



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS MARINHAS E
Artemia sp. UTILIZANDO O EFLUENTE DO CULTIVO
INTENSIVO DE *Litopenaeus vannamei* EM BIOFLOCOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós
Graduação em Aquicultura da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção do
Grau de mestre em Aquicultura.

Orientador: Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana
Co-orientador: Dr. Roberto Bianchini Derner

Caio Cesar França Magnotti

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Magnotti, Caio
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS MARINHAS E Artemia
sp. UTILIZANDO O EFLUENTE DO CULTIVO INTENSIVO DE
Litopenaeus vannamei EM BIOFLOCOS / Caio Magnotti ;
orientador, Luis Vinatea ; co-orientador, Roberto Derner. -
Florianópolis, SC, 2013.
64 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Água residuária. 3. Aquicultura. 4.
Camarão marinho. 5. Microalgas. I. Vinatea, Luis. II.
Derner, Roberto. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV.
Título.

**Produção de biomassa de microalgas marinhas e *Artemia sp.*
utilizando o efluente do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei*
em bioflocos**

Por

CAIO CESAR FRANCA MAGNOTTI

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana – *Orientador*

Dr. Alfredo Olivera Gálvez

Dra. Katt Regina Lapa

Dr. Walter Quadros Seiffert

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que direta e indiretamente influenciaram e participaram da minha escolha para formação acadêmica

Agradeço ao Dr. Luis Vinatea por me orientar durante todo período de graduação e pós graduação, e por propiciar a execução de estágios no exterior que foram de grande valia para minha formação.

Ao Frank Belettini por passar suas ideias e conhecimento fundamentais para a execução deste projeto.

Agradeço ao Dr. Roberto Derner e ao M.Sc. Rafael Garcia Lopes pela amizade, parceria, por me acolher no Laboratório de Algas Marinhas – LCA, e ajudar na produção deste e de outros trabalhos neste período de 24 meses.

Agradeço todos os amigos e pesquisadores do LCA que estiveram presentes nos momentos de estresse e tranquilidade durante todo este período e foram parceiros de inúmeras discussões técnicas e científicas.

Aos professores do Departamento de Aquicultura que me passaram todo o conhecimento e indicaram os caminhos para o desenvolvimento de novas pesquisas e pensamentos.

Agradeço especialmente a minha família, que forneceu a base para que eu pudesse me estabelecer aqui no Sul do Brasil.

Aos membros titulares e suplentes da banca: Alex Pires de Oliveira Nuñez, Alfredo Olivera Gálvez, Katt Regina Lapa, Rodrigo Schweitzer e Walter Quadros Seiffert.

A CAPES pela bolsa de mestrado.

.

Na natureza nada se cria, nada se perde; tudo se transforma.

Antoine-Laurent Lavoisier (1743–1794)

RESUMO

O uso de tecnologias que geram menor impacto ambiental tornou-se uma exigência devido ao agravamento dos problemas inerentes a este. O cultivo em bioflocos é uma importante alternativa aos sistemas semi intensivos. Todavia, se faz necessário desenvolver práticas de manejo mais adequadas para o tratamento da água residuária. Neste sentido, a utilização de cultivos integrados é uma opção para reduzir a emissão de resíduos orgânicos. Este trabalho avaliou a possibilidade de produção de biomassa de microalgas marinhas e *Artemia franciscana*, utilizando a água residuária do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos. Duas diferentes concentrações de efluentes (50 e 100%) e o meio de cultura f/2 Guillard foram utilizados para produção de biomassa de *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata* e *Chaetoceros muelleri*. Posteriormente, o tratamento 100% água de reuso de cada espécie de microalga foi utilizado para produção de biomassa de Artêmias. A microalga *T. chuii* apresentou o melhor desempenho no meio de cultura alternativo e favoreceu o bom desempenho zootécnico nas Artêmias. Esses crustáceos apresentaram melhor desempenho quando alimentadas com *Chaetoceros muelleri*, porém a espécie apresentou menor ganho de biomassa em todos os meios de cultura. Desta forma, *T. chuii* poderia ser usada em um cultivo multitrófico integrando ao cultivo intensivo de *L. vannamei* em bioflocos.

Palavras-chave: meio de cultura, heterotrófico, multitrófico, fitoplâncton, zooplâncton.

ABSTRACT

The use of technologies that generates less environmental impact became an exigency due to the aggravation of its problems. The biofloc cultivation system is an important alternative to the traditional systems. Nevertheless, it is necessary to develop more suitable handling practices for the wastewater usage. In this sense, the utilization of crops integrated to this effluent is an option to reduce the organic residue production. This work aimed to evaluate the possibility of marine microalgae biomass and *Artemia franciscana* production utilizing wastewater from an intensive *Litopenaeus vannamei* tank in bioflocs. Two different wastewater concentrations (50 e 100%) and f/2 Guillard culture medium were utilized as the culture media for biomass production of *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros muelleri*. After, the 100% water reuse treatment of each one of the microalgae species was utilized to produce Artêmia biomass. The microalgae *T. chuii* presented the best performance for the alternative culture media and favored a good zootechnical performance on the Artêmia. These crustaceans presented the best performance when fed with *Chaetoceros muelleri*, however this species presented the least biomass yield in all the culture media. So, *T. chuii* could be used in a multitrophic cultivation integrating the intensive *L. vannamei* farming in bioflocs.

Keywords: growth media, heterotrophic, multitrophic, phytoplankton, zooplankton.

SUMÁRIO

1. Introdução	15
1.1 Objetivo.....	18
1.1.1 Objetivo geral.....	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
Artigo 1 : Emprego da água residuária do cultivo de camarão marinho em sistema BFT 1: remoção de nutrientes e produção de biomassa de microalgas marinhas	19
Resumo	19
1 Introdução.....	20
2 Material e métodos	21
2.1 Desenho experimental	21
2.2 Coleta e desinfecção da água de reuso e água marinha	22
2.3 Produção e divisão do Inóculo.....	22
2.4 Acompanhamento dos cultivos e análise de qualidade água	23
2.5 Análise estatística	24
3 Resultados e discussão.....	24
3.1 Qualidade de água	24
3.2 Ganho de biomassa.....	28
4 Conclusão	30
5 Agradecimentos	30
6 Referências Bibliográficas.....	34
Artigo 2 : Emprego da água residuária do cultivo de camarão marinho em sistema BFT 2: produção de biomassa de <i>Artemia franciscana</i> alimentadas com microalgas cultivadas em água de reuso	41
Resumo	41
1 Introdução.....	42
2 Material e métodos	43
2.1 Desenho experimental	43

2.2 Coleta e desinfecção da água de reuso e água marinha	43
2.3 Produção e divisão do Inóculo	44
2.4 Acompanhamento dos cultivos e análise de produtividade.....	44
2.5 Análise estatística.....	45
3 Resultados e discussão	46
4 Conclusão.....	50
5 Agradecimentos.....	50
6 Referências bibliográficas	51
2 Conclusão geral.....	55
3 Referências introdução.....	57

1. Introdução

Os sistemas de cultivo intensivo fechado são considerados uma alternativa biossegura à carcinicultura tradicional. Dentre estes se destaca o uso de agregados microbianos ou flocos microbianos, conhecido como Tecnologia de Flocos Microbianos – BFT (De Schryver, Crab *et al.*, 2008). Esse sistema baseia-se no tratamento da água dentro do próprio ambiente de cultivo, onde a qualidade da água é mantida através do crescimento de bactérias heterotróficas responsáveis pelo consumo dos compostos nitrogenados (Avnimelech, 2007). O crescimento destes microrganismos é estimulado através do aumento da relação C:N. Uma fertilização com compostos ricos em carbono assegura que esta relação se mantenha alta, induzindo a incorporação de nitrogênio amoniacal sob a forma de biomassa bacteriana (Avnimelech, 1999).

O cultivo de camarões peneídeos em sistema intensivo com troca zero de água é uma tecnologia ainda em aprimoramento. Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos, especialmente com *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931), visando aumentar a eficiência de ciclagem dos nutrientes e melhorar o desempenho dos camarões cultivados (Bratvold e Browdy, 2001; Ebeling e Ogden, 2004; Wasielecky, Atwood *et al.*, 2006; Vinatea, Galvez *et al.*, 2010; Baloi, Arantes *et al.*, 2013; Schweitzer, Arantes *et al.*, 2013). Entretanto os tanques recebem grande aporte de matéria orgânica na forma de restos de alimento, fertilizantes e produtos de excreção, resultando em um efluente rico em nutrientes com grande potencial de eutrofização dos corpos d'água. (Alonso-Rodriguez e Paez-Osuna, 2003; Tacon e Forster, 2003; Viadero, Cunningham *et al.*, 2005).

Neste sentido, o tratamento dos resíduos oriundos da produção aquícola como, por exemplo: matéria orgânica, nutrientes inorgânicos e sólidos orgânicos (suspensos e voláteis)(Viadero, Cunningham *et al.*, 2005) devem ser levados em consideração no sistema de produção. Tratamento com finalidade de adequá-los aos padrões de emissão exigidos pelos órgãos reguladores (Du Rant, Haveman *et al.*, 2011). Uma prática comum neste processo é o uso de decantadores, capazes de reter os biossólidos formados e de produzirem um efluente clarificado (Hinshaw e Fornshell, 2002; Fontenot, Bonvillain *et al.*, 2007).

Este efluente dos sistemas intensivos de produção aquícola também apresentam bom potencial para ser empregados em cultivos de outros organismos (Jones, Preston *et al.*, 2002; Neori, Chopin *et al.*, 2004; Borges, Silva *et al.*, 2005; Crab, Avnimelech *et al.*, 2007; Webb, Quinta *et al.*, 2012; Attasat, Wanichpongpan *et al.*, 2013)

Uma diversidade de organismos secundários já foram testados para esta finalidade (Erler, Pollard *et al.*, 2004). Entre eles destacam-se os moluscos (Shpigel e Neori, 1996; Shpigel, Gasith *et al.*, 1997; Neori, Ragg *et al.*, 1998; Lefebvre, Barille *et al.*, 2000; Ramos, Vinatea *et al.*, 2010), as macroalgas (Pagand, Blancheton *et al.*, 2000; Nelson, Glenn *et al.*, 2001; Jones, Preston *et al.*, 2002; Paul e De Nys, 2008), as microalgas (Pun, Cheung *et al.*, 1995; Attasat, Wanichpongpan *et al.*, 2013) e plantas halófitas (Webb, Quinta *et al.*, 2012).

O cultivo integrado que incorpora espécies de diferentes níveis tróficos, permitindo a transformação de nutrientes sólidos ou solúveis em biomassa, foi chamado por Soto (2009) de Cultivo Multitrófico Integrado.

Para a execução dos experimentos relativos a esta dissertação, foram escolhidos dois grupos para ser estudados. O primeiro, microalgas, e o segundo, microcrustáceos.

O primeiro possui espécies com variadas taxas de crescimento e composição química. Que dependem da disponibilidade dos macro nutrientes ou nutrientes essenciais (nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, potássio e enxofre) e micronutrientes (boro, cobre, zinco, vanádio, molibdênio e sódio), requeridos em pequenas quantidades (Sipaúba-Tavares e Rocha, 2003). Podem ser cultivados visando à produção de biocombustíveis, biorremediação, sequestro de carbono, produção de nutracêuticos e outros demonstrando seu grande potencial biotecnológico (Delanoue e Depauw, 1988; Day, Benson *et al.*, 1999; Liu, Song *et al.*, 2001; Hu, Sommerfeld *et al.*, 2008; Mata, Martins *et al.*, 2010).

Este grupo também produz uma ampla variação de carboidratos que, na sua maioria, são produtos de reserva ou atuam no equilíbrio osmótico, além de possuir alto valor calórico, constituindo uma valiosa fonte energética para os consumidores primários (Brown, Jeffrey *et al.*, 1997), principalmente em sistemas de larvicultura de camarões peneídeos, de moluscos bivalves e de peixes marinhos (Lavens e Sorgeloos, 1996).

Um dos entraves na produção comercial é o custo na formulação de meios de cultivo convencionais devido aos altos preços de fertilizantes químicos utilizados (Coutteau, 1996). Estes podem chegar a 60% dos custos de produção em larga escala. Como alternativa, as águas residuárias de outras atividades podem ser utilizadas como meio de cultura para organismos foto autotróficos com finalidade de absorver os nutrientes (Noe e Pauw, 1988; Lee e Lee, 2002; An, Sim *et al.*, 2003;

Jung e Lovitt, 2010; Pittman, Dean *et al.*, 2011; Wang e Lan, 2011; Abdel-Raouf, Al-Homaidan *et al.*, 2012; Webb, Quinta *et al.*, 2012).

Estudos já demonstraram a eficácia da remoção de compostos nitrogenados, fósforo e metais tóxicos de águas residuárias, sendo que a remoção de fósforo é muito eficiente e demanda menos investimentos quando comparada a técnicas químicas (Hoffmann, 1998; Ahluwalia e Goyal, 2007; Pittman, Dean *et al.*, 2011).

O segundo grupo, representado pela *Artemia* sp., também tem sua aplicação no tratamento de águas residuárias considerada, devido a sua alta capacidade de filtração (Basil, Nair *et al.*, 1995). São filtradores não seletivos e fagotróficos obrigatórios (Sorgeloos, Baezamesa *et al.*, 1980) com alta capacidade de filtração (Basil, Nair *et al.*, 1995). Alimentam-se principalmente das microalgas presentes nos ambientes naturais hipersalinos, de detritos ricos em bactérias (Intriago e Jones, 1993) ou outros alimentos microparticulados (Sorgeloos, Baezamesa *et al.*, 1980; Lavens e Sorgeloos, 1996).

São observados valores entre 51 a 55% de proteína de sua composição corporal (Treece, 2000), tornando-a apta a ser fornecida como alimento vivo complementar à espécie cultivada (Leger, Bengtson *et al.*, 1986; Otoshi, Montgomery *et al.*, 2006), contribuindo para uma menor demanda por rações de alto valor proteico e consequente redução dos custos de produção (Browdy, Venero *et al.*, 2009).

Wang (2003) descreveu um cultivo multitrófico com tanques de produção intensiva de camarões marinhos, microalgas, moluscos ou artêmias. A produção de biomassa de artêmia e microalgas aponta para uma redução significativa da produção de resíduos orgânicos, principal limitante dos cultivos intensivos. Pode também aumentar a eficiência econômica por meio da geração de biomassa de artêmia, a partir das microalgas, que poderá ser fornecida como alimento para os camarões cultivados.

Porém a funcionalidade de sistemas integrados é complexa, devido as exigências dos organismos, influências da qualidade da água, e estratégia de despesca (Neori, Chopin *et al.*, 2004). Sendo assim a escolha das espécies cultivadas de grande importância, devendo ser feita com muito cuidado, visando a melhor produtividade e eficiência na produção (Barrington, Chopin *et al.*, 2009).

Neste cenário foi proposta a utilização da água residuária de um tanque de cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos como meio de cultura para a produção de microalgas marinhas, que posteriormente foram fornecidas como alimento para Artêmias.

1.1 Objetivo

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a possibilidade de produção de biomassa de microalgas marinhas e *Artemia franciscana* utilizando a água residuária do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos.

1.1.2 Objetivos específicos

Determinar a quantidade necessária de efluente que possa servir como fertilizante orgânico para o crescimento de microalgas;

Verificar as modificações nos parâmetros físicos e químicos da água residuária do cultivo em bioflocos utilizada como meio de cultura durante os cultivos de microalgas;

Selecionar a microalga capaz de produzir as maiores quantidades de biomassa de *Artemia* sp.

Os artigos serão enviados para a revista Aquacultural Engineering. Qualis CAPES = A2 (Zootecnia- Recursos Pesqueiros) JCR = 1,421

Artigo 1 : Emprego da água residuária do cultivo de camarão marinho em sistema BFT 1: remoção de nutrientes e produção de biomassa de microalgas marinhas

Caio Magnotti; Rafael Lopes; Roberto Derner; Luis Vinatea*

Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Laboratório de Camarões Marinhos, Florianópolis, SC, CEP 88062-601, Brasil.

*autor correspondente: Tel.: +55 48 3231 3400

E-mail: vinatea@mbox1.ufsc.br (L. Vinatea)

Resumo

As microalgas possuem um grande potencial biotecnológico, entretanto, o elevado custo de formulações tradicionais tem sido um dos fatores limitantes para o seu cultivo comercial. Como alternativa tem se pensado na utilização de águas residuárias de outras atividades como meio de cultura. O presente trabalho teve como objetivo produzir biomassa de *Chaetoceros muelleri*, *Nannochloropsis oculata* e *Tetraselmis chuii* utilizando a água residuária de um sistema de cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei*, e verificar o consumo de nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato e ortofosfato. As culturas foram mantidas até o 2º dia da fase estacionária em meio de cultura f/2, 100% água residuária e 50% água residuária diluída com água marinha. A cada dois dias foram verificados o ganho de biomassa seca e consumo de nutrientes durante este período. *T. chuii* apresentou maior média de ganho de biomassa até o dia de densidade celular máxima com 576 mg L⁻¹, seguido por *N. oculata* com 474 mg L⁻¹, ambos sem diferença entre os meios de cultura. *C. muelleri* apresentou maior ganho de biomassa no meio f/2 com média de 165 mg L⁻¹ do que nos cultivos em água residuária. Todas as espécies consumiram completamente o ortofosfato em dois dias. Em 10 dias, *T. chuii* e *N. oculata* assimilaram 87% e 85% de nitrato respectivamente. Nas culturas de *T. chuii* em meio f/2, houve um acúmulo de 5 mg L⁻¹ de amônia no décimo dia. Conclui-se que a água residuária de um sistema de cultivo em bioflocos de *L. vannamei* pode ser utilizada como um meio alternativo para produção de biomassa de *Tetraselmis chuii* e *Nannochloropsis oculata*, reciclando os nutrientes dissolvidos e produzindo produtos de valor comercial.

Palavras-chave: bioflocos, água residuária, reciclagem, biomassa

1 Introdução

O uso das microalgas para produção de biocombustíveis, biorremediação, sequestro de carbono, produção de nutracêuticos e outros demonstra seu grande potencial biotecnológico (Krishna et al., 2012; Mata et al., 2010; Noue and Pauw, 1988; Varfolomeev and Wasserman, 2011). Sua biomassa também é uma fonte de alimento importante para o cultivo de diversos organismos aquáticos, principalmente em sistemas de larvicultura de camarões peneídeos, de moluscos bivalves e de peixes marinhos (Lavens and Sorgeloos, 1996).

O custo elevado na formulação de meios de cultivo convencionais devido aos altos preços de fertilizantes químicos utilizados é um dos entraves na sua produção comercial (Coutteau, 1996). Como alternativa, as águas residuárias provenientes da aquicultura, indústria e centros urbanos podem ser utilizadas como meio de cultura para organismos foto autotróficos com finalidade de absorver os nutrientes (Abdel-Raouf et al., 2012; An et al., 2003; Jung and Lovitt, 2010; Lee and Lee, 2002; Noue and Pauw, 1988; Pittman et al., 2011; Wang and Lan, 2011; Webb et al., 2012).

Estudos já demonstraram a eficácia da remoção de compostos nitrogenados, fósforo e metais tóxicos de águas residuárias, sendo que a remoção de fósforo é muito eficiente e demanda menos investimentos quando comparada a técnicas químicas (Ahluwalia and Goyal, 2007; Hoffmann, 1998; Pittman et al., 2011).

A utilização dos efluentes de sistemas intensivos de produção aquícola apresentam potencial de uso como meio de cultura alternativo (Borges et al., 2005; Crab et al., 2007; Webb et al., 2012). Dentre estes se destaca o cultivo superintensivo de camarões peneídeos em bioflocos (Crab et al., 2007; De Schryver et al., 2008). Estudos vêm sendo desenvolvidos neste sistema, especialmente com *Litopenaeus vannamei*, visando aumentar a eficiência de ciclagem dos nutrientes e melhorar o desempenho dos camarões cultivados (Baloï et al., 2013; Bratvold and Browdy, 2001; Ebeling and Ogden, 2004; Otoshi et al., 2006; Vinatea et al., 2010; Wasielesky et al., 2006). A tecnologia é baseada na mínima renovação de água, recebendo grande aporte de matéria orgânica na forma de restos de alimento, fertilizantes e produtos de excreção, resultando em um efluente rico em nutrientes com grande potencial de eutrofização dos corpos d'água. (Alonso-Rodriguez and Paez-Osuna, 2003; Tacon and Forster, 2003; Viadero et al., 2005).

Estes efluentes líquidos e sólidos ricos em nitrogênio, fósforo, enxofre e silicato gerados em cultivos salinos devem passar por

reciclagem ou tratamento antes do descarte, pois eventualmente não estão nos padrões exigidos pelas agências reguladoras (Du Rant et al., 2011).

Neste cenário foi proposto usar a água residuária de um tanque de cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos como meio de cultura para *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* e *Chaetoceros muelleri*. Teve finalidade de produzir biomassa destas espécies e reciclar o nitrogênio e fósforo dissolvidos nesta água residuária.

2 Material e métodos

2.1 Desenho experimental

Foram utilizados 27 recipientes de polietilentreftalato (PET) transparente, retangulares de base de 16 cm x 16 cm e altura de 26 cm, com 4,5 L de volume útil. Fotoperíodo de 24 horas luz, com irradiância de $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ geradas por duas lâmpadas fluorescentes tubulares de 40 W e 5000 K. Uma pipeta autoclavada de 2 mL foi inserida por um orifício na tampa de cada unidade e conectada a um compressor de ar de capacidade igual a 40 Lh^{-1} , gerando bolhas de ar atmosférico. As unidades experimentais foram mantidas em sala climatizada com temperatura de $22 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$.

O experimento foi dividido em 9 tratamentos, sendo 3 espécies de microalgas marinhas, 3 meios de cultura e 3 repetições no tempo. As repetições foram divididas em 3 ciclos de produção e realizadas nas mesmas condições ambientais, procedimentos e análises.

Foi produzida biomassa de microalgas *Chaetoceros muelleri* cepa CCMP1316, *Nannochloropsis oculata* cepa CCMP525, adquiridas do National Center for Marine Algae and Microbiota (NCMA), e *Tetraselmis chuii* adquirida do Laboratório de Ecologia de Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos pertencente a Universidade Federal de Rio Grande (FURG). Os meios de cultura utilizados foram f/2 Guillard (Guillard, 1975), 100% água de reuso e 50% água de reuso diluído em água marinha. Com objetivo de não agregar custos de produção e viabilizar a utilização da água de reuso em larga escala não foi incorporado CO_2 nas unidades e não foi adicionado silicato de sódio aos meios de cultura provenientes dos tanques de bioflocos utilizados nas unidades de *C. muelleri*.

Os tratamentos foram nomeados agrupando as iniciais do nome científico de cada espécie (TC, NO, CM) com o meio de cultura empregado (f/2, 50, 100).

2.2 Coleta e desinfecção da água de reuso e água marinha

A água de reuso foi coletada com um recipiente plástico de 15 L de um tanque circular de fibra de vidro de oito metros de diâmetro, 50 m² de área de fundo e volume de trabalho de 48 m³ onde são cultivados camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* em sistema intensivo de bioflocos. Este não teve renovação parcial por três meses antes do experimento e estava povoado por camarões de 18-19 g com densidade média de 1,5 kg m⁻². Durante o período o volume de Sólidos Suspensos Totais (SST) foi mantido entre 400 e 600 mg L⁻¹ utilizando um decantador cilindro cônico. Após a coleta, a água foi submetida a sedimentação dos sólidos durante 15 min e dupla filtração da porção sobrenadante por meio de bombeamento e filtro de cartucho 1 µm. Em seguida, esta água residuária foi clorada com 0,020 ppm NaClO durante 1,5 horas e desclorada com tiosulfato de sódio 0,025 ppm.

A água marinha foi bombeada da praia do Moçambique, Florianópolis - SC, Brasil. Passou por filtração em bolsa de tecido geotêxtil de 125 µm e foi submetida ao mesmo procedimento de purificação e desinfecção da água residuária.

2.3 Produção e divisão do Inóculo

Os inóculos das microalgas foram cultivados em meio de cultura f/2 autoclavado, com adição de 80 mg L⁻¹ de silicato de sódio para *C. muelleri*. Foi mantida temperatura de 22 ± 0,5 °C e fotoperíodo de 24 horas luz, com irradiância de 150 µmol m⁻² s⁻¹. As culturas foram iniciadas sem aeração e foram transferidas para volumes maiores a cada três dias. Esta etapa foi realizada em Erlenmeyers de 500 mL. Posteriormente repicados para Erlenmeyers de 1 L. Depois de mais três dias, foram inoculadas em Erlenmeyers de 2 L, com a aeração e fertilização de CO₂ a 0,5 %.

Cada unidade foi preparada com 3 L de cada meio de cultura. Em seguida foi adicionada a porção de 1,5 L, contendo o volume de inóculo de microalgas e água marinha. A proporção inóculo/água marinha variou de acordo com a biomassa seca contida nos inóculos das microalgas. A diluição foi realizada buscando semear as unidades experimentais com biomassa próxima a 100 mg L⁻¹. Para o cálculo da biomassa seca dos inóculos, foi utilizado uma curva de calibração previamente elaborada de turbidez (860 nm) x biomassa (mg L⁻¹), com R² = 0,976; 0,986 e 0,878 para as espécies *T. chuii*, *N. oculata* e *C. muelleri*.

2.4 Acompanhamento dos cultivos e análise de qualidade água

Os tratamentos foram avaliados diariamente conforme a curva de crescimento elaboradas a partir da densidade celular média diária. Foram acompanhadas até o segundo dia da fase estacionária com objetivo de encontrar o dia de Densidade Celular Máxima (DCM).

Diariamente foi realizada medição de pH utilizando peagâmetro digital. A cada dois dias realizou-se a análise de peso seco por filtração das amostras com filtro de fibra de vidro com porosidade 1,6 μm , lavada com solução de 35 g L^{-1} de formiato de amônio e seca em estufa a 50°C até peso constante. Para os resultados do experimento foi considerado como peso seco final o obtido no dia, ou dia seguinte a DCM da cultura. Com os valores de peso seco foi possível obter a biomassa seca inicial (BI), biomassa seca final (BF) e calcular a biomassa seca relativa (BR), que corresponde à diferença entre a BF e BI.

Com mesma frequência foram realizadas análises de nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato e ortofosfato. Para estas, amostras de 50 mL passaram por centrifugação a 2510 G durante 15 minutos, filtração com filtro de Acetato de Celulose e foram separadas em frascos estéreis para a aplicação das metodologias: Amônia ($\text{mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$) (Koroleff, 1969 apud Grasshoff et al., 1983), Nitrito ($\text{mg N-NO}_2 \text{ L}^{-1}$) (Bendschneider and Robison, 1952 in Baumgarten et al., 1996), Nitrato ($\text{mg N-NO}_3 \text{ L}^{-1}$) (APHA, 1976) e Ortofosfato ($\text{mg P-PO}_4 \text{ L}^{-1}$) (Aminot and Chaussepied, 1983 in Baumgarten et al., 1996). As coletas foram realizadas desligando a aeração, homogeneizando e succionando a pipeta da aeração com uma seringa de 60 mL, limpa, exclusiva de cada unidade.

Com objetivo de obter a concentração dos nutrientes residuais, as análises também foram realizadas nos inóculos de microalgas, meios de cultura e água marinha, imediatamente antes do seu uso. Medida necessária, pois cada unidade experimental de 4,5 L foi composta por 3 L de meio de cultura e 1,5 L da mistura do inóculo de microalga e água marinha para diluição, modificando as concentrações dos nutrientes que compõem o meio de cultura. Com estes valores foi calculada a concentração real de nutrientes existente em cada unidade experimental (M.C.) e considerada como ponto de inicial para as posteriores análises.

Foi considerado dia 0 o resultado das análises realizadas imediatamente após completar o volume das unidades, com tempo máximo de 20 minutos após inóculo.

2.5 Análise estatística

Foi realizado teste de Levene para verificar homocedasticidade e teste Shapiro Wilk para normalidade. Os resultados dos nutrientes dissolvidos obtidos durante o experimento foram submetidos à análise de variância simples em blocos em cada dia de coleta. Os demais foram submetidos à análise de variância fatorial em blocos, meio de cultura x microalga. Para as diferenças significativas verificadas foi utilizado o teste de separação de médias de Tukey. Todos analisados utilizando o software Statistica 7.0 com $P < 0,05$.

3 Resultados e discussão

3.1 Qualidade de água

A média do pH entre os diferentes meios de cultura foi de $8,4 \pm 0,1$ não apresentando diferença significativa ($P > 0,05$). Porém, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as espécies de microalgas com médias de $8,5 \pm 0,6$; $8,6 \pm 0,5$ e $8,2 \pm 0,5$ para *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata* e *Chaetoceros muelleri*. Também houve diferença ($P < 0,05$) entre as repetições no tempo, com $8,7 \pm 0,3$; $8,8 \pm 0,2$ e $7,7 \pm 0,2$ para a 1^a, 2^a e 3^a repetição. Mesmo com estas variações, as médias mantiveram-se dentro da faixa ideal para o cultivo da maioria das espécies de microalgas (Coutteau, 1996; Richmond, 2004). Porém as duas primeiras repetições ficaram próximas ao limite máximo recomendado por Coutteau (1996), de pH igual a 9, e a terceira próximo ao intervalo de 8,0 a 8,2 onde Goldman et al (1982) obteve melhores resultados em cultivos com espécies marinhas.

A intensa fotossíntese durante o cultivo eleva o pH do meio de cultura até cessar o crescimento das microalgas, entrando em sua fase estacionária (Berge et al., 2012). O pH alto representa a maior causa de perdas de espécies e cepas cultivadas em coleções e é um aspecto importante na produção comercial de biomassa em larga escala (Goldman et al., 1982). Isso porque modifica a permeabilidade da membrana celular interferindo no transporte iônico intra e extracelular (Vinatea, 2010) e no equilíbrio de compostos químicos do meio de cultura (Boyd, 1995; Vinatea, 2010).

Nos inóculos foram encontradas baixas concentrações de nitrito ($< 0,05 \text{ mg L}^{-1}$) e ausência de ortofosfato. O nitrato residual foi de $3,13 \pm 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ nas culturas de *T. chuii*, $2,32 \pm 1,00 \text{ mg L}^{-1}$ em *N. oculata* e $3,21 \pm 1,90 \text{ mg L}^{-1}$ em *C. muelleri* sem diferença significativa entre as espécies ($P > 0,05$), porém com diferença entre os ciclos de produção

($P < 0,05$). A concentração de nitrogênio amoniacal apresentou diferença significativa entre todas as microalgas e alguns ciclos de produção ($P < 0,05$). Foram encontradas concentrações máximas de $1,70 \text{ mg L}^{-1}$ em *T. chuii*, $8,99 \text{ mg L}^{-1}$ em *N. oculata* e $6,77 \text{ mg L}^{-1}$ em *C. muelleri* no primeiro ciclo. As elevadas concentrações se repetiram em *N. oculata* no segundo ciclo ($8,92 \text{ mg L}^{-1}$) e terceiro ciclo ($1,98 \text{ mg L}^{-1}$). Nas outras culturas foram detectados valores entre $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,66 \text{ mg L}^{-1}$ sem diferenças significativas entre microalgas no segundo e terceiro ciclo de produção ($P < 0,05$). Na água marinha utilizada para a diluição dos inóculos de microalgas, não foram encontrados os nutrientes testados.

O meio de cultura f/2 e a água de reuso, 100% e 50%, apresentaram concentrações de nitrogênio amoniacal entre $0,19$ e $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ e nitrito menor do que $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ($P > 0,05$). A média da concentração de nitrato foi maior no meio de cultura 100% água de reuso, $19,31 \pm 4,37 \text{ mg L}^{-1}$ ($P < 0,05$), do que em f/2 com $14,48 \pm 1,63 \text{ mg L}^{-1}$ e $10,98 \pm 1,97 \text{ mg L}^{-1}$ em 50% água de reuso ($P > 0,05$). A concentração deste nutriente na água residuária foi elevada durante o período dos 3 meses de experimento, apresentando concentração de 12 mg L^{-1} , $15,75 \text{ mg L}^{-1}$ e $24,18 \text{ mg L}^{-1}$ nas coletas das repetições. O Ortofosfato foi encontrado em maior concentração no meio de cultura 100% água de reuso, com média de $2,53 \pm 0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ($P < 0,05$), seguido com igualdade com $2,04 \pm 0,11 \text{ mg L}^{-1}$ em f/2 e $1,88 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$ em 50% ($P > 0,05$). Diferente do nitrato, não foi verificada variação deste nutriente na água residuária no período de experimento.

Com estes resultados foi calculado a concentração de nutrientes (M.C.) das unidades (Figura 1, 2 e 3). As concentrações nos meios f/2, 50% e 100%, sofreram modificações devido aos nutrientes residuais provenientes do inóculo e a ausência de nutrientes da água marinha usada para diluição. Porém se mantiveram as diferenças significativas entre os nutrientes.

Os valores de nitrato e ortofosfato apresentam grande variação nos cultivos heterotróficos. As concentrações são modificadas principalmente pelas fontes de proteína da ração (Ray et al., 2010), ciclo de luz (Baloi et al., 2013), densidade e tamanho dos camarões (Neal et al., 2010), fontes de carbono (Crab et al., 2010), comunidade microbiana predominante (Ebeling et al., 2006), presença de substratos artificiais (Schweitzer et al., 2013).

Concentrações de nutrientes próximas a da água residuária utilizada neste experimento foram encontradas por (Baloi et al., 2013), 33 mg L^{-1} de N-NO_3 e máximo de $1,7 \text{ mg L}^{-1}$ de P-PO_4 , 26 mg L^{-1} de N-NO_3 por Ray et al. (2011) e $2,3 \text{ mg L}^{-1}$ de P-PO_4 por Schweitzer et

al. (2013). Estas podem ser consideradas baixas quando comparadas a valores de até $79,4 \text{ mg L}^{-1}$ de ortofosfato encontradas por Ray et al. (2011), até $95,3 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrato (Schveitzer et al., 2013) e entre 80 e 160 mg L^{-1} de N-NO_3^- e 54 a 107 mg L^{-1} de ortofosfato quando Ray et al. (2010) variaram a fonte de proteína da ração e volume de sólidos suspensos totais dos tanques.

Foi verificado consumo de 100% do ortofosfato no período de 2 dias em todos os tratamentos (Figura 1D, 2D e 3D). Sendo mais rápido nas unidades com *C. muelleri*, as quais consumiram 70%, 71% e 79% em CMf/2, CM50 e CM 100 no período de 20 minutos, entre o tempo de inóculo e a amostragem do dia zero (Figura 3D). A absorção total em apenas dois dias provavelmente foi reflexo da baixa concentração de P-PO_4 em todos os meios de cultura.

Da mesma forma, da Costa et al. (2004) utilizando meio de cultura com $34,843 \mu\text{moles L}^{-1} \text{ P-PO}_4$ ($1,08 \text{ mg L}^{-1}$), formulado a partir de 40% de efluente urbano diluído em água para a produção de biomassa de *T. chuii* observaram assimilação de 99,1% de ortofosfato em 7 dias. Resultados semelhantes também foram verificados para outras espécies de microalgas. Martinez et al. (2000) obtiveram consumo de 97% de fósforo pela espécie *Scenedesmus obliquus* em cultivo em batelada em fotobiorreatores de 1,5 L com $11,8 \text{ mg L}^{-1}$ de P-PO_4 inicial. Em cultivos estacionários, como neste experimento, as taxas de consumo foram mais baixas quando fornecidas mais de $7 \text{ mg L}^{-1} \text{ P-PO}_4$ em algumas espécies. 79,4% de assimilação foi obtida com *Tetraselmis suecica* após 8 dias de cultivo em meio com 10 mg L^{-1} de P-PO_4 (Patel et al., 2012). Aslan e Kapdan (2006) encontraram remoção de 78% do P em culturas de *Chlorella vulgaris* variando as concentrações de N e P sob luz contínua, a 20°C e concentração inicial de P-PO_4 de $7,7 \text{ mg L}^{-1}$.

A assimilação de nitrato foi maior nas unidades de cultivo de *T. chuii* TCf/2, TC100 com 84 ± 05 , $87 \pm 03\%$ ($P > 0,05$) seguidas por $70 \pm 02 \%$ em TC50 ($P < 0,05$). Nas unidades de *N. oculata* a maior absorção foi verificada em NO100 ($83 \pm 02\%$) igualando os melhores resultados de *T. chuii* ($P > 0,05$). NOf/2 resultou em $77 \pm 01\%$ de absorção, seguida por NO50 com $68 \pm 03\%$ ($P < 0,05$) similar a TC50 ($P > 0,05$). Nas unidades de *C. muelleri* só foi verificada absorção no meio f/2, com $61 \pm 13\%$ (Figura 3C), sendo a menor taxa de absorção deste nutriente.

Mesmo em concentrações baixas de N-NO_3^- , as taxas de absorção não foram muito elevadas, provavelmente limitadas pela falta de fósforo. O mesmo resultado foi verificado por da Costa et al. (2004)

onde a *T. chuii* assimilou 86,40% de nitrato no tratamento com 30% efluente doméstico diluído em água como meio de cultura.

A limitação de um nutriente modifica a taxa de absorção dos outros (Oh and Rhee, 1991). Em ocasiões que o ortofosfato foi encontrado ou fornecido em elevadas concentrações (Lee and Lee, 2002) verificaram redução de 140 mg L^{-1} de N-NO_3 para menos de 2 mg L^{-1} em efluentes utilizados como meio de cultura para *Chlorella kessleri*. Wang e Lan (2011) utilizando *Neochloris oleoabundans* em efluente artificial preparado com concentrações de 40 mg L^{-1} até 218 mg L^{-1} de N-NO_3 verificaram 100% de assimilação, variando somente o tempo de 48 horas para o menos concentrado, para 144 horas para o mais concentrado. A maior concentração retirada foi registrada por An et al. (2003) cultivando *Botryococcus braunii*, onde verificaram o consumo completo de 510 e 620 mg L^{-1} de N-NO_3 após 10 dias de cultivo em batelada utilizando água residuária da suinocultura.

As concentrações de nitrogênio amoniacal e nitrito foram pequenas, não apresentando diferença significativa ($P > 0,05$) (Figura 1A, 2A, 3A). Única exceção para o tratamento TCf/2, o qual apresentou elevação na concentração de nitrogênio amoniacal a partir do dia 4, sendo expressivo nos dias 8 e 10 ($P < 0,05$) atingindo concentrações de $6,55 \pm 3,61$ e $5,10 \pm 1,70 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente (Figura 1A).

A exsudação de matéria orgânica dissolvida (DOM) na forma de amino ácidos livres, mono e polipeptídios e ácidos orgânicos, durante a fotossíntese das microalgas (Muniz, 1998; Myklestad, 1995; Puddu et al., 2003) pode ser o motivo da elevação da concentração de nitrogênio amoniacal nos dias finais de cultivo em TCf/2 e inóculos produzidos em meio f/2. Estes compostos são chamados de substrato direto e são rapidamente utilizáveis pelas bactérias, penetrando na célula e controlando o rendimento bacteriano (Rogers, 1961 apud Chróst, 1991). Já outros compostos como a matéria orgânica polimerizada e compostos húmicos precisam passar por hidrólise enzimática através de enzimas livres excretadas por bactérias heterotróficas (Chróst, 1991; Muniz, 1998). Os meios de cultura provenientes da água de reuso, possivelmente possuíam colônias de bactérias vindas do tanque de cultivo e resistentes ao tratamento com hipoclorito de sódio. Estas podem ter assimilado rapidamente os compostos exsudados não transformando-o em nitrogênio amoniacal, fazendo com que não fossem verificados pelas análises executadas. A não verificação do aumento de nitrogênio amoniacal em NOf/2 e CMf/2 pode estar relacionada a fatores fisiológicos inerentes a cada espécie estudada (Myklestad, 1995).

Para que estas características sejam comprovadas, recomenda-se para os próximos trabalhos a coleta de amostras de água do ponto inicial e final das culturas e posteriormente analisadas quanto as bactérias totais. O DOM é responsável pelo aumento do número de bactérias (Hulatt and Thomas, 2010; Myklesstad, 1995; Puddu et al., 2003) e se este crescimento for verificado, pode fundamentar a hipótese levantada neste trabalho.

3.2 Ganho de biomassa

A biomassa final (BF), biomassa relativa (BR) e dia de densidade celular máxima (DCM) apresentaram diferença significativa entre as espécies testadas (Tabela 1). A espécie *T. chuii* teve melhor desempenho em todos os parâmetros de produção, seguida por *N. oculata* e *C. muelleri* ($P < 0,05$).

Os meios de cultura, mesmo apresentando concentrações distintas nos nutrientes, não influenciaram na biomassa produzida durante o cultivo de *T. chuii* e *N. oculata*. Provavelmente o crescimento foi limitado pela assimilação do fósforo em apenas dois dias em todas as unidades. Ele é essencial na fotossíntese e ganho de biomassa das microalgas, convertendo energia solar em energia bioquímica (Patel et al., 2012).

Foi encontrado diferença significativa entre as repetições no tempo em BI, BF e BR, onde foi verificado aumento na biomassa relativa entre elas, sendo a 3ª maior do que a 1ª (Tabela 1). O maior ganho de biomassa pode ser resultado da menor variação do pH no ultimo ciclo de produção com média próxima a 8 como o recomendado por (Coutteau, 1996) e verificado como ótimo para espécies marinhas por Goldman et al. (1982).

Tabela 1. Média \pm desvio padrão da biomassa inicial (BI), biomassa final (BF), biomassa relativa (BR) e dia de Densidade Celular Máxima (DCM) no cultivo de *T. chuii* (TC), *N. oculata* (NO) e *C. muelleri* (CM) nos meios de cultura f/2 (f/2), 50% (50) e 100% água de reuso (100) do cultivo intensivo de *L. vannamei* em bioflocos.

Tratamento	BI (mg L ⁻¹)	BF (mg L ⁻¹)	BR (mg L ⁻¹)	DCM (dia)
Esp. x M. de Cult. (N=3)	(NS)	(*)	(*)	(*)
TCf/2	121 \pm 49	713 \pm 145a	592 \pm 149a	9,0 \pm 1,0a
TC50	108 \pm 58	653 \pm 42a	545 \pm 74a	8,3 \pm 1,5a
TC100	111 \pm 69	702 \pm 120a	591 \pm 132a	8,7 \pm 1,2a
NOf/2	108 \pm 33	587 \pm 126a	480 \pm 94a	8,7 \pm 0,6a
NO50	118 \pm 65	575 \pm 122a	457 \pm 86a	8,3 \pm 1,5a
NO100	104 \pm 54	589 \pm 89a	485 \pm 114a	9,0 \pm 1,0a
CMf/2	124 \pm 24	284 \pm 39b	165 \pm 35b	5,0 \pm 0,0b
CM50	112 \pm 22	185 \pm 26c	73 \pm 10c	4,3 \pm 1,5b
CM100	111 \pm 16	170 \pm 30c	59 \pm 36c	4,0 \pm 1,0b
Espécie (N=9)	(NS)	(*)	(*)	(*)
TC	114 \pm 52	690 \pm 100a	576 \pm 109a	8,7 \pm 1,0a
NO	110 \pm 46	584 \pm 99b	474 \pm 87b	8,8 \pm 1,3a
CM	116 \pm 19	213 \pm 61c	99 \pm 56c	4,4 \pm 1,1b
M. de cultura (N=9)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
f/2	118 \pm 33	528 \pm 215	412 \pm 212	7,6 \pm 1,9
50	113 \pm 45	471 \pm 227	358 \pm 224	7,0 \pm 2,5
100	109 \pm 44	487 \pm 255	378 \pm 260	7,3 \pm 2,8
Blocos (N=9)	(*)	(*)	(*)	(NS)
1	154 \pm 22a	466 \pm 197b	311 \pm 182b	6,9 \pm 2,7
2	68 \pm 68c	445 \pm 200b	377 \pm 223ab	7,9 \pm 3,0
3	123 \pm 16b	576 \pm 273a	453 \pm 267a	7,1 \pm 1,0

NS: não significativo ($P > 0,05$). *: significativo ($P < 0,05$). Letras distintas na mesma coluna demonstram diferença significativa ($P < 0,05$) verificados com teste ANOVA fatorial em blocos e Tukey para separação de médias.

Nas unidades de *C. muelleri* o meio f/2 com sílica teve maior biomassa final e biomassa relativa do que as unidades com água de reuso sem adição deste mineral. ($P < 0,05$) (Tabela 1). A sílica é um nutriente essencial para o crescimento das diatomáceas (Lewin, 1955 apud Laing, 1985) e está diretamente relacionado à taxa de crescimento e divisão celular deste grupo (Holmes, 1966; Laing, 1985).

Para o emprego de águas residuárias como meio de cultura para espécies de diatomáceas são necessários mais estudos para verificar o custo da adição de silicato de sódio e se efetivamente aumentam a taxa de crescimento e produtividade deste meio de cultura. Uma alternativa a adição de silicatos seria utilizar neste meio de cultura espécies sílico facultativas, como a *Phaeodactylum tricorutum*, que possui bom potencial biotecnológico e coprodutos de alto valor agregado.

Mesmo com desempenho sendo muito inferior ao apresentado pelas outras espécies testadas, a média dos resultados obtidos com *C. muelleri* não influenciou na comparação entre o ganho de biomassa (BR) e biomassa final (BF) proporcionado pelos diferentes meios de cultura. Excluindo os valores relativos a CM foram encontradas médias de 650 ± 140 ; 614 ± 92 e $646 \pm 113 \text{ mg L}^{-1}$ para f/2, 50 e 100% em BF e 536 ± 127 ; 501 ± 86 e $538 \pm 125 \text{ mg L}^{-1}$ para BR. Os valores são superiores aos demonstrados na tabela 1, mas sem diferença significativa entre si ($P > 0,05$).

4 Conclusão

A água residuária do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos pode ser uma boa alternativa para produção de biomassa de *Tetraselmis chuii* e *Nannochloropsis oculata*. Estas apresentaram ganho de biomassa igual ao cultivo com meio f/2 e assimilaram 100% de ortofosfato e mais de 83% do nitrato melhorando as características químicas para o posterior reuso ou descarte do efluente.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro na execução deste trabalho, a toda equipe do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) e do Laboratório de Cultivos de Algas (LCA) pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

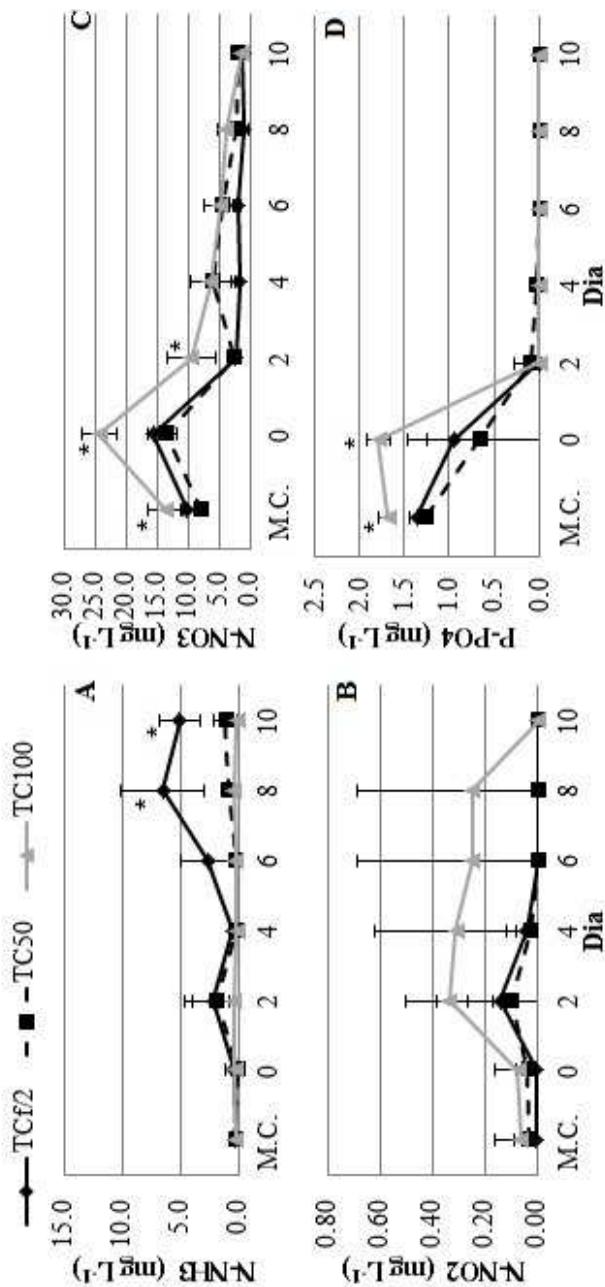


Figura 1. Consumo dos nutrientes dissolvidos nos meio f/2 (TCf2), 50% água de reuso (TC50) e 100% água de reuso (TC100) durante o cultivo de *T. chuii*. * demonstram diferença significativa ($P < 0,05$).

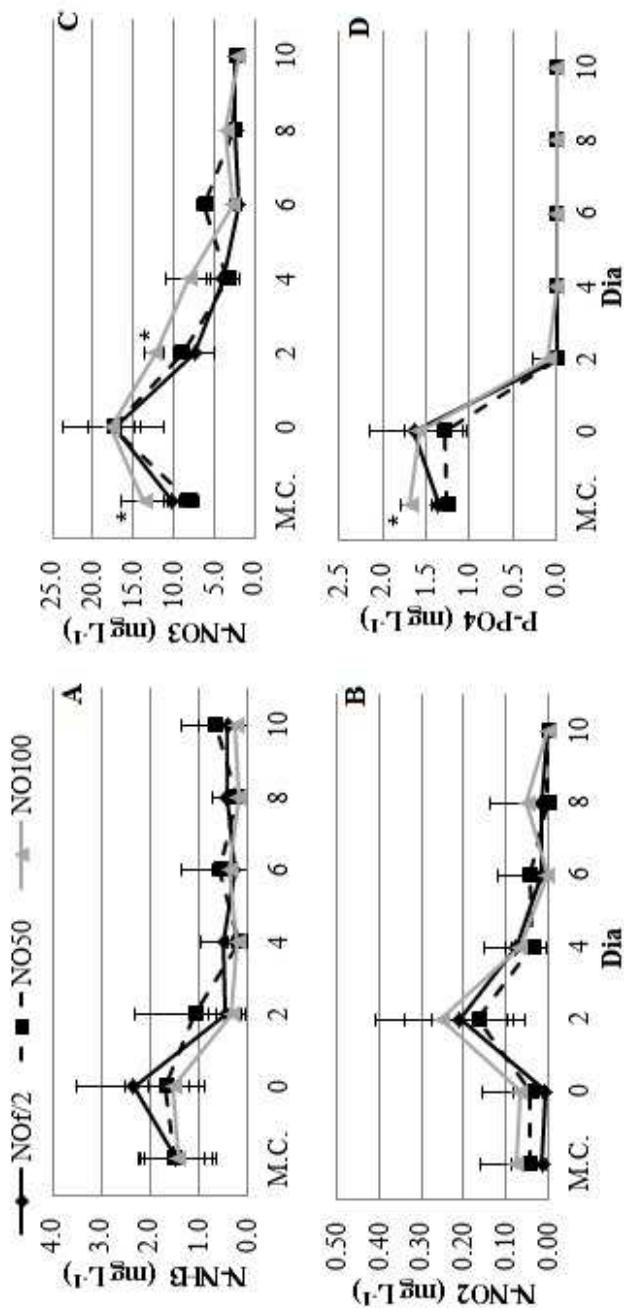


Figura 2. Consumo dos nutrientes dissolvidos nos meio f/2 (NOf/2), 50% água de reuso (NO50) e 100% água de reuso (NO100) durante o cultivo de *N. oculata*. * demonstram diferença significativa ($P < 0,05$).

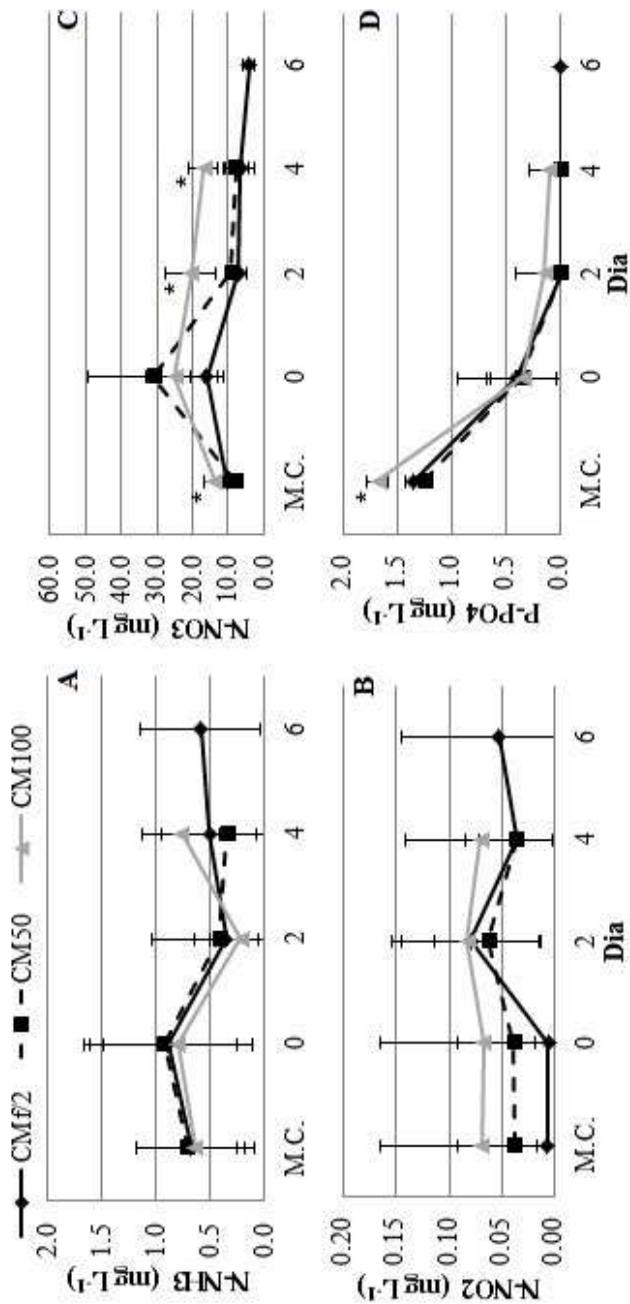


Figura 3. Consumo dos nutrientes dissolvidos nos meio f/2 (CMF2), 50% água de reuso (CM50) e 100% água de reuso (CM100) durante o cultivo de *C. muelleri*. * demonstram diferença significativa ($P < 0,05$).

6 Referências Bibliográficas

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A., Ibraheem, I.B.M., 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J Biol Sci* 19.
- Ahluwalia, S.S., Goyal, D., 2007. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource Technol* 98, 2243-2257.
- Alonso-Rodriguez, R., Paez-Osuna, F., 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219, 317-336.
- Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. *Manuel des analyses chimiques em milieu marin*. C.N.E.X.O, Brest
- An, J.Y., Sim, S.J., Lee, J.S., Kim, B.W., 2003. Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii*. *J Appl Phycol* 15, 185-191.
- APHA, 1976. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 14 ed. APHA - American Public Health Association, Washington, p. 1193.
- Aslan, S., Kapdan, I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecol Eng* 28, 64-70.
- Baloi, M., Arantes, R., Schweitzer, R., Magnotti, C., Vinatea, L., 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. *Aquacult Eng* 52, 39-44.
- Baumgarten, M.G.Z., Rocha, J.M.B., Niencheski, L.F.H., 1996. *Manual de análises de oceanografia química*. Editora da FURG, Rio Grande
- Bendschneider, K., Robison, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research* 11, 87-96.

Berge, T., Daugbjerg, N., Hansen, P.J., 2012. Isolation and cultivation of microalgae select for low growth rate and tolerance to high pH. *Harmful Algae* 20, 101-110.

Borges, M.T., Silva, P., Moreira, L., Soares, R., 2005. Integration of consumer-targeted microalgal production with marine fish effluent biofiltration - a strategy for mariculture sustainability. *J Appl Phycol* 17, 187-197.

Boyd, C., 1995. *Bottom soils, sediment, and pond aquaculture*. Chapman and Hall, New York.

Bratvold, D., Browdy, C.L., 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats (TM)) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture* 195, 81-94.

Chróst, R.J., 1991. Environmental Control of the Synthesis and Activity of Aquatic Microbial Ectoenzymes, in: Chróst, R.J. (Ed.), *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. Springer New York, pp. 29-59.

Coutteau, P., 1996. Micro Algae, in: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 7-30.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1-14.

Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquac Res* 41, 559-567.

da Costa, R.A.A.M., Koenig, M.L., de Macedo, S.J., 2004. Urban secondary sewage: an alternative medium for the culture of *Tetraselmis chunii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae). *Braz Arch Biol Techn* 47, 451-459.

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

Du Rant, E., Haveman, J., Brunson, J., Leffler, J., 2011. Waddell Mariculture Center Continues Research On Biofloc-Based Shrimp Culture. *Global Aquaculture Advocate*, 28-30.

Ebeling, J.M., Ogden, S.R., 2004. Application of chemical coagulation aids for the removal of suspended solids (TSS) and phosphorus from the microscreen effluent discharge of an intensive recirculating aquaculture system. *N Am J Aquacult* 66, 198-207.

Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346-358.

Goldman, J.C., Azov, Y., Riley, C.B., Dennett, M.R., 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. *J Exp Mar Biol Ecol* 57, 1-13.

Grasshoff, K.M., Ehrhardt, K., Kremling, K., 1983. *Methods of Seawater Analysis*, 2nd revised and extended edition ed. Weinheim; Verlag Chemie, Deerfield Beach, FL

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, in: Smith, W.L., Chanley, M.H. (Eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, pp. 26-60.

Hoffmann, J.P., 1998. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *J Phycol* 34, 757-763.

Holmes, R.W., 1966. Light Microscope Observations on Cytological Manifestations of Nitrate Phosphate and Silicate Deficiency in 4 Marine Centric Diatoms. *J Phycol* 2, 136-&.

Hulatt, C.J., Thomas, D.N., 2010. Dissolved organic matter (DOM) in microalgal photobioreactors: A potential loss in solar energy conversion? *Bioresource Technol* 101, 8690-8697.

Jung, I.S., Lovitt, R.W., 2010. Integrated production of long chain polyunsaturated fatty acids (PUFA)-rich *Schizochytrium* biomass using a nutrient supplemented marine aquaculture wastewater. *Aquacult Eng* 43, 51-61.

Koroleff, F., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *International Council for the Exploration of the Sea* 9, 19-22.

Krishna, A.R., Dev, L., V, T., 2012. An integrated process for Industrial effluent treatment and Biodiesel production using Microalgae. *Research in Biotechnology* 3, 47-60.

Laing, I., 1985. Growth-Response of *Chaetoceros-Calcitrans* (Bacillariophyceae) in Batch Culture to a Range of Initial Silica Concentrations. *Mar Biol* 85, 37-41.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Lee, K., Lee, C.G., 2002. Nitrogen removal from wastewaters by microalgae without consuming organic carbon sources. *J Microbiol Biotechn* 12, 979-985.

Lewin, J.C., 1955. Silicon Metabolism in Diatoms .2. Sources of Silicon for Growth of *Navicula Pelliculosa*. *Plant Physiol* 30, 129-134.

Martinez, M.E., Sanchez, S., Jimenez, J.M., El Yousfi, F., Munoz, L., 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technol* 73, 263-272.

Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sust Energ Rev* 14, 217-232.

Muniz, K., 1998. Estudo da degradação da matéria orgânica nitrogenada reciclada. Elaboração de um modelo matemático para o mediterrâneo ocidental. *Tropical Oceanography* 26, 1-12.

Myklestad, S.M., 1995. Release of Extracellular Products by Phytoplankton with Special Emphasis on Polysaccharides. *Sci Total Environ* 165, 155-164.

Neal, R.S., Coyle, S.D., Tidwell, J.H., Boudreau, B.M., 2010. Evaluation of Stocking Density and Light Level on the Growth and

Survival of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Reared in Zero-Exchange Systems. *J World Aquacult Soc* 41, 533-544.

Noe, J.D.L., Pauw, N.D., 1988. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotechnology Advances* 6, 725-770.

Oh, H.M., Rhee, G.Y., 1991. A Comparative-Study of Microalgae Isolated from Flooded Rice Paddies - Light-Limited Growth, C-Fixation, Growth Efficiency and Relative-N and Relative-P Requirement. *J Appl Phycol* 3, 211-220.

Otoshi, C.A., Montgomery, A.D., Matsuda, E.M., Moss, S.M., 2006. Effects of artificial substrate and water source on growth of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J World Aquacult Soc* 37, 210-213.

Patel, A., Barrington, S., Lefsrud, M., 2012. Microalgae for phosphorus removal and biomass production: a six species screen for dual-purpose organisms. *Gcb Bioenergy* 4, 485-495.

Pittman, J.K., Dean, A.P., Osundeko, O., 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technol* 102, 17-25.

Puddu, A., Zoppini, A., Fazi, S., Rosati, M., Amalfitano, S., Magaletti, E., 2003. Bacterial uptake of DOM released from P-limited phytoplankton. *Fems Microbiol Ecol* 46, 257-268.

Ray, A.J., Dillon, K.S., Lotz, J.M., 2011. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. *Aquacult Eng* 45, 127-136.

Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L., Leffler, J.W., 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture* 299, 89-98.

Richmond, A., 2004. *Handbook of microalgal culture : biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science, Oxford, OX, UK ; Ames, Iowa, USA.

Rogers, H.J., 1961. The dissimilation of high molecular weight organic substrates, in: Gunsalus, I.C., Starrier, R.Y. (Eds.), *The Bacteria*. Academic Press, New York, pp. 261-318.

Schveitzer, R., Arantes, R., Baloi, M., Custódio, P.F., Vinatea, L., Seiffert, W., Andreatta, E.R., 2013. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacult Eng* 54, 93-103.

Tacon, A.G.J., Forster, I.P., 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture* 226, 181-189.

Varfolomeev, S.D., Wasserman, L.A., 2011. Microalgae as Source of Biofuel, Food, Fodder, and Medicines. *Appl Biochem Micro+* 47, 789-807.

Viadero, R.C., Cunningham, J.H., Semmens, K.J., Tierney, A.E., 2005. Effluent and production impacts of flow-through aquaculture operations in West Virginia. *Aquacult Eng* 33, 258-270.

Vinatea, L., 2010. *Qualidade de água em aquicultura: princípios e práticas*, 3 ed. Editora UFSC, Florianópolis.

Vinatea, L., Galvez, A.O., Browdy, C.L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B.L., Lawson, A., Shuler, A., Leffler, J.W., 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacult Eng* 42, 17-24.

Wang, B., Lan, C.Q., 2011. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. *Bioresour Technol* 102, 5639-5644.

Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396-403.

Webb, J.M., Quinta, R., Papadimitriou, S., Norman, L., Rigby, M., Thomas, D.N., Le Vay, L., 2012. Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture. *Water Res* 46, 5102-5114.

Artigo 2 : Emprego da água residuária do cultivo de camarão marinho em sistema BFT 2: produção de biomassa de *Artemia franciscana* alimentadas com microalgas cultivadas em água de reuso

Caio Magnotti; Rafael Lopes; Roberto Derner; Luis Vinatea*

Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Laboratório de Camarões Marinhos, Florianópolis, SC, CEP 88062-601, Brasil.

*autor correspondente: Tel.: +55 48 3231 3400

E-mail: vinatea@mbox1.ufsc.br (L. Vinatea)

Resumo

Efluentes de sistemas intensivos de produção aquícola podem ser utilizados em cultivos multitróficos integrados, sendo alternativa para o emprego da água residuária de produção intensiva em bioflocos. Nesse trabalho, *Artemia franciscana* foi alimentada com 10 mg L⁻¹ de *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata* e *Chaetoceros muelleri*, produzidas utilizando a água residuária de um cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos, como meio de cultura. Teve objetivo de verificar qual espécie proporciona melhor desempenho zootécnico e melhor eficiência na produção de biomassa do microcrustáceo. Após 12 dias de cultivo foi produzida biomassa úmida de 815,64 ± 18,74, 650,81 ± 83,98 e 40,76 ± 4,08 mg L⁻¹ com *C. muelleri*, *T. chuii* e *N. oculata* (P<0,05), as diferenças significativas se mantiveram para biomassa seca (mg L⁻¹). *T. chuii* e *C. muelleri* foram iguais nos demais parâmetros (P>0,05). No entanto as culturas de *T. chuii* apresentaram maior ganho de biomassa seca (g L⁻¹) quando cultivada na água residuária, sendo mais eficiente na produção de biomassa das Artêmias com 0,83 L contra 1,54 L g art⁻¹ em *C. muelleri*. Desta maneira, *C. muelleri* é recomendada para alimentação de *A. franciscana* com finalidade de produção de biomassa. Mas, devido a maior eficiência, *T. chuii* pode ser escolhida para fazer parte de um sistema multitrófico, integrando a produção de *L. vannamei* em bioflocos, microalga e *A. franciscana*.

Palavras-chave: Multitrófico, água de reuso, biomassa, microalgas

1 Introdução

O cultivo multitrófico Integrado incorpora espécies de diferentes níveis tróficos, permitindo a transformação de nutrientes sólidos ou solúveis em biomassa (Soto, 2009). O efluente dos sistemas intensivos de produção aquícola apresentam bom potencial para ser empregados em cultivos de outros organismos (Attasat et al., 2013; Borges et al., 2005; Jones et al., 2002; Neori et al., 2004; Webb et al., 2012).

Dentre estes sistemas se destaca o cultivo superintensivo de camarões penéideos em bioflocos (Crab et al., 2007; De Schryver et al., 2008). A tecnologia é baseada na mínima renovação de água, recebendo grande aporte de matéria orgânica na forma de restos de alimento, fertilizantes e produtos de excreção, resultando em um efluente rico em nutrientes com grande potencial de eutrofização dos corpos d'água. (Alonso-Rodriguez and Paez-Osuna, 2003; Tacon and Forster, 2003; Viadero et al., 2005).

A água residuária destes cultivos já é utilizado como meio de cultura alternativo para a produção de biomassa de microalga (Attasat et al., 2013; Borges et al., 2005; Chen et al., 2012). Sua biomassa possui grande potencial biotecnológico (Krishna et al., 2012; Mata et al., 2010; Noue and Pauw, 1988; Varfolomeev and Wasserman, 2011) além de ser fonte de alimento imprescindível no cultivo de diversos organismos aquáticos, principalmente em sistemas de larvicultura de camarões penéideos, de moluscos bivalves e de peixes marinhos (Duerr et al., 1998; Lavens and Sorgeloos, 1996).

A utilização de *Artemia* sp. no tratamento de águas residuárias também deve ser considerada, devido a sua alta capacidade de filtração (Basil et al., 1995). São filtradores não seletivos e fagotróficos obrigatórios (Sorgeloos et al., 1980) alimentando-se principalmente das microalgas presentes nos ambientes naturais hipersalinos, de detritos ricos em bactérias (Intriago and Jones, 1993) ou outros alimentos microparticulados (Lavens and Sorgeloos, 1996; Sorgeloos et al., 1980).

Wang (2003) descreveu um cultivo multitrófico com tanques de produção intensiva de camarões marinhos, microalgas, moluscos ou artêmias. Porém a funcionalidade de sistemas integrados é complexa, devido as exigências dos organismos, influências da qualidade da água, e estratégia de despesca (Neori et al., 2004). Para aumentar a viabilidade do sistema, a escolha das espécies cultivadas deve ser feita com muito cuidado, visando a melhor produtividade e eficiência na produção (Barrington et al., 2009).

Neste experimento artêmias foram alimentadas com *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* e *Chaetoceros muelleri*, produzidas utilizando água residuária do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos como meio de cultura. Teve objetivo de verificar qual alimentação proporciona melhor desempenho zootécnico e possui melhor eficiência na produção de biomassa de artêmias, com finalidade de fazer parte de um sistema multitrófico integrado.

2 Material e métodos

2.1 Desenho experimental

Foram utilizados 9 unidades de polietilentreftalato (PET) transparente com 3 L de volume útil nos dias 0-5 e 2,5 L nos dias 6-12. Fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas escuro, 2000 LUX, gerada por uma lâmpadas HQI 70 W e 14000 k posicionada a 2 m de altura. Aeração feita por injeção de ar via pedra porosa, conectada a um compressor de ar de capacidade igual a 40 Lh⁻¹. As culturas foram mantidas em banho de imersão a 26 ± 1 °C controlados por termostato digital e aquecedor de 500W.

O experimento foi dividido em 3 tratamentos de acordo com a microalga fornecida como alimento para as artêmias. TCH - *Tetraselmis chuii*, NOC – *Nannochloropsis oculata* e CMU – *Chaetoceros muelleri*. 10 mg L⁻¹ de biomassa de microalgas foram fornecidas diariamente para cada unidade experimental. Os cistos de *Artemia franciscana*, originadas do Great Salt Lake, UT, EUA (INVE Aquaculture, Bélgica) foram hidratados, decapsulados e coletados de acordo a Lavens e Sorgeloos (1996). Posteriormente os náuplios foram transferidos para as unidades experimentais na densidade de 1,4 náuplios mL⁻¹.

2.2 Coleta e desinfecção da água de reuso e água marinha

A água de reuso foi coletada com um recipiente plástico de 15 L de um tanque circular de fibra de vidro de oito metros de diâmetro, 50 m² de área de fundo e volume de trabalho de 48 m³ onde são cultivados camarões marinhos *L. vannamei* em sistema intensivo de bioflocos. Este não teve renovação parcial por 3 meses antes do experimento e estava povoado por camarões de 18-19 g com densidade média de 1,5 kg m⁻². Durante o período o volume de Sólidos Suspensos Totais (SST) foi mantido entre 400 e 600 mg L⁻¹ por meio de um decantador cilindro cônico. Após a coleta a água foi submetida à sedimentação dos sólidos durante 15 min, dupla filtração da porção sobrenadante por meio de

bombeamento e filtro de cartucho 1 μm , depois foi clorada com 0,020 ppm NaClO durante 1,5 horas e desclorada com tiosulfato de sódio 0,025 ppm.

A água marinha foi bombeada da praia do Moçambique, Florianópolis - SC, Brasil. Passou por filtração em bolsa de tecido geotêxtil de 125 μm e foi submetida ao mesmo procedimento de purificação e desinfecção da água residuária.

2.3 Produção e divisão do Inóculo

Os inóculos das microalgas foram cultivados em meio de cultura f/2 (Guillard, 1975) autoclavado, com fotoperíodo de 24 horas luz, com irradiância de 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ geradas por duas lâmpadas fluorescentes tubulares de 40 W e 5000 K. Foram mantidos a 22 ± 1 °C, controlando a temperatura da sala com ar condicionado. As culturas foram iniciadas sem aeração e transferidas para volumes maiores a cada três dias. Esta etapa foi realizada em Erlenmeyers de 500 mL, posteriormente repicados para Erlenmeyers 1 L. Depois de mais três dias, foram inoculadas em Erlenmeyers de 2 L com aeração e CO₂ a 0,5 %. Posteriormente transferidas para recipientes cilíndricos de vidro transparente com volume útil de 4,5 L. O meio de cultura nesta etapa foi água de reuso do tanque dos camarões produzidos de forma intensiva em sistema de bioflocos. A água residuária utilizada para os cultivos de *C. muelleri* foi enriquecida com 80 mg L⁻¹ de silicato de sódio.

A cada 24 horas foram coletadas amostras das culturas para verificação da turbidez (NTU) por meio de um turbidímetro com comprimento de onda de 860 nm. Estes valores foram usados para calcular o volume a ser retirado para alimentar as artêmias com 10 mg L⁻¹ de microalgas. Para o cálculo utilizou-se uma curva de calibração de turbidez (NTU) x biomassa (mg L⁻¹) previamente elaborada, com R²= 0,982; 0,964 e 0,951 para as espécies *T. chuii*, *N. oculata* e *C. muelleri*.

As culturas destinadas à alimentação dos microcrustáceos foram utilizadas em sua fase exponencial de crescimento, correspondente ao dia 1-4. No dia 5 foram descartadas e substituídas por novas linhas de produção.

2.4 Acompanhamento dos cultivos e análise de produtividade

Os tratamentos foram avaliados diariamente verificando a sobrevivência e estimativa da população de cada unidade. Para isso, 5 amostras de 10 mL de cada unidade foram contadas e calculada a média. As coletas e contagens foram realizadas desligando a aeração,

homogeneizando e succionando a água com tubo de vidro, com diâmetro interno de 0,5 cm e marcação de volume igual a 10 mL. O tubo foi lavado com água doce sempre que utilizado evitando contaminação das unidades. A cada três dias foram coletados 20 indivíduos e fixados em solução de lugol 5% para verificar o comprimento total e identificação do estágio instar (Schrehardt, 1987). Foi considerado comprimento total a medida do topo da cabeça ao fim do abdômen para os náuplios e adultos, medidos com uma escala métrica acoplada à ocular de uma lupa estereoscópica.

A cada seis dias foi realizada análise de peso seco individual ($\mu\text{g art}^{-1}$) e biomassa seca (mg L^{-1}) por filtração das amostras com filtro de fibra de vidro com porosidade 1,6 μm , seco em estufa a 50°C até peso constante. Para esta análise, no dia 0 foi coletado 20 mL de amostra após a despesca. No dia 6, 500 mL foram retirados de cada unidade experimental e no dia 12 filtrou-se o volume total das unidades (2,5 L). Antes da filtração em filtro de poro 1,6 μm as artêmias foram lavadas com água doce e filtradas com tela de 100 μm nos dias 0 e 6 e tela de 350 μm no dia 12, com finalidade de lixiviar o sal e sólidos residuais. Com estes resultados foi possível calcular o ganho de peso individual (GPI) ($\mu\text{g art dia}^{-1}$).

No dia 12 os filtros foram umidificados, previamente pesados usando balança digital de 4 casas decimais. Posteriormente foram pesados com as artêmias, obtendo a biomassa úmida.

Diariamente as artêmias foram concentradas e lavadas para retirar sólidos residuais, utilizado malha de 100 μm do dia 0-5 e tela de 350 μm do dia 6-12. Durante o procedimento 100% da água das unidades foi substituída com água marinha tratada para manter a baixa concentração de compostos nitrogenados e fósforo, retirar células de microalgas residuais e fezes.

2.5 Análise estatística

A Homocedasticidade foi verificada com teste de Levene e a normalidade com Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para as diferenças significativas verificadas foi utilizado o teste de Tukey, ambos com índice de significância de $P < 0,05$. Os valores de sobrevivência foram previamente transformados para arco-seno ($y^{0,5}$) mas apresentados em forma de porcentagem. Foi utilizado o software Statistica 7.0 para a aplicação dos testes.

3 Resultados e discussão

A taxa de sobrevivência não apresentou diferenças significativas ($P>0,05$) até o 6º dia de cultivo entre os tratamentos. Após o 7º dia a sobrevivência foi menor em NOC ($P<0,05$), diminuindo gradualmente, atingindo valores mínimos de $20 \pm 5,77\%$ no 12º dia (Figura 1). Seixas et al. (2009) avaliou por 8 dias o crescimento e a sobrevivência de Artêmias alimentadas com *Rhodomonas lens*, *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis gaditana* e verificou resultados semelhantes com $18 \pm 3\%$ de sobrevivência com *N. gaditana* e entre 69 a 88% para as outras espécies.

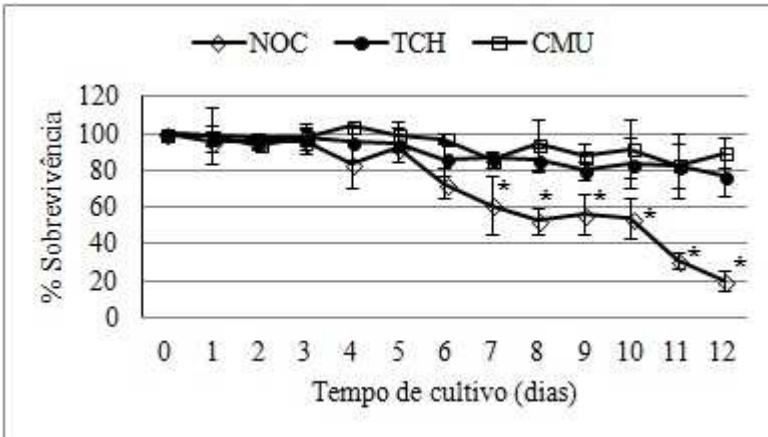


Figura 4. Sobrevivência (%) de *A. franciscana* alimentadas com *N. oculata* (NOC), *T. chuii* (TCH), *C. muelleri* (CMU) durante cultivo de 12 dias. * apontam diferença significativa ($P<0,05$) verificados com ANOVA e Tukey.

As Artêmias alimentadas com *N. oculata* apresentaram resultados inferiores em todos os parâmetros analisados (Tabela 1) ($P<0,05$). TCH e CMU se diferenciaram em biomassa seca e úmida somente no dia 12 (Tabela 1), onde os indivíduos alimentados com *C. muelleri* apresentaram melhor desempenho ($P<0,05$).

Em TCH e CMU foram encontrados a maioria dos indivíduos no nível L13 do estágio de desenvolvimento instar. De acordo com Schrehardt (1987) estes são denominados Pós larva estágio 1. Em NOC a maioria dos indivíduos apresentavam nível L7, caracteriza como Pós

Metanúplio 2, com heterogeneidade e presença de indivíduos em estágio Pós Metanúplio 1 (L6) a Pós Metanúplio 10 (L10)(Figura2).

Tabela 2. Médias \pm desvio padrão do peso seco individual (PSI), ganho de peso individual diário (GPI) biomassa seca e biomassa úmida de *A. franciscana* alimentadas com *N. oculata* (NOC), *T. chuii* (TCH), *C. muelleri* (CMU) nos dias 0, 6 e 12 de cultivo.

	Dia	NOC	TCH	CMU
PSI ($\mu\text{g art}^{-1}$)	0	2,69	2,69	2,69
	6	5,38 \pm 0,51b	25,91 \pm 2,26a	24,26 \pm 2,36a
	12	21,65 \pm 3,61b	37,86 \pm 3,35a	44,85 \pm 4,41a
GPI ($\mu\text{g dia}^{-1}$)	[0, 12]	1,58 \pm 0,30b	2,93 \pm 0,28a	3,51 \pm 0,37a
Bio. Seca (mg L^{-1})	0	11,31	11,31	11,31
	6	5,47 \pm 0,23b	31,13 \pm 0,95a	32,93 \pm 2,39a
	12	6,00 \pm 1,22c	40,69 \pm 3,63b	55,81 \pm 1,08a
Bio. úmida (mg L^{-1})	12	40,76 \pm 4,08c	650,81 \pm 83,98b	815,64 \pm 18,74a

Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes apontam diferença significativa ($P < 0,05$) verificadas com teste ANOVA e Tukey.

A diferença entre os níveis de desenvolvimento influenciam diretamente no comprimento total. Desta forma, o comprimento total médio de NOC no dia 12 foi de $2,5 \pm 0,3$ mm ($P < 0,05$) enquanto em TCH e CMU a média foi próxima a 4 mm ($P > 0,05$) (Figura 2). A última média é semelhante a encontrada por Naegel (1999) após 11 dias fornecendo *Chaetoceros* sp. como alimento. Seixas et al. (2009) também encontrou comprimento total de 4,3 mm em artêmias alimentadas por 8 dias com *Tetraselmis suecica* e de 1,5 mm com *Nannochloropsis gaditana*.

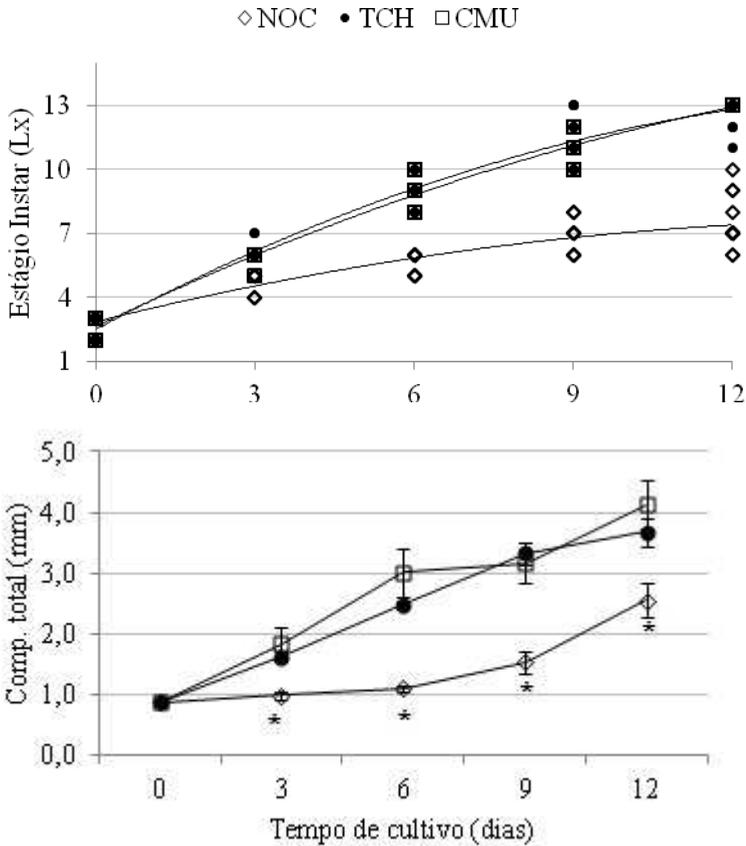


Figura 5. Estágio de desenvolvimento (SCHREHARDT, 1987) e comprimento total das artêmias submetidas aos tratamentos NOC (\diamond), TCH (\bullet) e CMU (\square) durante cultivo de 12 dias. * aponta diferença significativa ($P < 0,05$) verificado com ANOVA e Tukey.

Nas observações (dia 3, 6, 9 e 12) as artêmias de todos os tratamentos apresentavam trato digestório cheio de microalgas, mas mesmo assim os indivíduos de NOC tiveram lento desenvolvimento e baixa sobrevivência.

Já foi observado que microalgas de tamanho grande propiciam melhores resultados de crescimento nas Artêmias (Seixas et al., 2009). Mesmo com capacidade de filtração de partículas entre 1 e 50 μm (D'Agostino, 1980) outros estudos demonstraram que intervalo entre 7 e

28 μm são preferidos, com tamanho ótimo de 16 μm (Fernandez, 2001). A espécie *T. chuii* possui comprimento médio de 12 μm e largura média de 8 μm , e *C. muelleri* com comprimento médio de 5,33 e largura média de 3,15 (Ohse et al., 2008), desta forma, o pior desempenho da *N. oculata* pode estar ligado a sua menor digestibilidade, relacionada ao seu menor tamanho, com forma esférica de 2 μm (Ohse et al., 2008). O mesmo foi verificado por Seixas (2009) utilizando *Nannochloropsis gaditana* e descrito por Dhont e Lavens (1996) com *Chlorella* sp. e *Stichococcus* sp..

Durante os 12 dias de cultivo foram fornecidos aproximadamente 1,49 L de *T. chuii*, 1,75 L de *N. oculata* e 3,5 L de *C. muelleri* para cada unidade experimental. Estes dados são equivalentes ao volume de $0,83 \pm 0,11$, $15,67 \pm 1,65$ e $1,54 \pm 0,03$ L de cultura de microalgas para cada grama de artêmia produzida. Resultado demonstra que *T. chuii* foi duas vezes mais eficiente na produção de biomassa de artêmias do que *C. muelleri*.

As culturas de microalgas utilizadas para alimentação apresentaram biomassa final de 271 ± 32 mg L⁻¹ para *T. chuii*, 225 ± 14 mg L⁻¹ para *N. oculata* e 111 ± 17 mg L⁻¹ para *C. muelleri*. A maior biomassa final explica o pequeno volume de *T. chuii* necessário para o fornecimento de 10 mg L⁻¹ de microalgas por dia como alimentação durante o experimento. A diferença na produção de biomassa das três espécies de microalgas quando cultivadas em água residuária do cultivo em bioflocos também foi verificada por Magnotti et al. (não publicado) Estes autores as cultivaram por 10 dias, com a mesma metodologia e água residuária e obtiveram biomassa final de 702 ± 120 mg L⁻¹, 589 ± 89 mg L⁻¹ e 170 ± 30 mg L⁻¹ de *T. chuii*, *N. oculata* e *C. muelleri*, sendo a última sem adição de silicato de sódio. Devido ao pequeno ganho de biomassa, Magnotti et al. (não publicado) não recomendam a escolha de *C. muelleri* para cultivos usando água residuária do bioflocos sem adição de silicatos como meio de cultura.

Durante este experimento a produção de biomassa de *C. muelleri* também foi pequeno, mesmo com a adição de silicato de sódio. Desta forma, este resultado pode estar relacionado a outras características deste meio de cultura alternativo e não só a privação de silicato como discutido por Magnotti et al. (não publicado).

Para a escolha da espécie de microalga utilizada em um sistema multitrófico, deve-se levar em consideração todos os parâmetros de produção (Barrington et al., 2009). Os melhores resultados nos índices zootécnicos atingidos por artêmias alimentadas com *C. muelleri* são

minimizados quando verificados o grande volume de cultura de microalgas inserido nos tanques e as dificuldades existentes durante seu cultivo.

A eficiência do processo produtivo tem grande peso na escolha da espécie de microalga neste tipo de sistema. Com melhor eficiência, menos água residuária será necessária, produzindo mais biomassa de artêmias com menor custo de produção. Estes custos estão relacionados com o volume dos tanques, estrutura física, mão de obra e gastos com energia elétrica, e podem inviabilizar o processo.

A biomassa de Artêmia produzida também pode ser utilizada como alimento para os camarões cultivados nos tanques fornecedores da água residuária. Esta prática teria como finalidade suplementar a alimentação, diminuindo a entrada de ração industrializada e, consequentemente, na conversão alimentar e custos, tanto financeiros quanto ambientais. Para elucidar está hipótese, são necessários estudos sobre a composição centesimal das microalgas cultivadas nesta água residuária e das Artêmias alimentadas por elas. Somente com estes resultados será possível fundamentar a escolha das espécie introduzidas no sistema multitrófico, integrando o cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos, produção de biomassa de microalgas e produção de biomassa de *Artemia franciscana*.

4 Conclusão

As Artêmias apresentaram maior ganho de biomassa seca e úmida quando alimentadas com *C. muelleri* cultivada na água de reuso do cultivo intensivo de *L. vannamei* em bioflocos. Porém, *Tetraselmis chuii* apresentou maior biomassa final quando cultivada com água residuária fazendo necessário somente 0,83 L para produzir 1 g de Artêmia, contra 1,54 L da *C. muelleri*.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro na execução deste trabalho, a toda equipe do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) e do Laboratório de Cultivos de Algas (LCA) pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

6 Referências bibliográficas

Alonso-Rodriguez, R., Paez-Osuna, F., 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219, 317-336.

Attasat, S., Wanichpongpan, P., Ruenglerpanyakul, W., 2013. Cultivation of microalgae (*Oscillatoria okeni* and *Chlorella vulgaris*) using tilapia-pond effluent and a comparison of their biomass removal efficiency. *Water Sci Technol* 67, 271-277.

Barrington, K., Chopin, T., Robinson, S., 2009. Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine temperate waters, in: Soto, D. (Ed.), *Integrated mariculture: a global review*. FAO, Rome, pp. 7-46.

Basil, J.A., Nair, V.K.S., Thatheyus, A.J., 1995. Laboratory Studies on the Culture of the Brine Shrimp *Artemia* Using Organic Wastes. *Bioresource Technol* 51, 265-267.

Borges, M.T., Silva, P., Moreira, L., Soares, R., 2005. Integration of consumer-targeted microalgal production with marine fish effluent biofiltration - a strategy for mariculture sustainability. *J Appl Phycol* 17, 187-197.

Chen, S.Y., Pan, L.Y., Hong, M.J., Lee, A.C., 2012. The effects of temperature on the growth of and ammonia uptake by marine microalgae. *Bot Stud* 53, 125-133.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1-14.

D'Agostino, A.S., 1980. The vital requirements of *Artemia*: physiology and nutrition, in: Personne, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds.), *The Brine Shrimp Artemia. Physiology, Biodiversity, Molecular & Biology*,. Universa Press, Belgium, pp. 55-82.

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

Dhont, J., Lavens, P., 1996. Tank production and use of ongrown *Artemia*, in: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Ghent, Belgium.

Duerr, E.O., Molnar, A., Sato, V., 1998. Cultured microalgae as aquaculture feeds. *J Mar Biotechnol* 6, 65-70.

Fernandez, R.G., 2001. *Artemia* bioencapsulation I. Effect of particle sizes on the filtering behavior of *Artemia franciscana*. *J Crustacean Biol* 21, 435-442.

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, in: Smith, W.L., Chanley, M.H. (Eds.), Culture of marine invertebrate animals. Plenum Book Publ. Corp, New York, pp. 26-60.

Intriago, P., Jones, D.A., 1993. Bacteria as Food for *Artemia*. *Aquaculture* 113, 115-127.

Jones, A.B., Preston, N.P., Dennison, W.C., 2002. The efficiency and condition of oysters and macroalgae used as biological filters of shrimp pond effluent. *Aquac Res* 33, 1-19.

Krishna, A.R., Dev, L., V, T., 2012. An integrated process for Industrial effluent treatment and Biodiesel production using Microalgae. *Research in Biotechnology* 3, 47-60.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sust Energ Rev* 14, 217-232.

Naegel, L.C.A., 1999. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae *Chaetoceros*. *Aquacult Eng* 21, 49-59.

Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A.H., Kraemer, G.P., Halling, C., Shpigel, M., Yarish, C., 2004. Integrated aquaculture:

- rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture* 231, 361-391.
- Noe, J.D.L., Pauw, N.D., 1988. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotechnology Advances* 6, 725-770.
- Ohse, S., Derner, R.B., Ozório, R., Braga, M.V.D., Cunha, P., Iamarca, C.P., dos Santos, M.E., 2008. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. *Biotemas*, 7-18.
- Schrehardt, A., 1987. A scanning electron microscope study of the post-embryonic development of *Artemia*, in: Sorgeloos, P., Bengston, D.A., Decler, W., Jaspers, E. (Eds.), *Artemia research and its applications*, Belgium, pp. 5-32.
- Seixas, P., Coutinho, P., Ferreira, M., Otero, A., 2009. Nutritional value of the cryptophyte *Rhodomonas lens* for *Artemia* sp. *J Exp Mar Biol Ecol* 381, 1-9.
- Sorgeloos, P., Baezamesa, M., Bossuyt, E., Bruggeman, E., Dobbeleir, J., Versichele, D., Lavina, E., Bernardino, A., 1980. Culture of *Artemia* on Rice Bran - the Conversion of a Waste-Product into Highly Nutritive Animal Protein. *Aquaculture* 21, 393-396.
- Soto, D., 2009. Integrated mariculture: A global review, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. FAO Fisheries and Aquaculture Department, p. 183.
- Tacon, A.G.J., Forster, I.P., 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture* 226, 181-189.
- Varfolomeev, S.D., Wasserman, L.A., 2011. Microalgae as Source of Biofuel, Food, Fodder, and Medicines. *Appl Biochem Micro+* 47, 789-807.
- Viadero, R.C., Cunningham, J.H., Semmens, K.J., Tierney, A.E., 2005. Effluent and production impacts of flow-through aquaculture operations in West Virginia. *Aquacult Eng* 33, 258-270.
- Wang, J.K., 2003. Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system. *Aquacult Eng* 28, 37-46.

Webb, J.M., Quinta, R., Papadimitriou, S., Norman, L., Rigby, M., Thomas, D.N., Le Vay, L., 2012. Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture. *Water Res* 46, 5102-5114.

2 Conclusão geral

A água residuária do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em bioflocos pode ser uma boa alternativa para produção de biomassa de *Tetraselmis chuii* e *Nannochloropsis oculata*. Estas apresentaram ganho de biomassa igual ao cultivo com meio f/2 e assimilaram 100% de ortofosfato e mais de 83% do nitrato melhorando as características químicas para o posterior reuso ou descarte do efluente.

As artêmias apresentaram maior ganho de biomassa seca e úmida quando alimentadas com *Chaetoceros muelleri* cultivada na água de reuso do cultivo intensivo de *L. vannamei* em bioflocos. Porém, *Tetraselmis chuii* apresentou maior biomassa final quando cultivada com água residuária fazendo necessário somente 0,83 L para produzir 1 g de Artemia, contra 1,54 L da *C. muelleri*.

3 Referências introdução

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, Jul 2012. ISSN 1319-562X. Disponível em: <<Go to ISI>://000306010700001 >.

AHLUWALIA, S. S.; GOYAL, D. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 12, p. 2243-2257, Sep 2007. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<Go to ISI>://000246350000001 >.

ALONSO-RODRIGUEZ, R.; PAEZ-OSUNA, F. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture**, v. 219, n. 1-4, p. 317-336, Apr 2 2003. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000181802700024 >.

AN, J. Y. et al. Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii*. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, n. 2-3, p. 185-191, Mar-Jun 2003. ISSN 0921-8971. Disponível em: <<Go to ISI>://000183045600014 >.

ATTASAT, S.; WANICHPONGPAN, P.; RUENGLERTPANYAKUL, W. Cultivation of microalgae (*Oscillatoria okeni* and *Chlorella vulgaris*) using tilapia-pond effluent and a comparison of their biomass removal efficiency. **Water Science and Technology**, v. 67, n. 2, p. 271-277, 2013. ISSN 0273-1223. Disponível em: <<Go to ISI>://000313397500005 >.

AVNIMELECH, Y. Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 176, n. 3-4, p. 227-235, Jun 15 1999. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000080814400004 >.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 140-147, Apr 6 2007. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000245659900018 >.

BALOI, M. et al. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. **Aquacultural Engineering**, v. 52, p. 39-44, Jan 2013. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000313603500004 >.

BARRINGTON, K.; CHOPIN, T.; ROBINSON, S. Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine temperate waters. In: SOTO, D. (Ed.). **Integrated mariculture: a global review**. Rome: FAO, v.529, 2009. p.7-46. (FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper).

BASIL, J. A.; NAIR, V. K. S.; THATHEYUS, A. J. Laboratory Studies on the Culture of the Brine Shrimp *Artemia* Using Organic Wastes. **Bioresource Technology**, v. 51, n. 2-3, p. 265-267, 1995. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<Go to ISI>://A1995QX60300025 >.

BORGES, M. T. et al. Integration of consumer-targeted microalgal production with marine fish effluent biofiltration - a strategy for mariculture sustainability. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 3, p. 187-197, May 2005. ISSN 0921-8971. Disponível em: <<Go to ISI>://000230355600001 >.

BRATVOLD, D.; BROWDY, C. L. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats (TM)) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. **Aquaculture**, v. 195, n. 1-2, p. 81-94, Apr 2 2001. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000167571600008 >.

BROWDY, C. L. et al. Enhancing Competitiveness of Us Shrimp Aquaculture through Innovative Scientific Research. **Journal of Shellfish Research**, v. 28, n. 3, p. 684-685, Aug 2009. ISSN 0730-8000. Disponível em: <<Go to ISI>://000273801700094 >.

BROWN, M. R. et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v. 151, n. 1-4, p. 315-331, May 15 1997. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://A1997XH72600026 >.

COUTTEAU, P. Micro Algae. In: LAVENS, P. e SORGELOOS, P. (Ed.). **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1996. cap. 2, p.7-30. (FAO Fisheries Technical Paper). ISBN 92-5-103934-8.

CRAB, R. et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, n. 1-4, p. 1-14, Sep 28 2007. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000249448300001 >.

DAY, J. G.; BENSON, E. E.; FLECK, R. A. In vitro culture and conservation of microalgae: Applications for aquaculture, biotechnology and environmental research. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 35, n. 2, p. 127-136, Mar-Apr 1999. ISSN 1054-5476. Disponível em: <<Go to ISI>://000081167300003 >.

DE SCHRYVER, P. et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, Jun 3 2008. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000256275700001 >.

DELANOUE, J.; DEPAUW, N. The Potential of Microalgal Biotechnology - a Review of Production and Uses of Microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 6, n. 4, p. 725-770, 1988. ISSN 0734-9750. Disponível em: <<Go to ISI>://A1988T053500003 >.

DU RANT, E. et al. Waddell Mariculture Center Continues Research On Biofloc-Based Shrimp Culture. **Global Aquaculture Advocate**, p. 28-30, 2011.

EBELING, J. M.; OGDEN, S. R. Application of chemical coagulation aids for the removal of suspended solids (TSS) and phosphorus from the microscreen effluent discharge of an intensive recirculating aquaculture system. **North American Journal of Aquaculture**, v. 66, n. 3, p. 198-207, Jul 2004. ISSN 1522-2055. Disponível em: <<Go to ISI>://000222974600005 >.

ERLER, D.; POLLARD, P. C.; KNIBB, W. Effects of secondary crops on bacterial growth and nitrogen removal in shrimp farm effluent treatment systems. **Aquacultural Engineering**, v. 30, n. 3-4, p. 103-114, May 2004. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000220495800002 >.

FONTENOT, Q. et al. Effects of temperature, salinity, and carbon: nitrogen ratio on sequencing batch reactor treating shrimp aquaculture

wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1700-1703, Jul 2007. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://000244820900002 >.

HINSHAW, J.; FORNSHELL, G. Effluents from raceways. In: TOMASSO, J. R. (Ed.). **Aquaculture and the Environment in the United States**: World Aquaculture Society, 2002. p.45-52.

HOFFMANN, J. P. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. **Journal of Phycology**, v. 34, n. 5, p. 757-763, Oct 1998. ISSN 0022-3646. Disponível em: < <Go to ISI>://000076664600006 >.

HU, Q. et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 621-639, May 2008. ISSN 0960-7412. Disponível em: < <Go to ISI>://000255755000009 >.

INTRIAGO, P.; JONES, D. A. Bacteria as Food for Artemia. **Aquaculture**, v. 113, n. 1-2, p. 115-127, Jun 1 1993. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://A1993LJ31600011 >.

JONES, A. B.; PRESTON, N. P.; DENNISON, W. C. The efficiency and condition of oysters and macroalgae used as biological filters of shrimp pond effluent. **Aquaculture Research**, v. 33, n. 1, p. 1-19, Jan 2002. ISSN 1355-557X. Disponível em: < <Go to ISI>://000174013200001 >.

JUNG, I. S.; LOVITT, R. W. Integrated production of long chain polyunsaturated fatty acids (PUFA)-rich Schizochytrium biomass using a nutrient supplemented marine aquaculture wastewater. **Aquacultural Engineering**, v. 43, n. 2, p. 51-61, Sep 2010. ISSN 0144-8609. Disponível em: < <Go to ISI>://000283388900003 >.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. **Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1996. 295 ISBN 92-5-103934-8. Disponível em: < <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/w3732e/w3732e00.pdf> >.

LEE, K.; LEE, C. G. Nitrogen removal from wastewaters by microalgae without consuming organic carbon sources. **Journal of Microbiology**

and Biotechnology, v. 12, n. 6, p. 979-985, Dec 2002. ISSN 1017-7825. Disponível em: <<Go to ISI>://000180146800018 >.

LEFEBVRE, S.; BARILLE, L.; CLERC, M. Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) feeding responses to a fish-farm effluent. **Aquaculture**, v. 187, n. 1-2, p. 185-198, Jul 5 2000. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000087280900014 >.

LEGER, P. et al. The Use and Nutritional-Value of Artemia as a Food Source. **Oceanography and Marine Biology**, v. 24, p. 521-623, 1986. ISSN 0078-3218. Disponível em: <<Go to ISI>://A1986F758000008 >.

LIU, Y. D. et al. Potential of terrestrial microalgae and cyanobacteria in environmental technology. **Photosynthetic Microorganisms in Environmental Biotechnology**, p. 195-216, 2001. Disponível em: <<Go to ISI>://000171313500014 >.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, Jan 2010. ISSN 1364-0321. Disponível em: <<Go to ISI>://000271279100012 >.

NELSON, S. G. et al. Cultivation of *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in shrimp-farm effluent ditches and floating cages in Hawaii: a two-phase polyculture system. **Aquaculture**, v. 193, n. 3-4, p. 239-248, Feb 15 2001. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000166576800004 >.

NEORI, A. et al. Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. **Aquaculture**, v. 231, n. 1-4, p. 361-391, Mar 5 2004. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000189223600029 >.

NEORI, A.; RAGG, N. L. C.; SHPIGEL, M. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system. **Aquacultural Engineering**, v. 17, n. 4, p. 215-239, Jun 1998. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000074581100001 >.

NOUE, J. D. L.; PAUW, N. D. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 6, p. 725-770, 1988.

OTOSHI, C. A. et al. Effects of artificial substrate and water source on growth of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 37, n. 2, p. 210-213, 2006. ISSN 0893-8849. Disponível em: <<Go to ISI>://000238079400010 >.

PAGAND, P. et al. The use of high rate algal ponds for the treatment of marine effluent from a recirculating fish rearing system. **Aquaculture Research**, v. 31, n. 10, p. 729-736, Oct 2000. ISSN 1355-557X. Disponível em: <<Go to ISI>://000089883400001 >.

PAUL, N. A.; DE NYS, R. Promise and pitfalls of locally abundant seaweeds as biofilters for integrated aquaculture. **Aquaculture**, v. 281, n. 1-4, p. 49-55, Sep 1 2008. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000259481400009 >.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 17-25, Jan 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<Go to ISI>://000285658300004 >.

PUN, K. C.; CHEUNG, R. Y. H.; WONG, M. H. Characterization of sewage sludge and toxicity evaluation with microalgae. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 394-401, Apr-Dec 1995. ISSN 0025-326X. Disponível em: <<Go to ISI>://A1995TM84200036 >.

RAMOS, R. et al. Treatments of effluents from *Litopenaeus vannamei* shrimp cultures through sedimentation, filtration and absorption. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 38, n. 2, p. 188-200, 2010. ISSN 0718-560X. Disponível em: <<Go to ISI>://000280196900003 >.

SCHVEITZER, R. et al. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**, v. 54, p. 93-103, 2013.

SHPIGEL, M.; GASITH, A.; KIMMEL, E. A biomechanical filter for treating fish-pond effluents. **Aquaculture**, v. 152, n. 1-4, p. 103-117, Jun 1 1997. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://A1997XJ42500010 >.

SHPIGEL, M.; NEORI, A. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems .1. Proportions of size and projected revenues. **Aquacultural Engineering**, v. 15, n. 5, p. 313-326, Aug 1996. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://A1996VG17100001 >.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos: RiMa, 2003.

SORGELOOS, P. et al. Culture of Artemia on Rice Bran - the Conversion of a Waste-Product into Highly Nutritive Animal Protein. **Aquaculture**, v. 21, n. 4, p. 393-396, 1980. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://A1980KT41000010 >.

SOTO, D., Ed. **Integrated mariculture: A global review**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper: FAO Fisheries and Aquaculture Department, v.No. 529, p.183, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Papered. 2009.

TACON, A. G. J.; FORSTER, I. P. Aquafeeds and the environment: policy implications. **Aquaculture**, v. 226, n. 1-4, p. 181-189, Oct 31 2003. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000185998700014 >.

TREECE, G. D. **Artemia production for marine larval fish culture**. Southern Regional Aquacultural Center, p.8. 2000

VIADERO, R. C. et al. Effluent and production impacts of flow-through aquaculture operations in West Virginia. **Aquacultural Engineering**, v. 33, n. 4, p. 258-270, Oct 2005. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000231683300003 >.

VINATEA, L. et al. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway

culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering**, v. 42, n. 1, p. 17-24, Jan 2010. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000274452300003 >.

WANG, B.; LAN, C. Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5639-5644, May 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<Go to ISI>://000291125800013 >.

WANG, J. K. Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system. **Aquacultural Engineering**, v. 28, n. 1-2, p. 37-46, Jun 2003. ISSN 0144-8609. Disponível em: <<Go to ISI>://000184214400004 >.

WASIELESKY, W. et al. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1-4, p. 396-403, Aug 31 2006. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://000240252900044 >.

WEBB, J. M. et al. Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture. **Water Research**, v. 46, n. 16, p. 5102-5114, Oct 15 2012. ISSN 0043-1354. Disponível em: <<Go to ISI>://000309095800020 >.