates, or other illustrations. If the copyright-holder is not the author of the quoted or reproduced material, it is recommended that the permission of the author should also be sought.

- 3. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.
- 4. A suitable acknowledgement of any borrowed material must always be made.

Upon acceptance of an article, Authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see http://www.elsevier.com/copyright). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

Online submission to the journal prior to acceptance

Submission to Aquaculture proceeds totally on-line by way of an electronic submission system. By accessing the website http://www.ees.elsevier.com/aqua you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. When submitting a manuscript to Elsevier Editorial System, authors need to provide an electronic version of their manuscript. For editing purpose original source files, not PDF files, are required should the manuscript be accepted. The author should specify a category designation for the manuscript (full length article, review article, short communication, etc.), choose a set of classifications from the prescribed list provided online and select an editor. Once the uploading is complete, the system automatically generates an electronic FDF (can be read by PDF readers) proof, which is then used for reviewing. Authors may provide the names of three potential referees in their covering letter. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office. They should avoid responding by messages received from the system using the 'Reply' button on their e-mail message; this will send the message to the system support and not to the editorial office, and will create unnecessary load of sorting out and forwarding. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be by e-mail.

Papers for consideration should be submitted via the website mentioned above to the appropriate Section Editor:

Nutrition:

R. P. Wilson

Husbandry and Management:

B.Costa-Pierce

Physiology and Endocrinology:

E.M. Donaldson

Diseases:

D.J. Alderman

Genetics: G. Hulata

English language

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Authors who require information about language editing and copy editing services post-submission please visit preand http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishin g or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer **Terms** Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termscondi tions

Format requirements for accepted articles

Format requirements for accepted articles

General

- 1. Manuscripts should be typewritten, with numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc. should be numbered in the upper right-hand corner. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.
- 2. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and concise)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone and fax number and E-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items.

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgements and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

3. In typing the manuscript, titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use bold face, lower-case letter type for titles; use non-bold, italic letter type for sub-titles. Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ?), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text".

- 4. Species names and other Latin terms should be typed in italics.
- 5. SI units should be used.

6. It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the word processor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Author Gateway's Guide to Publishing with Elsevier: http://authors.elsevier.com). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text. See also the section on Preparation of electronic illustrations.

LaTeX documents

The article should preferably be written using Elsevier's document class "elsart", or alternatively the standard document class "article".

The Elsevier LaTeX package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Author Gateway's Quickguide: http://authors.elsevier.com/latex. It consists of the files: elsart.cls, guidelines for users of elsart, a template file for quick start, and the instruction booklet "Preparing articles with LaTeX".

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should provide a very brief introduction to the problem and a statement about the methods used in the study. This should generally be followed by a brief summary of results, including numerical data (means and standard errors, for example). The abstract should end with an indication of the significance of the results. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. References should therefore be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 4-6 keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field at their first occurrence in the article: in the abstract but also in the main text after it. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Tables

- 1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions a table.
- 2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
- 3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
- 4. Each table should be typewritten on a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
- 5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
- 6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
- 7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
- 8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Formulae Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics. Use the solidus (/) instead of a horizontal line, e.g., X/Y

Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text). Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} and not Ca^{++} . Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P_2O_5).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves on a separate sheet at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Preparation of electronic illustrations

General

- 1. Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- 2. Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- 3. Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
- 4. Number the illustrations according to their sequence in the text.
- 5. Use a logical naming convention for your artwork files.

- 6. Provide all illustrations as separate files.
- 7. Provide captions to illustrations separately.
- 8. Produce images near to the desired size of the printed version.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: http://www.elsevier.com/artworkinstructions. Some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: Colour or greyscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (colour or greyscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- 1. embed graphics in your word processor (spreadsheet, presentation) document;
- 2. supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- 3. supply files that are too low in resolution;
- 4. submit graphics that are disproportionately large for the content.

Captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Line drawings

The lettering and symbols, as well as other details, should have proportionate dimensions, so as not to become illegible or unclear after possible reduction; in general, the figures should be designed for a reduction factor of two to three. The degree of reduction will be determined by the Publisher. Illustrations will not be enlarged. Consider the page format of the journal when designing the illustrations. Do not use any type of shading on computer-generated illustrations.

Photographs (halftones)

Remove non-essential areas of a photograph. Do not mount photographs unless they form part of a composite figure (plate). Where necessary, insert a scale bar in the illustration (not below it), as opposed to giving a magnification factor in the caption.

Colour illustrations

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable colour figures, then Elsevier will ensure, at no additional charge that these figures will appear

in colour on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for colour in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see http://www.elsevier.com/artworkinstructions.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to "grey scale" (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white versions of all the colour illustrations. As only one figure caption may be used for both colour and black and white versions of figures, please ensure that the figure captions are meaningful for both versions, if applicable.

Use of the Digital Object Identifier

The digital object identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly "Articles in press" because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*): doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change. However, please check the DOI very carefully as an error in a letter or number will result in a dead link.

Nomenclature

- 1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.
- 2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
- 3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
- 4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Supplementary data

Preparation of supplementary data. Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: http://www.sciencedirect.com. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together

with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at http://www.elsevier.com/artworkinstructions.

After acceptance

Proofs

One set of proofs will be sent to the corresponding author as given on the title page of the manuscript. Only typesetter's errors may be corrected; no changes in, or additions to, the edited manuscript will be allowed.

Reprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use

Additional offprints can be ordered on are print order form, which is included with the proofs. UNESCO coupons are acceptable in payment of extra offprints.

Author's Discount

There is a 30% discount on all Elsevier book publications. An order form will be sent together with the proofs.

Author Services

Authors can also keep a track on the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track a Paper" feature of Elsevier's Author Gateway.

Aquaculture has no page charges.

Illustrations

- 1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted separately, unmounted and not folded.
- 2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should made in the text to each illustration.
- 3. Each illustration should be identified on the reverse side (or in the case of line drawings on the lower front side) by its number and the name of the author. An indication of the top of the illustrations is required in photographs of profiles, thin sections, and other cases where doubt can arise.
- 4. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
- 5. Lettering should be clear and large enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. The lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
- 6. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
- 7. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.
- 8. Explanations should be given in the typewritten legend. Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.

- 9. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity. Sharp and glossy copies are required. Reproductions of photographs already printed cannot be accepted.
- 10. Colour illustrations can be included if the cost of their reproduction is paid for by the author. For details of the costs involved, please contact the publisher at: nlinfo-f@elsevier.com.

Colour illustrations

Submit colour illustrations as original photographs, high-quality computer prints or transparencies, close to the size expected in publication, or as 35 mm slides. Polaroid colour prints are not suitable. If, together with your accepted article, you submit usable colour figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version.

For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. For further information on the preparation of electronic artwork, please see http://authors.elsevier.com/artwork.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to ?grey scale? (for the printed version should you opt to not pay for colour in print) please submit in addition usable black and white prints corresponding to all the colour illustrations. As only one figure caption may be used for both colour and black and white versions of figures, please ensure that the figure captions are meaningful for both versions, if applicable.

References

- 1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
- 2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed if necessary by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1993) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1994, pp. 12–16)".
- 3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and all co-authors should be mentioned.
- 4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically by authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates publications of the same author with one co-author publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1994a, 1994b, etc.
- 5. Use the following system for arranging your references:
- a. For periodicals

Dame, R., Libes, S., 1993. Oyster reefs and nutrient retention in tidal creeks. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 171, 251–258.

b. For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical

Benzie, J.A.H., Ballment, E., Frusher, S., 1993. Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes. In: Gall, G.A.E., Chen, H. (Eds.), Genetics in Aquaculture IV. Proceedings of the Fourth International Symposium, 29 April-3 May 1991, Wuhan, China. Aquaculture 111, 89–93.

c. For books

Gaugh, Jr., H.G., 1992. Statistical Analysis of Regional Yield Trials. Elsevier, Amsterdam, 278 pp.

d. For multi-author books

Shigueno, K., 1992. Shrimp culture industry in Japan. In: Fast, A.W., Lester, L.J. (Eds.), Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp. 641–652.

- 6. Titles of periodicals mentioned in the list of references should be abbreviated following ISO 4 standard. The ISSN word abbreviations, for example, can be found at http://www.issn.org/Istwa.html.
- 7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.
- 8. Papers accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".
- 9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Formulae

- 1. Formulae should be typewritten, if possible. Leave ample space around the formulae.
- 2. Subscripts and superscripts should be clear.
- 3. Greek letters and other non-Latin or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter I.
- 4. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.
- 5. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.
- 6. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.
- 7. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp.
- 8. Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are * P<0.05, ** P<0.01 and *** P<0.001.
- 9. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺ and not Ca⁺⁺.
- 10. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O.
- 11. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P_2O_5).

Nomenclature

- 1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
- 2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
- 3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
- 4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

Copyright

- 1. An author, when quoting from someone else's work or when considering reproducing an illustration or table from a book or journal article, should make sure that he is not infringing a copyright.
- 2. Although in general an author may quote from other published works, he should obtain permission from the holder of the copyright if he wishes to make substantial extracts or to reproduce tables, plates, or other illustrations. If the copyright-holder is not the author of the quoted or reproduced material, it is recommended that the permission of the author should also be sought.
- 3. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.
- 4. A suitable acknowledgement of any borrowed material must always be made.

Proofs

One set of proofs will be sent to the corresponding author as given on the title page of the manuscript. Only typesetter's errors may be corrected; no changes in, or additions to, the edited manuscript will be allowed.

Offprints

- 1. Twenty-five offprints will be supplied free of charge.
- 2. Additional offprints can be ordered on an offprint order form, which is included with the proofs.
- 3. UNESCO coupons are acceptable in payment of extra offprints.

Author Services

Authors can also keep a track on the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track a Paper" feature of Elsevier http://authors.elsevier.com.