# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

Programa de Pós Graduação em Aquicultura

Efeito da fertilização com nitrato de cálcio e uréia sobre a comunidade fitoplactônica no cultivo de camarões marinhos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Aqüicultura, da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Orientador: Dr. Walter Quadros Seiffert

**JOSÉ ROBERTO ARGENTO NETTO** 

Argento, José Roberto.

Efeito da fertilização com nitrato de cálcio e uréia sobre a comunidade fitoplactônica no cultivo de camarões marinhos / José Roberto Argento Netto - 2008

40 f.:grafs., tabs.

Orientador: Walter Quadros Seiffert

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Mestrado em Aqüicultura.

1. Produtividade primária; 2. uréia; 3. nitrato de cálcio; 4. fertilização; 5. nutrientes; 6. microalgas.

# Efeito da fertilização com nitrato de cálcio e uréia sobre a comunidade fitoplactônica no cultivo de camarões marinhos.

Por

# JOSÉ ROBERTO ARGENTO NETTO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

# **MESTRE EM AQÜICULTURA**

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

Prof. Cláudio Manuel Rodrigues de Melo, Dr. Coordenador do Curso

Dr. Roberto Bianchini Derner

Banca Exami	nadora:
	Dr. Walter Quadros Seiffert – orientador
	Dr. Luis Antônio de Oliveira Proença

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus e minha família por todo apoio: Ernesto Argento Netto (professor), Marta de Paula Argento, Alair de Campus Neves, Zaira Monegate Argento, Francine Rieke, Marta Selhorst, Maria Cristina Moreira e Francielle Carla da Costa. Ao Carlos Martins, Antônia Cordeiro e Pedrinho.

Ao orientador Dr. Walter Quadros Seiffert, um grande amigo que me forneceu a oportunidade de explanar diversas formas de trabalho e filosofia.

Aos professores doutores Roberto Bianchini Derner e Luis Antônio Proença pelas produtivas conversas e conhecimentos passados.

Ao Jairo de Sousa, grande amigo e parceiro de trabalho na Fazenda Yakult.

Aos amigos Carlos César de Mello Júnior e Pedro Felipe Rey e Ernesto Wenth Filho, grandes amigos e companheiros desta jornada.

Ao professor e mestre Maurício Lehmann que sempre com boa vontade e dedicação colaborou nas etapas de execussão deste projeto.

Ao professor Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana, um guru.

Ao Oceanógrafo Rodrigo Soares Macedo, pela atenção e auxílio nas leituras de clorofila.

Ao Carlito, Anselmo e João Santana, parceiros de atividade.

Aos mestres e colegas de grupo Felipe do Nacimento e Adolfo Jatobá pela boa vontade e auxilio na condução deste trabalho.

Aos amigos que me passaram forças positivas e que de qualquer forma colaboraram para realização do projeto: Jacó Lisboa, Osnildo Wolf, Jociel David Rosa, Adolar João Neves, Lenita, Francisco Lagreze (Pancho), Rafael, Cíntia, Geórgia, Celso Buglione, José Luis Mouriño, Nadito e Márcio. Às meninas dedicadas do curso de graduação em Aqüicultura que me auxiliaram nos prétestes do experimento: Ane Felice F. de Medeiros, Júlly Anne Debortoli, Valquíria Garcia, Carolina Antonieta lopes e Flávia Lucena Zacchi.

Aos colegas Africanos Érica, Alda, Luisa, Lorenço e José, que me auxiliaram durante o período experimental.

Aos amigos e mestres oceanógrafos Maikon di Domênico, Fernado Nakagome, Afrânio Gomes Neto, Fabrício Matos Mendes, Jonatham Junkes, Daniel Sargenti, Suzana Guedes, Alexsandro R. Zaleski, Ana Luisa Martins, Flávia Toniolli, Cleiton J. Foster, Daniel F. Rosa, Lucas Faria, Lua Gabriela Nunes, Marcos Gândor, Paulo Bernardes da Costa.

Aos fiéis companheiros desta jornada: Morena (Merlot), Napoque e aos espíritos guias.

Agradecemos a todas as pessoas e instituições que nos ajudaram, piois foram responsáveis por fornecerem os subsídios necessários para a realização deste projeto. Ao CNPq pelo fornecimento de uma bolsa de pesquisa, à Universidade Federal de Santa Catarina, à Fazenda Experimental de Cultivo de Camarões Marinhos Yakult/UFSC, ao Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), ao Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), ao Colégio Agrícola de Araquari (CASCGO), à Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), à Universidade de Joinvile (UNIVILE) e à Alfakit LTDA.

# SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
SUMÁRIO	5
LISTA DE FIGURAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO	
OBJETIVO	
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
EFEITO DA FERTILIZAÇÃO COM NITRATO DE CÁLCIO E URÉIA SOBRE A COMUNIDAD FITOPLACTÔNICA NO CULTIVO DE CAMARÕES MARINHOS	)E
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	
MATERIAL E MÉTODOS	
Fertilizantes utilizados	
Procedimento experimental	
Análise quali-quantitativa das microalgas	
Determinação da abundância relativa dos táxons	
Fluorescência "in vivo"	
Clorofila a "in vitro"	
Análise de matéria orgânica	
Análise de materia diganica	
Condições ambientais meteorológicas	
Variáveis físico-químicas	
Variação da biomassa algal	
Análise estatística	
RESULTADOS	
Densidade celular	
Determinação da abundância relativa dos taxons	
Fluorescência "in vivo"	
Clorofila a "in vitro"	
Matéria orgânica	
Variação da biomassa algal	
Variáveis físico-químicas	
Variação dos nutrientes	
Condições ambientais metorológicas	
Análise de componetes principais	
Correlação	
DISCUSSÃO	
CONCLUSÃO	
REFERENCIAS	
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Delineamento experimental
Figura 2: Contagem celular de cianobactérias (a) e diatomáceas (b) na água das unidades experimentais fertilizadas com nitrato de cálcio ou uréia e superfosfato triplo nas relações N:P 10:1, 15:5 e 20:1.
Figura 3: Abundância relativa de cianobactérias (a) e diatomáceas (b) na água das unidades experimentais fertilizadas com nitrato de cálcio ou uréia e superfosfato triplo nas relações N:P 10:1, 15:5 e 20:1
Figura 4: Variação da Fluorescência da clorofila a "in vivo" na água das unidades experimentais 24
Figura 5: Variação da <i>clorofila</i> a (μg/L) na água das unidades experimentais através do método de extração
Figura 6: Matéria orgânica na água das unidades experimentais fertilizadas com nitrato de cálcio (a) e uréia (b) com relações N:P 10:1, 15:5 e 20:1
Figura 7: Variação da biomassa algal durante o período experimental
Figura 8: Variação temporal de PO₄ para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:5 e 20:1
Figura 9: Variação temporal de (Si-Si(OH) <sub>2</sub> ) para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:5 e 20:1
Figura 10: Variação temporal de N-NO <sub>2</sub> (a); N-NO <sub>3</sub> (b) e N-NH <sub>3</sub> (c) para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:5 e 20:1
Figura 11: Variação climática durante o período experimental. Pode-se notar a predominância de dias com sol e alta luminosidade durante os cinco primeiros dias. Nos dias 07, 08, 09, 12, 13 e 14 presença de chuva.
Figura 12: Principal Components Analysis. A análise de componentes principais permitiu a extração e interpretação de dois eixos fatoriais que juntos explicam 72% da variação total. O eixo 01, responsável por 25,23% da variação, e o eixo 02, responsável por 47,03%

#### **RESUMO**

Foi avaliado neste estudo o efeito da utilização dos fertilizantes nitrogenados nitrato de cálcio e uréia no crescimento de diatomáceas e cianobactérias na água de viveiros de cultivo de camarões marinhos. Foram utilizadas diferentes relações de nitrogênio e fósforo (10:1; 15:1 e 20:1), além da adição de sílica. Foram avaliadas as densidades celulares e abundância relativa da classe *Bacillariophyceae, Cianophyceae.* Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para estes parâmetros. Contudo, foi observado em todos os tratamentos que a concentração de cianobactérias decresceu significativamente (y=331470\*e<sup>-0.50'x</sup>, r²=0,91) e a de diatomáceas cresceu (y=3968,28\*e<sup>0.15'x</sup>, r²=0,68). O taxa de diatomácea dominante foi *Nitzschia sp.* e de cianobactéria foi *Pseudanabaena sp.* Foram avaliadas as variações na concentração de nutrientes (*N-NH<sub>3</sub>; N-NO<sub>3</sub>; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) e PO<sub>4</sub>).* Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para concentração de amônia, fosfato, e sílica, contudo foi observada uma queda exponencial na concentração de sílica (y=0,449\*e<sup>-0.08'x</sup>, r²=0,71) em todos os tratamentos. Todas as relações de nitrogênio e fósforo utilizadas neste trabalho, independente da fonte de nitrogênio utilizada, favoreceram o crescimento das diatomáceas em detrimento das cianobactérias. Nesta escala experimental, a uréia foi considerada como o fertilizante mais eficaz para o desenvolvimento de diatomáceas. Os dados desta pesquisa indicam que para atingir as relações N:P desejadas, pequenas quantidades de nutrientes devem ser aplicadas em viveiros de cultivo de camarões, respeitando as quantidades preexistentes na água.

PALAVRAS-CHAVE: Produtividade primária; uréia; nitrato de cálcio; fertilização; nutrientes e microalga.

#### **ABSTRACT**

It was avaluated in this study the effect of the use of nitrogenated fertilizers: nitrate of calcium and urea on the growth of diatoms and cianobacters in the water of marine shrimp pounds. It was used differents relations of nitrogen and phosphorus (10:1; 15:1 20:1), with silica addition. It was avaluated cellular density and relative plenty of Bacillariophyceae and Cianophyceae. It was not observed differences for this analyses among treatments. Although, it was observed in all the tratments that the concentration of cianobacters declined significantly (y=331470\* $e^{-0.50^{+}x}$ , r<sup>2</sup>=0,91) and the diatoms increased (y=3968,28 $^{*}e^{0,15^{*}x}$ ,  $r^{2}$ =0,68). The domination taxa of diatom and cianobacter were *Nitzschia* sp. and Pseudanabaena sp., respectively. It was avaluated the nutrients concentration (N-NH3; N-NO<sub>3</sub>; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) and PO<sub>4</sub>). It was not observed differences among treatments for silica, ammonium and fosfate concentration, although it was observed exponential declined in the silica concentration (y=0,449\* $e^{-0.08^{\circ}x}$ ,  $r^2$ =0,71) in all the treatments. All the relationship of nitrogen and phosphorus used in this study, independently of the source of nitrogen used, supported the diatom growth in detriment of cianobacter. In this experimental scale, the urea was considered the more eficaz fertilizer for the diatom development. The basis of this search denote that to achieve the desire relationship N:P, few amount of nutrients should be apply in marine shrimp pounds, respecting the amounts existing before in the water.

Key words: First productivity; urea; nitrate of calcium; fertilization; nutrients and microalgae.

# INTRODUÇÃO

O crescimento das microalgas e a variação da sua composição química é um fenômeno complexo e sujeito às variáveis que estão intimamente relacionadas a fatores abióticos tais como luz, presença de nutrientes, temperatura, salinidade e pH (WETZEL, 1975). A comunidade planctônica apresenta um caráter muito dinâmico, com elevadas taxas de reprodução e perda, respondendo rapidamente às alterações físicas e químicas do meio aquático e estabelecendo complexas relações intra e interespecíficas na competição e utilização do espaço e dos recursos (VALIELA, 1995). Esses fatores bióticos e abióticos reunidos são determinantes no que diz respeito a qualidade e a quantidade de microalgas que estarão presentes em um viveiro de cultivo.

A presença da população fitoplanctônica influencia diretamente na qualidade da água, contribuindo substancialmente para o aumento da concentração de oxigênio dissolvido e também para a remoção de metabólitos, como a amônia, o gás carbônico e o fósforo, que são usados nos processos de síntese de compostos orgânicos (KUBITZA, 2003). Para um processo de crescimento saudável, as microalgas exigem uma série de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (VINATEA, 2004).

Em sistemas de cultivo semi-intensivo, a contribuição do alimento natural na dieta dos camarões é bastante significativa, podendo alcançar até 85%. Em sistemas mais intensivos, a contribuição do alimento natural diminui, mas ainda é considerada significativa (25%) (NUNES et al., 1997). MARTINEZ-CÓRDOVA (1998), salienta que o fitoplâncton presente nos viveiros de cultivo de camarão estão intimamente relacionados com a qualidade de água e conseqüentemente com a produção, podendo chegar no final do cultivo a 50% da dieta do camarão. AVAUT (2003), indica que um aumento da biomassa do plâncton e conseqüentemente da cadeia alimentar reduz os custos com alimentação suplementar, a qual influencia diretamente nos custos finais de produção no cultivo do camarão. Para tanto, monitorar os parâmetros da água de captação e a adoção de medidas de manejo cabíveis se torna essenciaL antes de povoar os viveiros. O manejo da fertilização é uma questão importante que pode reduzir custos, melhorar a conversão alimentar, além de otimizar o tempo de cultivo para o desenvolvimento da espécie cultivada.

Dentro das primeiras semanas de cultivo (quando os camarões passam de pós-larvas para juvenis), a alimentação se baseia nas microalgas, copépodos, detritos, larvas de moluscos, entre outros (PÁEZ-OSUNA et al. 2001). A principal contribuição do fitoplâncton para alimentação dos estágios adultos e juvenis dos camarões se dá através da cadeia trófica: camarões se alimentando da macrofauna, do meio bentos e da meio fauna, que por sua vez se alimentam de fitoplâncton. Nestes estágios, intermediário e final do cultivo, as taxas de alimentação são suficientemente elevadas para suportar a densidade do camarão e promover o crescimento de microalgas, como diatomáceas e clorofíceas (GÓMEZ-AGUIRRE e MARTINEZ-CÓRDOVA, 1998).

Pesquisas têm demonstrado que o camarão cresce melhor se a comunidade fitoplanctônica predominante for de diatomáceas (ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA, 2003; DERNER, 2006). O camarão pode consumir fitoplâncton diretamente quando este se encontra aderido ao detrito, entretanto sua maior contribuição é indireta através da cadeia trófica (MORIARTY, 1987).

SOUZA et al. (2002) observaram que larvas de *P. monodon* alimentadas com flocos de algas *Chaetoceros muelleri, C. calcitrans, Skeletonema sp.* e *Thalassiosira pseudonana* mostraram bons resultados de sobrevivência e desenvolvimento das larvas, com melhores resultados para *C. muelleri*.

O entendimento da fisiologia, ecologia e composição química das microalgas tem grande importância como potencial nutritivo para organismos de cultivo. As algas da classe *Bacillariophycea* (diatomáceas) constituem a principal fonte de alimento para larvas de camarões, podendo manter por um moderado tempo peneídeos em fase de crescimento (VRIELING, 1999). Devido ao seu alto valor nutricional, as diatomáceas são consideradas como a principal classe de microalga que deve estar presente em um viveiro de cultivo de camarão (DERNER, 2006). O alto valor nutricional das diatomáceas deriva da presença de ácidos graxos polinsaturados (como o ácido eicosapentaenóico) em altas concentrações, além dos carboidratos e proteínas (LOURENÇO, 2006). Algumas diatomáceas também possuem propriedades antibacterianas que podem ajudar no controle de doenças WANG (2003).

Os fertilizantes como uréia, nitrato de cálcio, nitrato de sódio, superfosfato triplo (SPT), silicato de sódio alcalino entre outros são usados freqüentemente na aqüicultura para estimular a produtividade de fitoplâncton e aumentar a disponibilidade de organismos naturais que servem de alimento aos animais cultivados (BOYD, 2003; BEZERRA 2005). Portanto, a manutenção da estrutura da população fitoplanctônica através de técnicas de manejo eficientes dentro de cada viveiro cultivo pode auxiliar no aumento da produtividade na forma de alimento natural.

SILVA et al. (2005) reporta que a ração ainda é o item de maior despesa em sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo de camarão. Portanto se não forem conhecidas todas as exigências nutricionais dos camarões, os produtores continuarão necessitando de um manejo adequado dentro dos viveiros para garantir a oferta de alimentos naturais. CORREIA et al. (2003) não encontraram diferença significativa para o cultivo de *Macrobrachium rosemberg* nos resultados de sobrevivência, ganho de peso, taxa de crescimento específico e biomassa final em viveiros sem fertilização com 100% da oferta de ração e viveiros fertilizados (sulfato de amônia e superfosfato) com 50% da oferta de ração. Porém foi observado melhor conversão alimentar nos viveiros fertilizados.

A utilização de tecnologia para incrementar a produção de alimento vivo dentro dos viveiros tem impulsionado diversas pesquisas e neste âmbito vários fertilizantes tem sido testados, porém os resultados ainda são controversos. Alguns trabalhos vêm demonstrando que aplicação de nutrientes à base de nitrogênio, fósforo e sílica favorecem a colonização de diferentes populações de microalgas em viveiros de cultivo (CERDEIRA, 1998; BOYD, 1992; WEGBECHER, 2000; MARINE & SEIFFERT, 2004; ARGENTO & SEIFFERT, 2005).

As relações, as quantidades e as fontes de nutrientes (nitrogênio e fósforo) contidas no fertilizante uréia e superfosfato triplo (SPT), mais utilizadas em viveiros comerciais de engorda de camarão, variam bastante entre diversos autores: BOYD (1992) salienta que o nitrato (NO<sub>3</sub>-²) é a principal forma de nitrogênio assimilada pelo fitoplâncton e o autor recomenda relações N:P próximas de 20:1, com adição de sílica para aplicação nos viveiros de camarões. Este autor ainda recomenda qunatidades de fósforo variando entre 0,1 e 0,3 mg/L e de nitrogênio variando entre 0,5 e 1,0 mg/L.

MUEDAS (1996), considera uma relação N:P de 11:1, com 0,9 mg/L de nitrogênio e 0,083 mg/L de fósforo; VILLALON (1990), considera relações N/P de 27:1 com diferentes quantidades de nutrientes, variando o nitrogênio desde 0,405 a 1,04 mg/L e o fósforo variando desde 0,015 a 0,382 mg/L. Clifford (1994), sugere relação N/P 54:1 com 2,7 mg/L de nitrogênio e 0,0498 mg/L de fósforo. De acordo com MARTINEZ-CORDOVA (1998), o regime de fertilização utilizando uréia e fósforo em diversos países aponta relações N:P entre 3:1, com 6,75 mg/L de nitrogênio e 1,245 mg/L de fósforo (Indonésia) e 9:1, com 0,675mg/L de nitrogênio e 0,066 mg/L de fósforo (Equador); na Colômbia relação N:P 9:1, com nitrogênio variando entre 0,405 – 1,035 de nitrogênio e fósforo variando entre 0,0149 – 0,038 mg/L. Cabe ressaltar que a maioria dos estudos que foram conduzidos na linha de pesquisa com fertilizantes, não considera as quantidades de nutrientes pré-existentes na água (quantidade inicial), dessa forma podendo superestimar as quantidades que são aplicadas dentro dos viveiros.

Os fertilizantes à base de nitrato, mesmo com custos superiores, apresentam vantagens sobre os fertilizantes amoniacais, pois o nitrato não é tóxico e é totalmente oxidado no ambiente de cultivo (OSTRENSKY & BARBIERI, 2002). KUBITZA *op cit.* (2003) salienta que o nitrato de cálcio possui potencial de acidez nula e traria efeitos mais benéficos aos viveiros de cultivo em relação à uréia. (BOYD 2003), ressaltam que os fertilizantes a base de nitrogênio aumentam a concentração de amônia na água e o uso excessivo pode aumentar a toxidade da amônia. LEVINGTON (1995) ressalta que a amônia pode inibir a captura da forma de nitrato pelo fitoplâncton. MCCARTHY (1981) considera que a assimilação e incorporação do nitrato são uma via energeticamente menos favorável de nutrição de nitrogênio pelo fitoplâncton, sendo a amônia o substrato preferencial do fitoplâncton e somente após estar quase que completamente esgotadas, quantidades significativas de nitrato serão assimiladas.

De acordo com ESTEVES (1998), a sílica sob a forma solúvel é um composto de fundamental importância, pois é utilizada pelas diatomáceas na elaboração de sua carapaça e há forte relação entre o crescimento de populações de diatomáceas e a concentração de sílica no meio. MARTIN-JÉSÉQUEL et al. (2000) constataram que o crescimento de diatomáceas é inibido devido principalmente à falta de sílica. Segundo BOYD (1992), são recomendados concentrações maiores que 01 mg/L desse composto na água dos viveiros de cultivo pra promoção das diatomáceas.

A sílica é um nutriente de grande importância para o crescimento e controle de diatomáceas em viveiros de camarão (NUNES, 2001). Contudo o silício adicionado em meios de cultura de diatomáceas corresponde a 1/3 ou 1/4 das concentrações de nitrogênio, e isso pode acarretar na síntese de frústulas mais finas e levar à limitação prematura do crescimento (LOURENÇO, 2006). Este autor salienta que as diatomáceas podem apresentar demanda por silício tão alta quanto o nitrogênio, de forma que pode ser adequado fornecer os dois elementos em proporções iguais (N:Si – 1:1). Portanto o objetivo da fertilização dos viveiros é produzir florações de diatomáceas, para tal torna-se importante conhecer as características físico-químicas e biológicas do viveiro e estabelecer um programa adequado de fertilização.

ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA (2003), relata que os fenômenos ambientais são as principais causas da ocorrência de fortes proliferações nocivas de fitoplâncton nos ambientes de cultivo e conseqüentemente têm resultado em impactos na produção do camarão marinho em todo o mundo. Entretanto, um manejo inadequado, contaminação e condições climáticas adversas podem ocasionar florações indesejados que conduzem à uma redução do crescimento dos camarões e diminuição da produção. As espécies que toleram sistemas eutróficos severos são dentre outras, as cianobactérias. Elevadas densidades de cianobactérias em viveiros de camarão e baixas densidades de diatomáceas ocasionam crescimento deficiente dos camarões (ALONSO-RODRÍGUEZ e PÁEZ-OSUNA, *op. cit*). Este grupo de algas se adapta bem às condições de estresse e quando o nitrogênio meio é escasso (MARGALEF, 1974).

A floração de cianobactérias está estritamente relacionada com o manejo no cultivo, sendo que uma floração destas microalgas pode atingir uma biomassa muito grande em um tempo relativamente curto dentro de poucos dias até uma ou duas semanas (BRIAND *et al* 2003).

As cianobactérias são ainda as principais responsáveis pela produção de compostos que provocam sabor desagradável (off flavor) aos camarões (PEREGRINO, 2005), principalmente em camarões cultivados em água com baixa salinidade (LUCIEN-BRUN & VIDAL, 2006). Dinoflagelados em altas densidades também podem causar estresse no camarão de cultivo e afetar seu crescimento através da liberação de toxinas para o meio, tornando esses organismos mais vulneráveis às doenças virais (CORTÉS-ALTAMIRANO e LICEA-DURÁN, 1999).

Apesar dos estudos realizados, existe ainda um vago conhecimento sobre os complexos mecanismos e uso da grande variedade de comunidades de algas fitoplanctônicas (NYAMIEN, 2004). Sendo assim, o estudo da diversidade e abundância fitoplanctônica em resposta às diferentes proporções e tipos de nutrientes ofertados, pode trazer importantes informações para a melhoria das técnicas de fertilização empregadas nas fazendas de camarões marinhos.

Este trabalho será submetido à publicação no Journal of Oceanography. Dessa forma, sua redação obedece às normas deste periódico.

#### **OBJETIVO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de dois fertilizantes nitrogenados (uréia e nitrato de cálcio) na diversidade e abundância de microalgas em águas de viveiros, utilizando como fontes de nutrientes: nitrogênio, fósforo e sílica (N:P:Si), com diferentes relações N:P:Si.

# **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar durante o período experimental a diversidade e a abundância das microalgas nativas das classes *Bacillariophyceae* e *Cianophyceae* em função das diferentes relações e tipos de fertilizantes testados.

Determinar a variação na concentração dos principais nutrientes: Amônia (N-NH<sub>3</sub>), Nitrito (N-NO<sub>2</sub>), Nitrato (N-NO<sub>3</sub>), Ortofosfato (P-PO<sub>4</sub>) e Sílica (Si-Si(OH)<sub>2</sub>), durante o período experimental.

Estimar a biomassa a partir dos índices de matéria orgânica e *clorofila a* (extraída).

Efeito da fertilização com nitrato de cálcio e uréia sobre a comunidade fitoplactônica no cultivo de camarões marinhos

J R Argento<sup>1</sup>, W Q Seiffert<sup>2</sup>

1 Fazenda Experimental de Cultivo de Camarões Marinhos Yakult/UFSC. Email: joserobertoargento@yahoo.com.br

2 Laboratório de Camarões Marinhos LCM/UFSC. Email: seiffert@cca@ufsc.br

#### **RESUMO**

Foi avaiado neste estudo o efeito da utilização dos fertilizantes nitrogenados nitrato de cálcio e uréia no crescimento de diatomáceas e cianobactérias na água de viveiros de cultivo de camarões marinhos. Foram utilizadas diferentes relações de nitrogênio e fósforo (10:1; 15:1 e 20:1), além da adição de sílica. Foram avaliadas as densidades celulares e abundância relativa da classe Bacillariophyceae, Cianophyceae. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para estes parâmetros. Contudo, foi observado em todos os tratamentos que a concentração de cianobactérias decresceu significativamente (y=331470\*e<sup>-0,50\*x</sup>, r<sup>2</sup>=0,91) e a de diatomáceas cresceu (y=3968,28\*e<sup>0,15\*x</sup>, r<sup>2</sup>=0,68). A espécie de diatomácea dominante foi *Nitzschia sp.* e de cianobactéria foi Pseudanabaena sp. Foram avaliadas as variações na concentração de nutrientes (N-NH3; N-NO3; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>)<sub>2</sub> e PO<sub>4</sub>). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para concentração de amônia, fosfato, e sílica, contudo foi observada uma queda exponencial na concentração de sílica ( $y=0,449*e^{-0,08*x}$ ,  $r^2=0,71$ ) em todos os tratamentos. Todas as relações de nitrogênio e fósforo utilizadas neste trabalho, independente da fonte de nitrogênio utilizada, favoreceram o crescimento das diatomáceas em detrimento das cianobactérias. Nesta escala experimental, a uréia foi considerada como o fertilizante mais eficaz para o desenvolvimento de diatomáceas. Os dados desta pesquisa indicam que para atingir as relações N:P desejadas, pequenas quantidades de nutrientes devem ser aplicadas em viveiros de cultivo, respeitando as quantidades preexistentes na água.

PALAVRAS-CHAVE: Produtividade primária; uréia; nitrato de cálcio; fertilização; nutrientes e microalga.

#### **ABSTRACT**

It was avaluated in this study the effect of the use of nitrogenated fertilizers: nitrate of calcium and urea on the growth of diatoms and cianobacters in the water of marine shrimp pounds. It was used differents relations of nitrogen and phosphorus (10:1; 15:1 20:1), with silica addition. It was avaluated cellular density and relative plenty of Bacillariophyceae and Cianophyceae. It was not observed differences for this analyses among treatments. Although, it was observed in all the tratments that the concentration of cianobacters declined significantly (y=331470 $^{*}e^{-0.50^{*}x}$ ,  $r^{2}$ =0,91) and the diatoms increased (y=3968,28\*e<sup>0,15\*x</sup>, r<sup>2</sup>=0,68). The domination taxa of diatom and cianobacter were *Nitzschia* sp. and Pseudanabaena sp., respectively. It was avaluated the nutrients concentration (N-NH3; N-NO3; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) and PO<sub>4</sub>). It was not observed differences among treatments for silica, ammonium and fosfate concentration, although it was observed exponential declined in the silica concentration  $(y=0,449*e^{-0,08*x}, r^2=0,71)$  in all the treatments. All the relationship of nitrogen and phosphorus used in this study, independently of the source of nitrogen used, supported the diatom growth in detriment of cianobacter. In this experimental scale, the urea was considered the more eficaz fertilizer for the diatom development. The basis of this search denote that to achieve the desire relationship N:P, few amount of nutrients should be apply in marine shrimp pounds, respecting the amounts existing before in the water.

Key words: First productivity; urea; nitrate of calcium; fertilization; nutrients and microalgae.

# INTRODUÇÃO

A comunidade planctônica apresenta um caráter muito dinâmico, com elevadas taxas de reprodução e perda, respondendo rapidamente às alterações físicas e químicas do meio aquático e estabelecendo complexas relações intra e interespecíficas na competição e utilização do espaço e dos recursos (VALIELA, 1995). Os fatores bióticos e abióticos reunidos são determinantes no que diz respeito a qualidade e a quantidade de microalgas que estarão presentes em um viveiro de cultivo.

A utilização de tecnologia para incrementar a produção de alimento vivo dentro dos viveiros tem impulsionado diversas pesquisas e neste âmbito vários fertilizantes tem sido testados, porém os resultados ainda são controversos. Alguns trabalhos vêm demonstrando que aplicação de nutrientes à base de nitrogênio, fósforo e sílica favorecem a colonização de diferentes populações de microalgas em viveiros de cultivo (CERDEIRA, 1998; BOYD, 1992; WEGBECHER, 2000; MARINE & SEIFFERT, 2004; ARGENTO & SEIFFERT, 2005). Cabe ressaltar que a maioria dos estudos que foram conduzidos na linha de pesquisa com fertilizantes, não considera as quantidades de nutrientes préexistentes na água (quantidade inicial), dessa forma podendo superestimar as quantidades que são aplicadas dentro dos viveiros.

NUNES et al. (1997), descrevem que em sistemas de cultivo semi-intensivo, a contribuição do alimento natural na dieta do camarão é bastante significativa, podendo alcançar até 85%. Em sistemas mais intensivos, a contribuição do alimento natural diminui, mas ainda é considerada significativa (25%). MARTINEZ-CÓRDOVA (1998), salienta que o fitoplâncton presente nos viveiros de cultivo de camarão estão intimamente relacionados com a qualidade de água e conseqüentemente com a produção, podendo chegar a 50% da dieta do camarão. AVAUT (2003) destaca que um aumento da biomassa do plâncton e conseqüentemente da cadeia alimentar reduz os custos com alimentação suplementar. Portanto, a manutenção da estrutura da cadeia fitoplanctônica através de técnicas de manejo eficientes dentro de cada viveiro cultivo pode auxiliar no aumento da produtividade na forma de alimento natural, aumentando a rentabilidade durante o ciclo produtivo, considerando ainda que a ração é o item de maio despesa em fazenda de cultivo de camarão.

Neste sentido, o estudo da diversidade e abundância fitoplanctônica em resposta às diferentes proporções e tipos de nutrientes ofertados, pode trazer importantes informações para a melhoria das técnicas de fertilização empregadas nas fazendas de camarões marinhos.

Para estimular a produtividade de fitoplâncton e aumentar a disponibilidade de organismos naturais que servem de alimento aos animais cultivados, os fertilizantes são usados freqüentemente na aqüicultura de viveiros (BOYD, 2003). O objetivo da fertilização dos viveiros é produzir florações de diatomáceas, entretanto, um manejo inadequado, contaminação e condições climáticas adversas podem ocasionar florações indesejados que conduzem à uma redução do crescimento dos camarões e diminuição da produção (ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA, 2003). É interessante acompanhar semanalmente as classes de algas dominantes ou abundantes que existem nos viveiros, e de acordo com essas avaliações verificar a possibilidade de fertilizar novamente os viveiros, respeitando as quantidades de nutrientes preexistentes na água.

O presente trabalho compara o efeito de dois fertilizantes nitrogenados: uréia e nitrato de cálcio, no desenvolvimento das classes de algas *Bacillariophyceae e Cianophyceae*. A uréia é fertilizante mais utilizado mundialmente, com preço de mercado 50% mais barato do que o nitrato de cálcio. KUBITZA (2003) salienta que o nitrato de cálcio possui potencial de acidez nula e traria efeitos mais benéficos aos viveiros de cultivo em relação à uréia. Porém os resultados experimentais ainda são controversos, necessitando de mais estudos sobre as proporções e quantidades destes fertilizantes na qualidade da água e na dinâmica das comunidades algais.

#### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi conduzido na Fazenda Experimental de Cultivo de Camarões Marinhos Yakult/UFSC, situada em Balneário Barra do Sul, litoral norte de Santa Catarina durante os meses de novembro e dezembro de 2007.

#### Fertilizantes utilizados

Foram testados dois tipos de fertilizantes químicos nitrogenados: nitrato de cálcio [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], com 14,4 % N-Nitrato, 1,1% N-Amônia, 19% de cálcio e 0,03% de boro e uréia [NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub> ou  $CO(NH_2)_2$ ] com 45% de nitrogênio. Também foram utilizados sílicato de sódio alcalino [Na<sub>2</sub>O 2,2(SiO<sub>2</sub>)] com 32% de sílica e 15% de óxido de sódio (Na<sub>2</sub>O) e Superfosfato-Triplo [Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O], com 16.6 % de fósforo.

#### Procedimento experimental

Foram avaliados 6 tratamentos com três repetições, totalizando 18 unidades experimentais que foram dispostas de forma inteiramente casualizada. Seguindo a recomendação citada por OSTRENSKY (2002), as unidades experimentais utilizadas foram galões de plástico com capacidade para 20 litros. As relações estudadas foram: N:P 10:1; 15:1 e 20:1. Para cada uma das relações experimentadas, foram testados diferentes concentrações de nitrogênio (2, 3 e 4 mgL<sup>-1</sup>) mantendo-se constantes as concentrações de fósforo e de sílica (0,2 MgL<sup>-1</sup> e 2 MgL<sup>-1</sup> respectivamente. O silicato de sódio alcalino foi utilizado como fonte de sílica e superfosfato triplo (SPT) como fonte de fósforo. As quantidades de fertilizantes aplicadas neste trabalho para todos os tratamentos correspondem à proporção de 1,94 Kg de SPT/ha e 4,4 Kg de silicato de sódio alcalino. Para atingir as relações N:P 10:1; 15:1 e 20:1 nos tratamentos com uréia e nitrato de cálcio, foram adicionados às unidades: 2,23 Kg/ha; 24,45 Kg/ha; 46,68 kg/ha e 6,48 Kg/ha; 71,0 Kg/ha; 135,5 kg/ha, respectivamente.

A água utilizada no experimento foi bombeada do Estuário do Rio Itapocu. Esta água é utilizada para o cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* na Fazenda Experimental Yakult/UFSC.

A água foi filtrada numa tela de 50 micrômetros (reduzindo a entrada de zooplâncton nas unidades experimentais) e transferida para uma caixa de 1000 litros. A água foi homogeneizada e colocada nas unidades experimentais. As unidades experimentais foram colocadas em duas armações de madeira dentro da água de um viveiro de cultivo de camarão. Essa condição experimental permitiu que todos os tratamentos fossem submetidos às mesmas interferências climáticas dos viveiros de cultivo de camarão, porém sem a presença de sedimento e organismo de cultivo. A concentração de nitrogênio, fósforo e sílica na água foram mensuradas e os fertilizantes foram aplicados em dose única no início do experimento, para elevar a concentração destes nutrientes aos níveis pré-estabelecidos no item anterior.

O fotoperíodo foi natural com horas de luz e escuridão semelhantes (luz solar). Cada unidade experimental foi provida de aeração constante até o término do experimento, permitindo a homogeinização dos nutrientes e evitando a sedimentação das microalgas.

Foi realizada uma coleta de água antes do início do experimento, onde foram mensuradas as quantidades de nutrientes presentes na água (N-NH<sub>3</sub>; N-NO<sub>3</sub>; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) e PO<sub>4</sub>), então as quantidades de nitrogênio, fósforo e sílica foram ajustadasàs quaantidades e proporções desejadas. A coleta de água foi repetida em dias alternados após a adição dos fertilizantes durante 15 dias, totalizando 8 amostragens durante o período experimetal.

Sempre no período da manhã, em dias alternados, foram coletados 10 mL para contagem das microalgas e mais 10 mL foram utilizadosdos para análise da fluorescência *in* vivo. Mais 250 mL foram coletados e filtrados em filtro de acetato 0,45 µm (Sartorius Biolab Products) com auxílio de uma bomba a vácuo. Deste volume, 100 mL foi utilizado para análise de clorofila a extraída, 100 mL para análise de matéria orgânica e 50 mL foram utilizados para análise dos principais nutrientes (N-NH<sub>3</sub>; N-NO<sub>2</sub>; (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) e PO<sub>4</sub>).

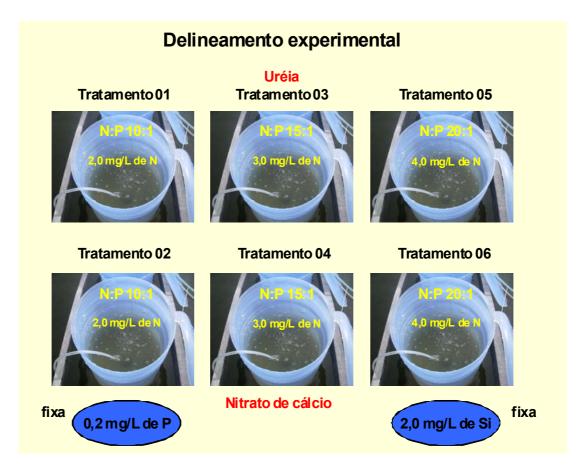


Figura 1. Delineamento experimental. As quantidades de nitogênio variaram enquanto que as quantidades de fósforo e sílica permaneceram fixas.

# Análise quali-quantitativa das microalgas

As classes algais monitoradas foram: Cyanophyceae, Bacillariophyceae e Dinophyceae, com ênfase nas diatomáceas nativas e cianobactérias. As amostragens foram feitas com auxílio de pipetas, onde antes era promovida uma homogeneização da cultura. A água coletada foi transferida

para tubos de ensaio com tampa e fixadas em lugol (1,5%) e acondicionadas em um refrigerador para posterior contagem e identificação. Com auxílio de uma câmera de Neubauer (Hiirchmann – Techcolor) e microscópio óptico (Bioval) com aumento de 400x foram realizadas a contagem das microalgas em número de células por mililitro e identificadas quando possível até o nível de gênero. A identificação das algas foi feita com o auxílio do manual STANFFORD (1999).

#### Determinação da abundância relativa dos táxons

REIS-PEREIRA (2002) classifica espécie dominante como aquela que possui no mínimo de 50% da densidade total da amostra. Espécie abundante é aquela que cuja densidade foi superior a densidade média de cada amostra (LOBO & LEIGHTON, 1986).

A Abundância Relativa é calculada de forma a demonstrar percentualmente o quanto cada táxon é presente dentro da amostra (ODUM, 1983). Portanto obtemos a abundância relativa dos gêneros através da seguinte fórmula: AR = X/Y \*100; onde: AR é a abundância relativa; X é o número de células do táxon contado; Y é o número total de células da amostra e 100 é a porcentagem.

#### Fluorescência "in vivo"

Este método baseia-se na determinação direta da fluorescência de células vivas (sem extração dos pigmentos). A fluorescência medida corresponde exatamente à biomassa da amostra, naquele momento. No presente estudo foram realizadas leituras em triplicata de cada repetição no horário da manhã. As amostras coletadas foram levadas ao fluorômetro para leitura (2µL de amostra), o qual foi utilizada uma curva de *Skeletonema costatum* para calibração. O método utilizado está descrito no protocolo BMLP.

## Clorofila a "in vitro"

As amostras foram filtradas em filtros milipore tipo acetato, em ambiente escurecido. No final da filtragem a bomba foi desligada onde foram adicionadas 02 gotas de carbonato de magnésio a fim de evitar a acidificação da clorofila (1g do produto diluídos em 100 mL de água deionizada). Depois a bomba foi religada novamente até o final da filtragem.

Os filtros foram dobrados ao meio, embrulhados em papel alumínio e estocados no freezer (-12°C). Uma semana depois do período experimental, os filtros foram imersos em 10 mL de acetona P.A. (90%) durante 24h a -8°C para extração da clorofila. No próximo passo as amostras além do "branco" (somente acetona), foram centrifugadas (centrífuga FANEM com capacidade para 8 amostras) durante 10 minutos a 3000rpm para eliminar a turbidez da amostra. O líquido sobrenatante foi retirado com auxílio de uma pipeta (2µL) para proceder com a leitura.

A leitura ótica foi realizada através de um Flurômetro (HACH), onde o resultado é dado pela equação: Cl  $\mu$ g/l = L x (v/V), onde "L"é a leitura, "v"o volume de acetona utilizado na diluição e "V" o volume da amostra. O método utilizado está descrito no protocolo BMLP.

#### Análise de matéria orgânica

Os filtros utilizados nesta análise foram do tipo milipore fibra de vidro  $(0,45\mu m)$ . O procedimento inicial envolveu a lavagem dos filtros em um Becker com água destilada por várias vezes. Os filtros foram colocados sobre um papel secante, depois colocados na estufa  $(60^{\circ}\text{C})$  por meia hora. No próximo passo os filtros foram colocados na mufla  $(430^{\circ}\text{C})$  por 2 horas e então pesados um a um em balança digital com 05 casas decimais. No final de cada filtragem foram adicionados em torno de 05 ml de formiato de amônio (0,5 M) para eliminar os sais da amostra. Os filtros foram congelados durante o período experimental a  $-30^{\circ}\text{C}$ . No próximo passo os filtros foram para a estufa  $(60^{\circ}\text{C})$  por 48h) e pesados, depois foram calcinados na mufla  $(430^{\circ}\text{C})$  por 2h) e pesados novamente para então se determinar a porcentagem de matéria orgânica.

#### Análise dos nutrientes

A análise dos nutrientes foi realizada através de um espectrofotômetro (HACH DR 2500), que foi calibrado inserindo cinco curvas de nutrientes (supracitados). A análise de amônia foi realizada no mesmo dia da coleta. As análises seguiram as seguintes metodologias: Fosfato (orto B/C) adaptado do FILHO, Davino F. dos Santos. (Método do Molibdênio). 1976. Nitrogênio Amoniacal: adaptado do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21°ed. 2005, 4500 F.b4-114. (Método do Indofenol). Nitrogênio Nitrato: adaptado do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21°ed. 2005, 4500 B. 4-118. (Método NTD). Nitrogênio Nitrito: adaptado do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21°ed. 2005, 4500 B. 4-118. (Método NTD). Sílica: adaptado do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21°ed. 2005, 4500 D. 4-167 (Método do Azul de Heteropolio). Os resultados forma expressos em PO<sub>4</sub>; N-NH<sub>3</sub> (corrigido pelo fator de multiplicação para água salobra); N-NO<sub>3</sub>; N-NO<sub>2</sub> e (Si-Si(OH)<sub>2</sub>).

#### Condições ambientais meteorológicas

Um fator importante na realização de fotossíntese é a radiação solar sobre o cultivo, no caso do sol, a radiação será diferente em relação à posição, grau de cobertura do céu e as estações do ano (MOREIRA, 1982).

Para esta medição dos fatores de condições climáticas, foram considerados: a luminosidade solar, ou seja, o índice de cobertura de nuvens e a presença ou não de chuva (mm/dia). A porcentagem do índice de cobertura de nuvens foi determinado diariamente através de uma média da fração do céu, considerando o período da manhã e da tarde. Para se determinar esta fração, o céu foi dividido em 08 partes iguais. Estas variantes foram corroboradas com os dados da obtidos pela EPAGRI da estação meteorológica de São Francisco do Sul (SC), neste período de estudo.

#### Variáveis físico-químicas

Os parâmetros físico-químicos da água (potencial hidrogeniônico, temperatura, porcentagem de saturação de oxigênio e oxigênio dissolvido) foram mensurados 03 vezes ao dia (8:00h; 18:00h e 1:00h). A alcalinidade e a salinidade foram monitoradas em dias alternados. A dureza da água foi medida no início e no final do experimento. Os equipamentos utilizados para medição dos parâmetros

foram: phâmetro AT 310; Oxímetro YSI 55, salinômetro e kit com reagentes para alcalinidade e dureza.

#### Avaliação da biomassa algal

O valor da biomassa algal foi obtido pela relação entre a matéria orgânica e a clorofila (através do método da extração).

#### Análise estatística

Foi utilizada análise de variância fatorial 2:3 (α<0,05) com parcela subdivididas no tempo, sendo fator 1 o fertilizante uréia ou nitrato de cálcio e o fator 2 a relação nitrogênio/fósforo 10:1, 15:1 e 20:1. Quando encontradas diferenças significativas pela análise de variância, foi realizado o teste Tukey de separação de médias ao nível de significância de 0,05. Foram realizadas analises de regressão exponencial para concentração de sílica e para as densidades celulares de diatomáceas e cianobactérias. Para todos os parâmetros analisados foram realizadas correlações lineares.

Para descrever as tendências de variação dos cultivos foi aplicada uma análise de ordenamento linear em componentes principais (PCA). A PCA foi aplicada considerando os seguintes fatores como fontes potenciais de variabilidade: densidade celular de diatomáceas e cianobactérias (cel/mL); N-NO<sub>3</sub> e (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) (mg/L). A escolha das variáveis utilizadas na PCA foi feita atendendo as premissas de normalidade univariada, normalidade multivariada, não colinearidade entre as variáveis (< 99%) e a inexistência de *outliers* (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998; MCGARIGAL *et. al.*, 2000). Os fatores considerados foram transformados preteritamente para *log* (x+1), a fim de se obter a normalidade univariada. Posteriormente a matriz de dados foi estandardizada para aplicação da PCA.

#### **RESULTADOS**

#### Densidade celular

As densidades celulares de cianobactérias e diatomáceas foram determinadas em dias alternados as através do método de contagem celular utilizando-se uma câmara de Neubauer. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para contagem celular de cianobactérias (Figura 1a) e diatomáceas (Figura 1b). Apesar de não haver diferença significativa, no último dia é possível obervar uma tendência dos tratamentos com uréia apresentaram valores superiores na contagem para diatomáceas, em relação aos tratamentos com nitrato de cálcio. Contudo, foi observado em todos os tratamentos que a concentração de cianobactérias decresceu significativamente (y=331470\*e<sup>-0,50\*x</sup>, r²=0,91) e a de diatomáceas aumentou (y=3968,28\*e<sup>0,15\*x</sup>, r²=0,68), com tendência dos tratamentos com uréia apresentaram valores superiores de densidade de diatomáceas, em relação às densidades encontradas nos tratamentos com nitrato de cálcio.

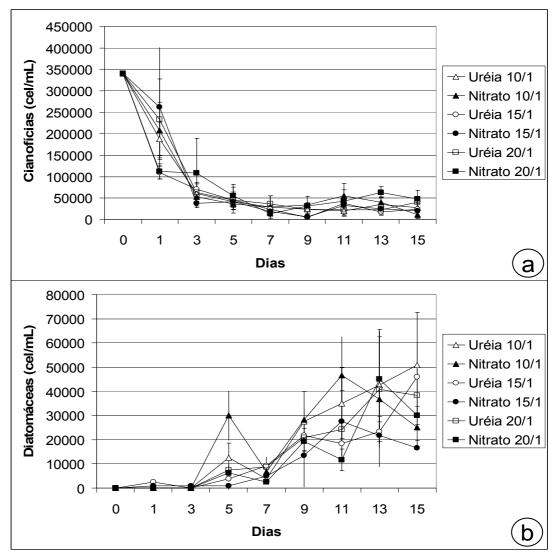


Figura 2: Contagem celular de cianobactérias (a) e diatomáceas (b) na água das unidades experimentais fertilizadas com nitrato de cálcio ou uréia e superfosfato triplo nas relações N:P 10:1, 15:1 e 20:1.

#### Determinação da abundância relativa dos taxons

Para determinação do Taxa dominante foi considerada a presença de três classes de microalgas: *Bacillariophyceae*; *Cianophyceae* e *Dinophyceae*, considerando o número de dias de dominância. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para determinação da abundância relativa de cianobactérias (Figura 3a) e de diatomáceas (Figura 3a). O Taxa *Nitzia sp.* foi dominante para todos os tratamentos dentro da classe *Bacillariophyceae*. A classe *Cianophyceae* foi representada pela espécie dominante *Pseudanabaena sp.* Outras espécies de diatomáceas com menor representatividade, porém abundantes foram: *Amphiprora sp.*, diatomácea penalles não identificada, *Chaetoceros sp.*, *Thalassiosira sp.*, *Melosira sp.* e *Navícula sp.* A presença da classe *Dinophyceae*, representada pela espécie *Gymnodinium sp.* ocorreu em algumas ocasiões em alguns tratamentos: tratamento 01 no dia 05; tratamento 02 nos dias 05, 07 e 15 e tratamento 04 no dia 03, com concentração inferior a 1250 cél/mL.

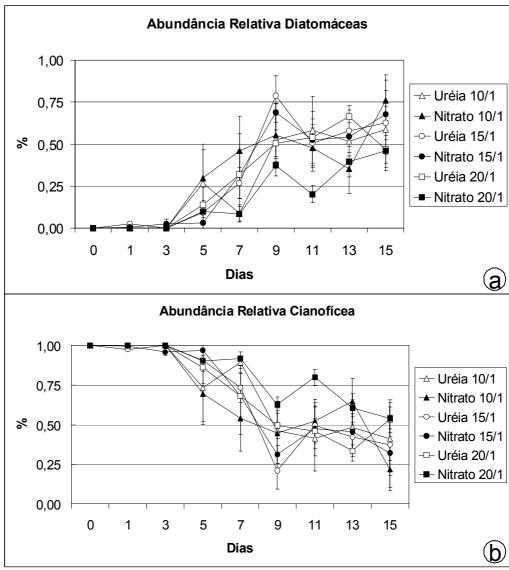


Figura 3: Abundância relativa de cianobactérias (a) e diatomáceas (b) na água das unidades experimentais fertilizadas com nitrato de cálcio ou uréia e superfosfato triplo nas relações N:P 10:1, 15:1 e 20:1.

#### Fluorescência "in vivo"

Este parâmetro foi utilizado como medida direta da eficiência fotossintética. Foi observada diferença significativa entre os tratamentos somente no sétimo dia de avaliação (Figura 04).

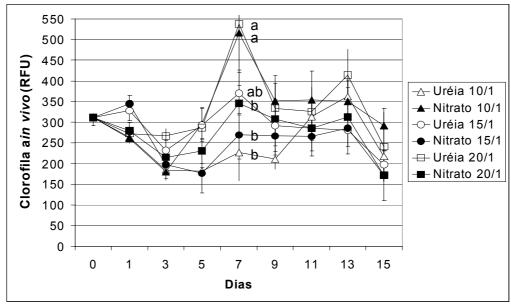


Figura 4: Variação da Fluorescência da clorofila a "in vivo" na água das unidades experimentais.

#### Clorofila a "in vitro"

Na figura abaixo (Figura 05), pode-se obserbar a variação da *clorofila a* durante o período experimental. Apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos durante o período experimental, é possível verificar maiores valores de *clorofila a* no dia 09 para os tratamentos fertilizados com uréia.

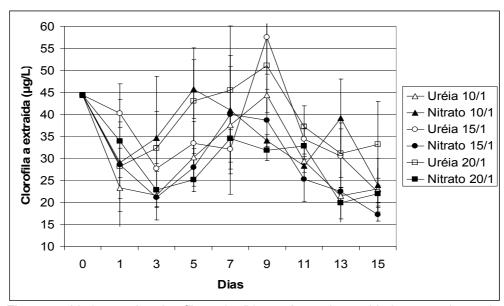


Figura 5: Variação da *clorofila a*  $(\mu g/L)$  na água das unidades experimentais através do método de extração.

# Matéria orgânica

O índice de matéria orgânica não apresentou diferença significativa entre os tratamentos durante o período experimental (Figura 06a e b).

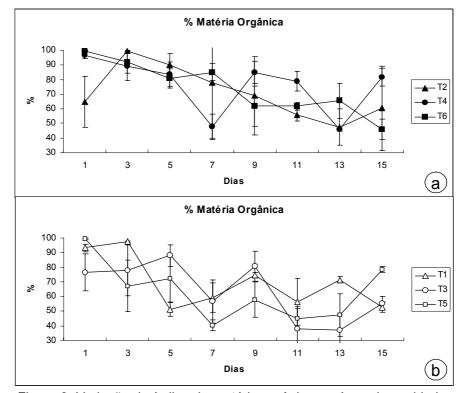


Figura 6: Variação do índice de matéria orgânica na água das unidades experimentais.

## Variação da biomassa algal

A partir do dia 5, não houve diferença significativa entre os tratamentos; todos eles apresentaram comportamento semelhante até o final do período experimental.

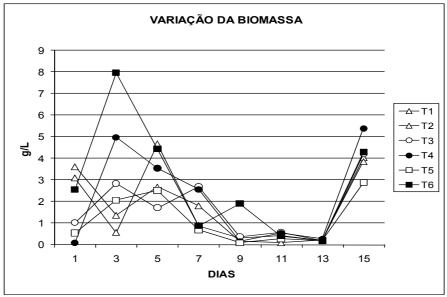


Figura 7. Variação da biomassa algal durante o período experimental na água das unidades experimentais.

#### Variáveis físico-químicas

Todos os parâmetros físico-químicos analisados se mantiveram dentro da faixa recomendável para o desenvolvimento das microalgas (MORALES, 1991; LIANG, 1991; COUTTEAU, 1996). Houve pequena variação dos parâmetros físico-químicos para todos os tratamentos. A temperatura média foi de 26,7°C±1,15, com valores mínimos e máximos de 23,4°C e 29,8°C respectivamente. O pH médio foi 8±0,21. Oxigênio médio foi de 6,69±0,83; a salinidade média foi de 22,3±2,43 e a alcalinidade média foi 78,6±7,06. A dureza da água utilizada no experimento era extremamente dura (>1000) (ETEVES, 1988).

#### Variação dos nutrientes

Em todos os tratamentos foi observavado uma elevação da concentração de amônia nos primeiros dias em função da aplicação dos fertilizantes. Os valores de N-NH<sub>3</sub> foram significativamente superiores nos dias 01 e 02 (Figura 09c).

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para  $PO_4$  (Figura 08) e  $(Si\text{-}Si(OH)_2)$  (Figura 09). Contudo foi observada uma queda exponencial na concentração de sílica (y=0,449\*e<sup>-0,08\*x</sup>, r<sup>2</sup>=0,71) em todos os tratamentos. No entanto foi observada diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05) para  $N\text{-}NO_3$  no dia e 11 (Figura 10b) e  $N\text{-}NO_2$  nos dias 9 e 11 (Figura 10a), em relação aos outros dias.

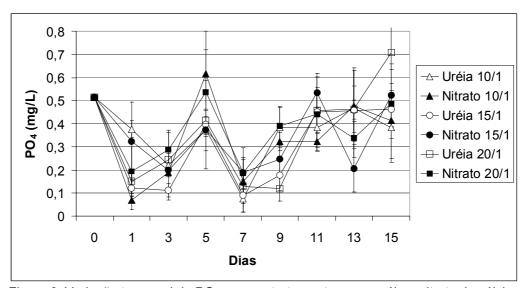


Figura 8: Variação temporal de PO<sub>4</sub> para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:1 e 20:1.

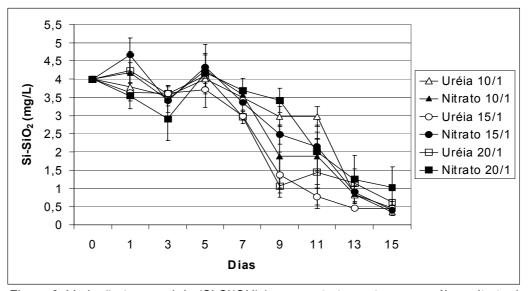


Figura 9: Variação temporal de (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:1 e 20:1.

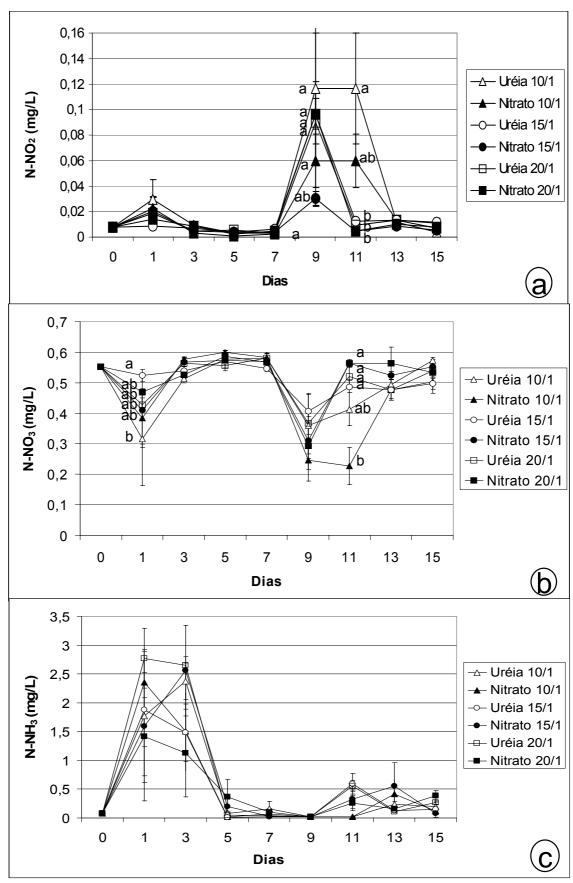


Figura 10: Variação temporal de N-NO<sub>2</sub> (a); N-NO<sub>3</sub> (b) e N-NH<sub>3</sub> (c) para os tratamentos com uréia e nitrato de cálcio com relação N:P 10:1, 15:1 e 20:1.

#### Condições ambientais meteorológicas

Esta figura representa a variação do índice de cobertura de nuvens durante o período experimental e os dias de presença de chuva.

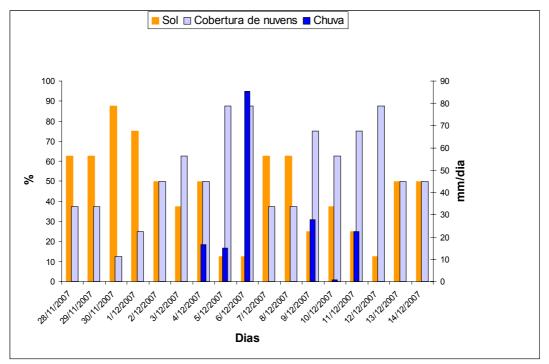


Figura 11: Variação climática durante o período experimental. Pode-se notar a predominância de dias com sol e alta luminosidade durante os cinco primeiros dias. Nos dias 07, 08, 09, 12, 13 e 14 presença de chuva.

#### Análise de componetes principais

A análise de componentes principais permitiu a extração e interpretação de dois eixos fatoriais que juntos explicam 72% da variação total. O eixo 02, responsável por 47,03% da variação, foi formado principalmente pelas coordenadas positivas resultantes das menores concentrações de sílica e coordenadas negativas resultantes da densidade de diatomáceas, refletindo o processo de fixação do silício pelas diatomáceas. O eixo 02 é formado também pelas coordenadas positivas resultantes da densidade de cianobactérias. O eixo 01, responsável por 25,23% da variação foi ordenado principalmente pelas coordenadas negativas resultantes das concentrações de nitrato (Fig. 10).

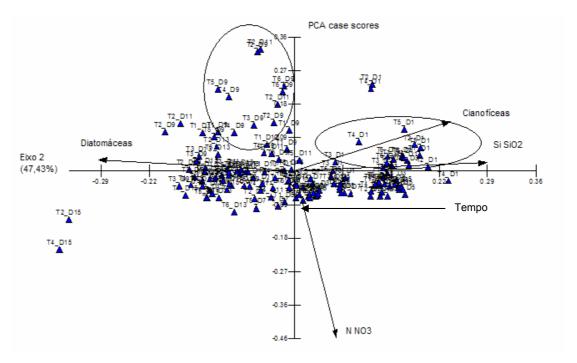


Figura 12: Principal Components Analysis. A análise de componentes principais permitiu a extração e interpretação de dois eixos fatoriais que juntos explicam 72% da variação total. O eixo 01, responsável por 25,23% da variação, e o eixo 02, responsável por 47,03%. Os círculos na figura correspondem às análises mais significativas.

#### Correlação

A correlação verificada entre os valores de  $(Si-Si(OH)_2)$  e densidade celular de diatomáceas foi negativa para os tratamentos 01; 03 e 05, com valor de r = -0,72. Para os tratamentos 02; 04 e 06, a correlação foi negativa, com r = -0,53; -0,63 e -0,59, respectivamente.

A correlação entre os valores de  $N-NO_2$  e  $N-NO_3$  foram negativas para os tratamentos 02; 04 e 06, com r = -0,77, -1,0 e -0,88. Para o tratamento 01 a correlação foi negativa, com r = -0,46.

#### **DISCUSSÃO**

A linha pesquisa conduzida neste trabalho foi similar àquelas utilizadas por outros pesquisadores (BOYD, 1992; CERDEIRA, 1998; WEGBECHER, 2000; MARINE & SEIFFERT, 2004; ARGENTO & SEIFFERT, 2005), que utilizaram diferentes relações de nitrogênio e fósforo como estímulo ao crescimento de microalgas.

De acordo com MORALES (1991), a tolerância às variações de salinidade das espécies de microalgas marinhas pode ser bastante ampla, de 12 a 40%0, com um ponto ótimo ao redor de 20%0. Para cultivos de diatomáceas esssas variações estão entre 20 a 25%0 (LIANG, 1991). As temperaturas ótimas para crescimento microalgal variam de 15 a 27°C. Abaixo de 15 graus a taxa de crescimento é reduzida e acima de 35 graus são letais para muitas espécies de microalgas (COUTTEAU, 1996). O mesmo autor salienta que o pH do meio em que as microalgas são cultivadas deve variar entre 7,2 e 9,0, com faixa ótima entre 8,2 e 8,7. Considerando estes conceitos, os parâmetros físico-químicos mensurados durante o período experimental estiveram dentro de uma faixa normal.

A oxigenação das unidades provavelmente contribuiu de maneira favorável para os fenômenos de nitrificação. A alcalinidade da água se manteve na faixa de 80 mg/L, com pequena variação do pH (8,0±0,21). O tamponamento da água permitiu a pequena variação do pH, situação comum em viveiros de peixes e camarões relativamente bem tamponados com valores variando entre 80-110 mg/L de CaCO<sub>3</sub> (TEW, 2006). A variação destes parâmetros físico-químicos sugere que os mesmos não foram o principal fator condicionante da alternância das densidades das comunidades algais (*Cianophyceae* e bacillariophyceae) e sim ação de fertilização, o que ocasionou um *imput* de nutrientes ao sistema, aumentando os níveis de amônia no início (Fig. 10c).

No local de estudo, o bombeamento de água para abastecimento da fazenda é feito depois de uma avaliação prévia dos parâmetros físico-químicos (temperatura, pH, oxigênio, salinidade e alcalinidade) e biológicos (composição e densidade celular de algas), que sofrem influência dos fenômenos oceanográficos responsáveis pela entrada de cunha salina para o estuário. Apesar da água de captação para abastecimento da fazenda de camarão e para realização deste trabalho apresentarem os parâmetros físico-químicos dentro do ideal para o cultivo de camarões, o inóculo de microalgas era predominantemente dominado por cianobactérias. Como já foi discutido, esta classe de microalgas não é desejável dentro dos viveiros na densidade celular que foi observada. CLIFFORD (1994) e NUNES (2001) sugerem, em cultivos semi-intensivos de camarões marinhos, que a densidade de algas totais permaneça entre 80.000 e 300.000 cél./mL. As densidades máximas de dinoflagelados e cianobactérias sugeridos por NUNES *op. cit.* são 500 cél./mL e 40.000 cél./mL, respectivamente. Os valores de células algais encontrados no final do período de estudo nestas condições experimentais, estiveram próximos aos valores recomendados por estes autores.

A disponibilidade de nutrientes no meio estuarino é um fator a ser levado em consideração, visto que em áreas onde ocorre aporte fluvial, as concentrações de nutrientes são em média maiores. A dominância da classe *Cianophyceae* no momento da coleta pode estar relacionada ao ambiente estuarino de entorno, o qual recebe cargas de nutrientes e ácido húmico da mata circundante além de

efluentes gerados de outras instalações agrícolas, que por sua vez utilizam fertilizantes de diversas origens.

Durante o período experimental ocorreram dias com sol forte e baixo índice de cobertura de nuvens, contrastando com outros dias com muita chuva e céu encoberto; situação comum na época do ano estudada.

As condições climáticas (Fig. 11) nos dias 06, 07, 08 e 09 (nublado), parecem não ter influenciado na predominância da população de cianobactérias, pois a densidade já estava em declínio (Fig. 02 a). As diatomáceas se beneficiaram do aporte de nutrientes nos cinco primeiros dias de sol para estabelecer sua população. Depois do dia 07, apresentaram um incremento na densidade populacional. Entretanto nos dias adiante, a radiação solar era menor se comparada ao início do período experimental, com períodos de sol e chuva intercalados. Este fator pode ter sido responsável para limitar o crescimento das diatomáceas, além do fator predação, através de organismos do microzooplâncton, que foram verificados em pequenas quantidades nos últimos dias de experimento (Fig. 02b). Apartir desta escala experimental, a fertilização ou refertilização em viveiros de cultivo deve ser realizada em dias de sol, de preferência observando a previsão do tempo, otimizando o desenvolvimento das algas ideais para o cultivo.

De acordo com os valores de *clorofila a* encontrados (17µg/L a 58µg/L), não se pode dizer que tais valores correspondem exatamente à biomassa representada pelos gêneros identificados de diatomáceas e cianobactérias, pois parte do plâncton é representada por organismos do ultra, do pico e do nanoplâncton, que são responsáveis em algumas ocasiões por produzirem taxas fotossintéticas maiores (PEREIRA & GOMES, 2002). O conteúdo de *clorofila a* em uma célula algal não é constante, podendo variar com o estado nutricional da alga e taxa de luminosidade (BOURNE *et al.*, 1989).

LEVINGTON (1995), ressalta que a amônia na água pode inibir a captura da forma de nitrato pelo fitoplâncton. MCCARTHY (1981), considera que a assimilação e incorporação do nitrato são uma via energeticamente menos favorável de nutrição de nitrogênio pelo fitoplâncton, sendo a amônia o substrato preferencial do fitoplâncton e somente após estar quase que completamente esgotadas quantidades significativas de nitrato serão assimiladas. ESTEVES (1988) ressalta que para o íon amônio não há necessidade de redução no interior da célula como ocorre com o nitrato, que é reduzido a amônia através da enzima nitrato-redutase. Este autor considera ainda que a oferta no meio de compostos inorgânicos nitrogenados como a amônia livre, pode inibir a síntese de nitrogenase, dependendo do nível de nitrogênio combinado fornecido. Esta discussão pode estar relacionada ao fato de que em todas as unidades experimentais fertilizadas houve queda na concentração de cianobactérias.

As correlações encontradas para diatomáceas e (Si-Si(OH)<sub>2</sub>) foram negativas para os tratamentos com nitrato de cálcio e uréia, com melhor coeficiente para este último fertilizante. A concentração deste nutriente disponível para as microalgas no dia 15 foi inferior a 0,2 mg/L para todos os tratamentos, exceto o tratamento 6. O tratamento 01 (uréia N:P 10:1) apresentou densidade celular máxima de diatomáceas no dia 15 (50833,33 cél/mL) e a menor concentração de sílica neste dia (0,17 mg/L).

Os valores de nitrato encontrados para os tratamentos com nitrato de cálcio podem conferir uma relação mais estreita entre as bactérias do gênero nitrobacter e nitrossomonas, o que também pode ser suposto pela análise dos componetes principais (Fig. 12). Esta análise explica 72% das interações. O eixo 2, responsável por 47,03% da variação, foi formado principalmente pelas coordenadas positivas resultantes das menores concentrações de sílica e coordenadas negativas resultantes da densidade de diatomáceas. Os baixos valores de nitrato observados no dia 9 são explicados pelo eixo 1 (25,23%), o que provavelmente reflete a absorção deste nutriente pelas algas.

No primeiro dia a população de diatomáceas utilizou provavelmente como fonte principal de nutriente o nitrato. Os altos valores observados para amônia entre os dias 1 e 3 vieram como resposta aos fertilizantes aplicados à água. Uma fração dessa amônia reflete a ação das bactérias nitrificadoras, o que é benéfico para a aqüicultura tendo em vista a toxidez potencial dessa substância para os cultivos (SPOTTE, 1979). Outra fração de amônia provavelmente foi volatilizada. Até o dia 05, outra parcela da amônia provavelmente foi utilizada biologicamente pelas diatomáceas colonizadoras antes de ser oxidada a nitrato (fig. 10). Portanto houve o estabelecimento da população de diatomáceas até os dias 5 e 7 (fig. 02). Os dados indicam que o desenvolvimento das diatomáceas entre o penúltimo e último dia (tratamento 1) está relacionada à fixação de nitrogênio através da amônia. O fósforo variou normalmente conforme a fixação de nitrogênio pelas microalgas (Fig. 08). Tanto fósforo quanto o nitrogênio mensurado podem ter relação com a decomposição de organismos na coluna d'água, como as cianobactérias, que apresentaram queda em sua densidade celular, além das outras espécies de algas e zooplâncton que existia na água.

Apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos para densidade celular (Fig. 2a e 2b) e abundância relativa (fig. 3a e 3b), podem ser observados nestes gráficos que no final do período experimental a densidade de diatomáceas para os tratamentos fertilizados com uréia estiveram no mesmo patamar ou até num patamar superior às densidades de cianobactérias e a abunância de diatomáceas apresentou valores superiores a 50%, com exceção dos tratamento 5 e 6 (uréia N:P 20:1 e nitrato de cálcio N:P 20:1). Provavelmente se o experimento fosse conduzido por mais alguns dias a tendência seria uma queda da densidade de cianobactérias e aumento na densidade de diatomáceas. A água de entorno onde estavam contidas as unidades experimentais foi a mesma água utilizada para o experimento, porém sem fertilização alguma, servindo como controle experimental. Foi observado que até o final do período experimental, a densidade de cianobactérias não se alterou, sendo observado um valor médio de 340.000 cél/mL, e a densidade de diatomáceas foi inferior a 500 cél/mL.

Neste estudo não foram adicionadas às unidades experimentais nenhuma forma extra de carbono além dos fertilizantes, o que de certa forma pode ter limitado o crescimento e desenvolvimento das culturas de diatomáceas, além dos outros fatores já discutidos antes. Segundo DERNER (2006), o carbono é um nutriente essencial. Este elemento serve de fonte energética e também para a construção de biomassa; além de influenciar na quantidade de lipídeos e no grau de insaturação dos ácidos graxos.

Dentre a diversidade de espécies de diatomáceas encontradas neste estudo, algumas delas são utilizadas em larvicultura de camarões: *Bacillariophyceae* Centrales como: *Chaetoceros. sp.* e

Thalasiossira sp.; Bacillariophyceae Pennales como: Amphora sp. e Navícula sp (COUTTEAU, 1996). Dentro da classe Bacillariophyceae, o taxa dominante neste estudo para todos os tratamentos foi a Nitzchia sp. e os taxas mais abundantes foram: Chaetoceros. sp. e uma espécie de diatomácea pennales não identificada. A alternância das densidades das comunidades algais neste estudo parece estar mais relacionada com a qualidade de nutrientes ofertadas e a habilidade de fixação dos nutrientes pelas algas, além do fator competição entre as espécies (TILMAM, 1977). Em todos os tratamentos foi verificado que com o passar dos dias foram sendo formados grumos (formados por microoalgas e outros microrganismos associados à matéria orgânica) aderidos à parede dos galões, conseqüência do aumento da biomassa da cadeia trófica através da incorporação das formas de nutrientes dissolvidos e particulados pelos organismos presentes na água. A água coletada para todas as análises foi da coluna d'água (homogneizada), entretanto foi verificado que nesses grumos havia uma predominância acentuada de diatomáceas representadas principalmente pelas espécies: Nitzchia sp. e Amphiprora sp., sendo a primeira com maior representatividade, atingindo densidades superiores a 100.000 e 150.000 cél/mL nessas condições.

A diminuição no pH nos viveiros de cultivo em função da aplicação de uréia como reportado por BOYD (2003), pode levar semanas, e geralmente ocorre a noite. Para evitar essa acidificação decorrente deste processo, o autor recomenda como prática necessária repor a fertilização com a utilização de fertilizantes a base de nitrato. A uréia tem sido o fertilizante mais barato no mercado e também o mais utilizado há décadas, e neste período as pesquisas com fertilizantes tem documentado acidificação em viveiros o qual fora atribuído diretamente à oxidação da amônia. No local de estudo quando existe uma dominância de cianobactérias nos viveiros de camarões, medidas de manejo nos viveiros são adotadas, como troca parcial da água (da superfície e/ou fundo) ou calagem a noite, utilizando carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) ou a cal virgem (CaO). Estes produtos têm um preço barato e incrementam o sistema tampão do meio, além de não causar prejuízo ambiental eapresentarem efeito bactericida. A possível diminuição no pH pela oxidação da amônia, pode ser compensada pela manutenção do tamponamento durante o ciclo de cultivo (TACON, 1989). Por isto ressaltamos a importância de evoluir os conhecimentos sobre os diferentes fertilizantes e seus efeitos para o ambiente de cultivo.

De forma geral, a uréia apresentou-se como fertilizante mais eficaz para o desenvolvimento de diatomáceas na relação N:P 10:1. A relação N:P 10:1 de nitrato de cálcio apresentou melhores resultados do que relações N:P maiores para este fertilizante, como 15:1 e 20:1. Ao se fertilizar um viveiro, é importante não superestimar as quantidades de nutrientes já existentes. Assim o manejo se torna menos oneroso, além de contar com menor risco de degradação do solo e da água (BEZERRA, 2005). O manejo da fertilização se torna, portanto econômica e ambientalmente mais favorável. BOYD (1992), recomenda aplicações de 50 a 100 Kg/ha de silicato de sódio para desenvolvimento de diatomáceas. Os resultados deste estudo indicam que quantidades menores (4,4 Kg/ha) promoveram o desenvolvimento de diatomáceas, pois a água já continha 1,9 mg/L de sílica. Sem medir a quantidade de sílica na água, para atingir 2,0mg/L deste nutriente seria necessária a aplicação de cerca de 62 Kg/ha do mesmo produto.

Deve-se considerar que no fertilizante nitrato de cálcio (15,5% de N disponível), a quantidade de nitrogênio necessária para atingir a mesma quantidade de nitrogênio do fertilizante uréia (45% de N disponível) é três vezes maior. A uréia é mais barata do que o nitrato de cálcio e mais favorável do ponto de vista ambiental, pois o *imput* de nutrientes no sistema é menor, e menores quantidades de fertilizantes são aplicadas para atingir a mesma quantidade de nitrogênio presente no nitrato de cálcio. A uréia hoje custa em torno de 70% do preço do nitrato de cálcio. Os dados desta pesquisa indicam que para atingir as relações N:P desejadas, pequenas quantidades de nutrientes devem ser aplicadas nos viveiros. É interessante acompanhar semanalmente as classes de algas dominantes ou abundantes que existem nos viveiros, e de acordo com essas avaliações verificar a possibilidade de fertilizar novamente os viveiros, respeitando as quantidades de nutrientes preexistentes na água.

#### CONCLUSÃO

Todas as relações de nitrogênio e fósforo utilizadas neste trabalho, independente da fonte de nitrogênio utilizada, favoreceram o crescimento da classe *Bacilariophyceae* em detrimento da classe *Cianophyceae*. Entretanto nesta escala experimental, a uréia foi considerada como o fertilizante mais eficaz para o desenvolvimento de diatomáceas. A forma mais economica e ambientalmente favorável como medida de fertilização de viveiros é o uso de uréia, com relação nitrogênio/fósforo 10:1 e concentrações de 2,0 mg/L de nitrogênio e 0,2 mg/L de fósforo. Os dados desta pesquisa indicam que para atingir as relações N:P desejadas, pequenas quantidades de nutrientes devem ser aplicadas nos viveiros, respeitando as quantidades preexistentes na água.

#### **REFERENCIAS**

ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture**, 219, 1-4, 317-336. 2003

ARGENTO, J. R & SEIFFERT, W. Q. **Efeito da aplicação de fertilizantes nitrogenados e sílica no crescimento de microalgas**. CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA. Espírito Santo. Anais, 2005.

AVAUT, J. W. Fertilization: Is there a role for it aquaculture. **Aquaculture Magazine**, Asheville, v. 29, n. 2, p. 47 – 52, 2003.

BEZERRA, D. F. O. A fertilização e a boa presença das microalgas nos viveiros de camarão. **Panorama da Aqüicultura**, ed. especial - Carcinicultura. Vol. 14, no 86. Novembro/Dezembro - 2005.

BOYD C. E. **Manejo da qualidade da água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho.** Associação Brasileira de Criadores de camarão (ABCC). Universidade de Alburn Alabama, 1992.

BOYD, C. E. Fertilizantes químicos na aqüicultura de viveiros. **Revista da ABCC**, Recife, v. 5, n. 3, p. 79-81, setembro de 2003.

CERDEIRA, F. F. Efeito de diferentes relações de nitrogênio e fósforo sobre o crescimento de diatomáceas dominantes em viveiros de cultivo de camarões marinhos, em diferentes salinidades. 1998 (Tese de mestrado). Unversidade Federal de Santa Catarina. Florianóplois.

CLIFFORD, H.C. 1994 **El manejo de estanques camaroneros**. In: SEMINARIO DE CAMARONICULTURA EN MÉXICO, Sinaloa, 1994. **Anais**. Sinaloa: Purina Internacional. p.10-12.

COUTTEAU, P. Micro-algae In: PLAVENS; p. Sorgeloos Ed. Manual on tha production and use of live food for aquaculture, **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 361. Rome, p. 7-48, 1996.

DENER, R. B. Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos polinsaturados. 2006 (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. 2a ed. - Rio de Janeiro, 1998. 602p.

KUBITZA F. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. 1a ed. Jundiaí, SP, 2003. 229p. il.

LEVINGTON, J. **Marine Biology**. Function, biodiversity and Ecology. Oxford University. press, Inc. 1995.

LEGENDRE, L.; LEGENDRE, P. **Numerical ecology**. 2<sup>a</sup> Ed. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. Company. 1998.

LIANG, I. Cultivation of marine unicellular algae. Lab. Leafl. MaMAFF Direct. **Fish. Res**., Lowestoft, n.67:31p. 1991.

LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctônicas de los sistemas de desembocaduras de rios yesteros de la zona central de Chile. **Revista de Biologia Marinha**, Valparaiso, v. 22, n. 1, p. 1-19, 1986.

McGARIGAL, K., CUSHMAN, S., STAFFORD, S. Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research. New York, Spring-Verlang. 2000.

MARINE, E. & SEIFFERT, W. Q. Efeito da utilização de diferentes fertilizantes nitrogenados no incremento diário da concentração de microalgas diatomáceas. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQÜICULTURA. Florianópolis. Anais. 2004.

MARTINEZ-CÓRDOVA, L. R. (1998). **Ecologia de los sistemas acuícolas**. AGT Editor, S.A., México. 227p.

MCCARTHY, J.J., 1981. The kinetics of nutrient utilization. In: Platt, T.J. Physiological Bases of Phytoplankton Ecology. **Can. Fish. Res. Board Bull.**, 210. Ottawa, Canada, pp. 211–233.

MORALES, J. C. Aquacultura marinha animal. 3ª edição, Ed. Mundi-prensa, Madrid, 671p. 1991.

MOREIRA, V. A. **Iluminação e fotometria: teoria e aplicação**. Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 196p. 1982.

NUNES, A.J.P. Alimentação para camarões marinhos. Parte II. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, *11*(63): 13-23. 2001.

NUNES, A. J. P., GESTEIRA, T. C. V., GODDARD, S. Food ingestion and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 149, p. 121-136, 1997.

ODUM, E. P. Ecologia. Trad. R. I. Rios. 1. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1983.

OSTRENSKY, A. N & BARBIERI, R. C. J.;. **Camarões marinhos – Engorda**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002, 352p.

PEREIRA, C. R. & GOMES, A. S. Biologia marinha. Ed. Interciência Ltda. 196 p. 2002.

REIS-PEREIRA, V. L. **A Limnologia e o gerenciamento integrado do reservatório da Usina Hidrelétrica Luis Eduardo Magalhães** — UHE Lajeado, Tocantins. São Carlos/SP, 2002(a). Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) — Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

SPOTTE, S. Fish and Invertebrate culture: water management in closed ntystem. First edition; Wiley; New York. 1979 144p. In **Aqüicultura - Experiêncis brasileiras**, 2006. 59p.

STANFFORD, C. **Phytoplanckton of aquaculture ponds**. Collection. Analysis and identification. 1999.

TACON, A. **Nutrición e Alimentación de Peces e Camarones Cultivados**. Manual de Capacitación. Proyecto Aquila II, Documento de Campo n 4, GCP/RLA/102/ITA. FAO-Italia. Brasilia. 1989. 572p.

TILMAM, D. Resourse competition between planktonic algae: na experimental and theorical approach. **Ecology**. V.58, p. 338-348, 1977.

VALIELA, I. 1995. Marine ecological processes (2nd. Edition). Springer-Verlag, New York. 686 p.

WEGBECHER, F. X. **Efeito do uso de diferentes fertilizantes químicos sobre o crescimento de diatomáceas nativas**. 1998.(Tese de mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

# REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

ALONSO-RODRIGUEZ & PAEZ-OSUNA. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture**, 219, 1-4, 317-336. 2003

ARGENTO, J. R & SEIFFERT, W. Q. **Efeito da aplicação de fertilizantes nitrogenados e sílica no crescimento de microalgas**. CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA. Espírito Santo. Anais, 2005.

AVAUT, J. W. Fertilization: Is there a role for it aquaculture. **Aquaculture Magazine**, Asheville, v. 29, n. 2, p. 47 – 52, 2003.

BEZERRA, D. F. O. A fertilização e a boa presença das microalgas nos viveiros de camarão. **Panorama da Aqüicultura**, ed. especial - Carcinicultura. Vol. 14, no 86. Novembro/Dezembro - 2005.

BOYD C. E. **Manejo da qualidade da água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho.** Associação Brasileira de Criadores de camarão (ABCC). Universidade de Alburn Alabama, 1992.

BOYD C. E. **Manejo do solo e da qualidade da água em viveiros para aqüicultura.** Trad. Eduardo Ono, Campinas: Associação Americana de soja. 55p. 1997.

BOYD, C. E. Fertilizantes químicos na aqüicultura de viveiros. **Revista da ABCC**, Recife, v. 5, n. 3, p. 79-81, setembro de 2003.

BRIAND, Jean-François *et al.* Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. **Vet. Res**. 34 (2003) 361–377.

CERDEIRA, F. F. Efeito de diferentes relações de nitrogênio e fósforo sobre o crescimento de diatomáceas dominantes em viveiros de cultivo de camarões marinhos, em diferentes salinidades. Tese de mestrado. (1998).

CORREIA, E. S.; PEREIRA, J. A.; SILVA, A. P.; HOTOWITZ, A.; HOROWITZ, S. Growout of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in fertilized ponds with reduced levels of formulated feed. **Journal World Aquaculture Society**. Baton Rouge, v. 34, p. 184-191, 2003

CORTÉS-ALTAMIRANO, R., LICEA-DURA´N, S. Florecimientos de microalgas nocivas en estanques para cultivo semi-intensivo de camaro´n en Me´xico. **Rev. Latinoam. Microbiol**. 41, 157–166 (in Spanish), 1999.

DENER, R. B. Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos polinsaturados. 2006. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópols.

ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. 2a ed. - Rio de Janeiro, 1998. 602p.

GÓMEZ-AGUIRRE, S. & MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R., 1998. El Fitoplancton. In: Martínez-Córdova, L.R. (Ed.), **Ecologia de los sistemas acuícolas**. AGT Editor, México, D.F., pp. 77– 94 (in Spanish).

KUBITZA F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões.** 1a ed. Jundiaí, SP, 2003. 229p. il.

LEVINGTON, J. **Marine Biology**. Function, biodiversity and Ecology. Oxford University. press, Inc. 1995.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas**. Princípio e aplicações. São Carlos: Rima, 2006. 606 p. il.

LUCIEN-BRUN, H. & VIDAL, F. 2006. Quality issues in marketing white shrimp *Penaeus Vannamei* to European markets. Part 1: Influence of farming methods. **Aqua Culture AsiaPacific Magazine**, 2(3): 32-33.

MCCARTHY, J.J., 1981. The kinetics of nutrient utilization. In: Platt, T.J. **Physiological Bases of Phytoplankton Ecology**. Can. Fish. Res. Board Bull., 210. Ottawa, Canada, pp. 211–233.

MARGALEF, R. 1974 - Ecologia. 951 p. Omega, Barcelona.

MARINE, E. & SEIFFERT, W. Q. Efeito da utilização de diferentes fertilizantes nitrogenados no incremento diário da concentração de microalgas diatomáceas. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQÜICULTURA. Florianópolis. Anais. 2004.

MARTIN-JÉSÉQUEL V.; HILDEBRAND M. & BRZEZINSK M. A. Silicon metabolism in diatons: implications for growth. REVIEW. **Journal of Phycology**. 36, 821-840p. 2000.

MARTINEZ-CÓRDOVA, L. R. (1998). **Ecologia de los sistemas acuícolas**. AGT Editor, S.A., México. 227p.

NUNES, A. J. P., GESTEIRA, T. C. V., GODDARD, S. Food ingestion and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 149, p. 121-136, 2001.

NYAMIEN. Avaliação da produção de Scenedesmus em larga escala. XII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQÜICULTURA. **Anais**. 2004.

OSTRENSKY, A. N & BARBIERI, R. C. J.;. **Camarões marinhos – Engorda**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002, 352p.

PAEZ-OSUNA. **Camaronicultura y Medio Ambiente**. Instituto de Ciências de Mar y Limnología. Universidad Nacional Autônoma de México. Mazatlán, Sinaloa, México. 2001.

PEREGRINO, L. H. *et al.* Compromisso com a preservação do ecossistema manguesal. **Revista da ABCC**. Ano 7, n. 4; dezembro de 2005.

SILVA, L. O. B.; COSTA, W. M.; GÁLVEZ, A. O. Matéria orgânica do solo em viveiros de camarão. **Panorama da agüicultura**, v. 15, p. 63-65, 2005.

SOUZA, F. M. L. D., R.; M. KNUCKEY, S. HOHMANN; R. C. PENDREY. Flocculated microalgae concentrates as diets for larvae of the tiger prawn Penaeus monodon Fabricius. **Aquaculture Nutrition**, 8, 2, 113-120. (2002).

VALIELA, I. 1995. Marine ecological processes (2nd. Edition). Springer-Verlag, New York. 686 p.

VILLALÓN, J. R. Practical Manual for Semi-intensive Comercial Production of Marine Shrimp. Texas A & M University Sea Grant Collage Program, Collage Station, Texas USA, p. 104, 1990.

VINATEA, L. A. Fundamentos de aquicultura. Ed. da UFSC - Florianópolis, 2004. 349p.

VRIELING, E. G. *et al.* Diatom silicon biomineralization as an inspirational source of new approaches to silica production. **Journal of Biotechnology**, vol 70, issues 1-3. 39-51p., 1999.

WANG, J. K. Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system. **Aquacultural Engineering**, 28, 1-2, 37-46; 2003.

WEGBECHER, F. X. **Efeito do uso de diferentes fertilizantes químicos sobre o crescimento de diatomáceas nativas**. 1998.(Tese de mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

WETZEL, R. Limnology. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1975.