



Universidade Federal do Ceará
Instituto de Ciências do Mar
Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais

**AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO
NO CULTIVO INTENSIVO DE *Litopenaeus*
vannamei (BOONE, 1931) EM VIVEIROS
DE TERRA EM SISTEMA FECHADO**

Enox de Paiva Maia

N. Cham.: D 636.08 M185a
Autor: Maia, Enox de Paiva
Título: Avaliação do uso de probiótico



13848174

Ac. 74381

BICM

Fortaleza - Ceará
Agosto - 2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

**AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO CULTIVO
INTENSIVO DE *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) EM
VIVEIROS DE TERRA EM SISTEMA FECHADO.**

ENOX DE PAIVA MAIA

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciências Marinhas Tropicais do Instituto
de Ciências do Mar da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de MESTRE.

Orientadora:
Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira

FORTALEZA – CE

Agosto / 2004

*A Deus. aos meus pais Elisio Vicente Maia e Maria Olivia Maia
 e a minha família: Luciana Maia (esposa),
 a meus filhos: Enox de Paiva Júnior,
 Cario Sheves Paiviandre Maia,
 Rafael Paiviandre Maia.
 Mércia de Moraes e
 ao meu netinho
 Lucca Amaro.
 Com amor.*

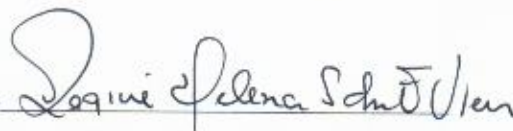
DEDICO

Após a finalização dos trabalhos da defesa de Dissertação de Mestrado de ENOX DE PAIVA MAIA, intitulada "AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO CULTIVO INTENSIVO DE *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE, 1931) EM VIVEIROS DE TERRA EM SISTEMA FECHADO a Banca Examinadora considerando o conteúdo do trabalho e a apresentação realizada considera a **DISSERTAÇÃO APROVADA**.

Profa. Dra. Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira
(orientadora)



Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira
(membro efetivo)



Prof. Dr. Alfredo Olivera Galvez
(membro externo)



AGRADECIMENTOS

À minha Orientadora e Amiga, Professora Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira, pelos ensinamentos, acompanhamento, dedicação, paciência, orientação e conhecimentos transmitidos.

À Professora Regine Helena dos Fernandes Vieira, à Amiga Hilda Maria Pinheiro de Castro e a toda equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do LABOMAR, pelo apoio, ensinamentos e especial colaboração e ajuda nos trabalhos de laboratório, ao Professor Alfredo Olivera Galvéz pelas valiosas informações e colaborações e ao Engenheiro George Modesto, pela grande contribuição nas análises de campo.

Aos amigos Everton Della Giustina e Marcos Alberto Reis, pelas constantes colaborações e ajudas na elaboração deste trabalho, a Pedro Carlos Martins e Antônio Carlos Nogueira Limas, pelas colaborações valiosas.

Aos amigos: Marcos Luciano Aragão, Luis Paulo, Renato Martins, Ademi Costa, Alex Bologna, Adhemar Pereira, José Viana, Enock Cavalcant da Aquacel Aquacultura; Adalmir Valentim e a toda a Diretoria da Compescal, pela compreensão por conta das minhas ausências durante todo o período do mestrado. A todos os amigos da Aquarium Aquacultura pelas grandes colaborações na condução do experimento de campo.

Aos administradores, professores e servidores do LABOMAR, em especial ao Pedro Alexandre Valentim Neto, pela amizade, receptividade e disponibilidade na ajuda e cooperação no trabalho.

A Deus

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1. Caracterização das Áreas Usadas e Potenciais para a Carcincultura	8
2.2. Caracterização e Ecologia dos Sistemas de Produção	9
2.3. Importância da Biotecnologia e Conceituação de Probiótico	13
2.4. Aplicação de Probióticos na Aqüicultura	15
2.4.1. Uso de Probióticos no Cultivo de Camarão Marinho	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Caracterização da Área do Estudo	26
3.1.1. Descrição da Estrutura Física da Fazenda	27
3.1.2. Sistema de Captação e Circulação de Água	28
3.1.3. Sistema de Tratamento de Efluentes	28
3.2. Caracterização do Sistema de Cultivo	29
3.2.1 Preparação dos Viveiros	29
3.2.2. Transferência dos Juvenis e Estocagem dos Viveiros	31
3.2.3. Monitoramento das Variáveis Físico-químicas de Qualidade da Água	33
3.2.4. Monitoramento das Variáveis Biológicas de Qualidade da Água	34
3.2.5. Monitoramento Bacteriológico	34
3.2.5.1. Coleta das Amostras	34
3.2.5.2. Preparação das Diluições das Amostras	35
3.2.5.3. Ensaio Bacteriológicos	36

3.2.6.	Recirculação de Água e Manejo Alimentar	37
3.2.7.	Manejo, Avaliação Populacional e Colheita	37
3.3.	Análise Estatística dos Dados	39
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1.	Caracterização do Sistema de Produção	40
4.1.1.	Variáveis Físico-químicas de Qualidade da Água	40
4.1.1.1.	Temperatura	40
4.1.1.2.	Salinidade	43
4.1.1.3.	Oxigênio Dissolvido	44
4.1.1.4.	Potencial Hidrogeniônico (pH)	47
4.1.1.5.	Amônia Total	48
4.1.1.6.	Nitrito	50
4.1.1.7.	Nitrato	52
4.1.1.8.	Fosfato	54
4.1.1.9.	Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	57
4.2.	Variáveis Biológicas de Qualidade de Água	59
4.2.1.	Fitoplâncton	59
4.2.2.	Zooplâncton	68
4.2.3.	Monitoramento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Viáveis (BHAV) e de <i>Vibrio</i> spp.	71
4.2.3.1	BHAV no Solo	71
4.2.3.2.	<i>Vibrio</i> spp. no Solo	72
4.2.3.3.	BHAV na Água de Superfície	75
4.2.3.4.	<i>Vibrio</i> spp. na Água de Superfície	75
4.2.3.5.	BHAV na Água de Fundo	78
4.2.3.6.	<i>Vibrio</i> spp. na Água de Fundo	79
4.2.3.7.	BHAV no Camarão	82
4.2.3.8.	<i>Vibrio</i> spp. no Camarão	82
4.2.4.	Recirculação de Água e Manejo Alimentar	84

4.2.5. Manejo, Avaliação Populacional e Colheita	87
5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais países produtores mundiais de camarão de cultivo em 2003.	2
Tabela 2	Quadro geral da carcinicultura brasileira em 2002 e 2003.	3
Tabela 3	Aplicação do probiótico durante o experimento, expressa em dosagens e concentrações.	31
Tabela 4	Peso médio inicial, com os respectivos desvios padrões e valores mínimos e máximos, dos juvenis de <i>L. vannamei</i> estocados nos viveiros experimentais.	32
Tabela 5	Métodos adotados para as análises químicas dos nutrientes na água dos viveiros experimentais.	33
Tabela 6	Consumo de probiótico e outros insumos nos viveiros experimentais.	38
Tabela 7	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de diatomáceas e clorofíceas nos viveiros teste e controle, durante o experimento.	65
Tabela 8	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de cianofíceas e dinoflagelados nos viveiros teste e controle, durante o experimento.	66

Tabela 9	Ocorrência média do zooplâncton (Ind/L) nos viveiros teste e controle durante o experimento.	71
Tabela 10	Valores médios \pm desvio padrão das unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas aeróbicas viáveis (BHAV) no solo (UFC/g) e na água de superfície (UFC/ml) dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	74
Tabela 11	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de <i>Vibrio</i> spp. (UFC/g) no solo dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	75
Tabela 12	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de <i>Vibrio</i> spp. (UFC/ml) na água de superfície dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	76
Tabela 13	Valores médios \pm desvio padrão das unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas aeróbicas viáveis (BHAV) na água de fundo (UFC/ml) e no camarão (UFC/g) dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	78
Tabela 14	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de <i>Vibrio</i> spp. (UFC/ml) na água de fundo dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	79
Tabela 15	Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência do <i>Vibrio</i> spp. (UFC/g) no camarão dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	83

Tabela 16 Dados gerais dos parâmetros de cultivo de *L. vannamei* nos viveiros teste e controle. 95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Participação porcentual dos principais Estados produtores de camarão de cativeiro na produção nacional em 2003.	3
Figura 2	Planta de situação e localização da fazenda experimental.	27
Figura 3	Sistema de tratamento de efluentes: cultivo de <i>Ruphia</i> spp. e <i>C. rhizophorae</i> .	29
Figura 4	Variação média semanal da temperatura medida às 05:00 horas nos viveiros teste e controle.	41
Figura 5	Variação média semanal da temperatura medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle	42
Figura 6	Variação média semanal da salinidade medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	43
Figura 7	Variação média semanal do oxigênio dissolvido medido às 05:00 horas nos viveiros teste e controle.	45
Figura 8	Variação média semanal do oxigênio dissolvido medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	45
Figura 9	Variação média semanal do pH medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	47
Figura 10	Variação média semanal da amônia total medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	49

Figura 11	Varição média semanal do nitrito medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	52
Figura 12	Varição média semanal do nitrato medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	54
Figura 13	Varição média semanal do fosfato medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	57
Figura 14	Varição da demanda bioquímica de oxigênio medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.	59
Figura 15	Distribuição porcentual dos grupos fitoplanctônicos nos viveiros teste.	67
Figura 16	Distribuição porcentual dos grupos fitoplanctônicos nos viveiros controle.	67
Figura 17	Distribuição porcentual das classes do zooplâncton nos viveiros teste, durante o experimento.	70
Figura 18	Distribuição porcentual das classes do zooplâncton nos viveiros controle, durante o experimento.	70
Figura 19	Concentrações de <i>Vibrio</i> spp. sacarose positiva na água de superfície dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	77

Figura 20	Concentrações de <i>Vibrio</i> spp. sacarose negativa na água de fundo dos viveiros teste e controle, durante o experimento.	81
Figura 21	Variação do crescimento em peso médio semanal do <i>L. vannamei</i> nos viveiros teste e controle.	88
Figura 22	Variação do peso médio semanal do <i>L. vannamei</i> nos viveiros teste e controle, durante o experimento.	89
Figura 23	Variação da média do porcentual de perfeição de <i>L. vannamei</i> nos viveiros teste e controle.	91

RESUMO

Investigações sobre o uso de probióticos na carcinicultura têm mostrado diferentes resultados. Absorção de matéria orgânica dissolvida, exclusão de bactérias patogênicas por competição e produção de substâncias inibitórias de patógenos são alguns dos benefícios sugeridos pela literatura. Pesquisadores têm afirmado que os probióticos podem melhorar o crescimento e sobrevivência de larvas e pós-larvas em larviculturas e juvenis em sistemas de engorda. O presente estudo foi conduzido para investigar os efeitos de um probiótico comercial sobre os ecossistemas e os parâmetros de produção do camarão *Litopenaeus vannamei*, em sistema fechado e de recirculação de água, numa fazenda localizada em Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte, Região Nordeste do Brasil. Com este propósito, foram selecionados quatro viveiros (VE-01; VE-02; VE-11 e VE-21) com área média de 2,6 ha, povoados com 97 a 98 camarões/m². Um probiótico comercial, preparado segundo as especificações do fabricante, foi aspergido na superfície dos viveiros, sete dias antes do povoamento e a seguir semanalmente até o final do cultivo. Quatro outros viveiros (VE-03; VE-17; VE-23 e VE-24) com área média de 2,6 ha, com densidade de 97 a 98 camarões/m² foram usados como controle. Todos os tratamentos tiveram os mesmos procedimentos no que diz respeito a alimentação, calagem, fertilização, uso de melaço de cana, monitoramento de qualidade da água (temperatura; salinidade; oxigênio dissolvido; pH; amônia; nitrito; nitrato, fosfato e DBO) e avaliação de fito e zooplâncton. O monitoramento de Bactérias Aeróbicas Heterotróficas Viáveis - BHAV e de *Vibrio* spp. da água de superfície e fundo, sedimento e dos camarões, também foi realizado nos dois tratamentos. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente. O experimento foi concluído em 141 dias e os resultados mostraram que, embora o tratamento com o probiótico tenha influenciado significativamente ($P < 0,01$) o pH e de certo modo a disponibilidade de oxigênio dissolvido nos viveiros às 05:00 horas, não teve efeito significativo sobre os demais parâmetros físico-químicos e biológicos de qualidade de água. Ficou constatado ainda, que o probiótico, influenciou a ocorrência de BHAV no sedimento e nos camarões, embora de modo não estatisticamente significativo e contribuiu para o declínio mais rápido de *Vibrio* spp. Sac^- na água de fundo e Sac^+ na água de superfície dos viveiros teste. Os resultados finais não mostraram efeito significativo sobre a sobrevivência, peso médio, taxa

de crescimento, conversão alimentar, produção e produtividade, quando os viveiros tratados foram comparados aos viveiros controle. O uso de probióticos em sistemas de carcinicultura precisa ser mais investigado, inclusive no que diz respeito aos fatores limitantes de sua ação no ambiente e diretamente sobre os indivíduos cultivados.

Palavras-chave: Probiótico, Camarão, Bactéria, Ambiente de Cultivo.

ABSTRACT

Studies dealing with the use of probiotics in shrimp culture have shown different results. Absorption of dissolved organic matter, competitive exclusion of pathogenic bacteria and production of pathogen-inhibitory substances are some of the probiotics benefits suggested in literature. Some researchers also claim that probiotics can improve growth, and survival of larvae and post-larvae in hatcheries and juveniles in growout systems. The present study was conducted to investigate the results of the use of a commercial probiotic on the culture environment and the production parameters of the shrimp *Litopenaeus vannamei* cultivated in a closed system and with water recirculation in a farm located in Mossoró, Rio Grande do Norte State, Northeastern Brazil. Four ponds (VE-01, VE-02, VE-11 and VE-21) measuring in average 2.6 ha were stocked with 97 to 98 shrimps/m². A commercial probiotic prepared in accordance with the manufacturer's directions was spread out upon the surface of the ponds, seven days prior to stocking and then every week till the end of the experiment. The controls consisted of four ponds (VE-03, VE-17, VE-23 and VE-24) measuring an average of 2.6 ha and stocked 97 to 98 shrimps / m². The same procedures of feeding, liming, fertilization, molasses distribution, water quality monitoring and plankton counting were adopted for all ponds. Microbiological conditions in the water and sediments of the ponds, as well as in the cultured shrimps were carried out in both tested and controlled units. All the data were submitted to statistical tests. The experiment ended after 141 days and the results showed that, although the probiotics treatment has influenced significantly ($P < 0.01$) the pH and to a certain extent, the dissolved oxygen availability in ponds at 5:00 a.m., no statistical effect was found to take place on the physic-chemical parameters of water quality. It was noticeable that the probiotic had light bearing upon the occurrence of viable heterotrophic bacteria in sediments and in the shrimps, as well upon a quicker decline of vibrios negative saccharose in bottom water and vibrios positive saccharose in surface water of the experimental ponds. The final results did not come to any significant effect upon the survival, average weight, growth rate, feeding conversion, yield and productivity, when the ponds were compared with the controls ones. The use of probiotics in shrimp culture systems requires to be more thoroughly investigated in addition to the limiting factors of their action on the environment and the cultivated individuals.

Keywords: Probiotic, Shrimp, Bacteria, Growing Ecosystem.

1.0 - INTRODUÇÃO

A carcinicultura é um dos ramos da aquíicultura global de maior velocidade de crescimento. Nos maiores produtores mundiais de camarões cultivados, os países asiáticos, a espécie popularmente conhecida como tigre negro, *Penaeus monodon* predomina, enquanto que nos países das Américas do Sul e Central, o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, é a espécie de maior expressão.

Os processos de expansão e desenvolvimento da carcinicultura em todo o mundo, embora com registros de interiorização mais intensificada, ocorrem preferencialmente nas áreas costeiras, principalmente de modo semi-intensivo e nos países em desenvolvimento.

De acordo com Rocha *et al.* (2004), a produção global de camarões cultivados em 2003, foi de 1.630.000 toneladas, sendo 83,37% originária do Hemisfério Oriental e tendo como produtores de maior expressão, os países do Sudeste Asiático. A China, além de maior produtor do Oriente, liderou a produção global com 370.000 toneladas, seguida pela Tailândia com 280.000 toneladas e pelo Vietnã, Indonésia e Índia com 220.000, 168.000 e 160.000 toneladas, respectivamente. A Tailândia registrou o maior índice de produtividade anual do Oriente com 4.375 quilos por hectare. O Hemisfério Ocidental, liderado pelo Brasil com 90.190 toneladas, seguido do Equador com 81.000 toneladas, produziu 271.000 toneladas em 2003, com desempenho superior ao Oriente em produtividade, contexto em que o Brasil continuou em destaque com uma produtividade de 6.084 quilos/hectare/ano (Tabela 1).

Sexto maior produtor mundial de camarão cultivado em 2003, o Brasil apresentou um crescimento da ordem de 50% em relação a 2002, cuja produção foi de 60.128 toneladas. A produção de 2003 teve como destaque, a contribuição de dois Estados: o Rio Grande do Norte e o Ceará, responsáveis por mais de 70,0 % das 90.190 toneladas obtidas, que contribuíram respectivamente, com 41,5 e 28,7% da mesma (Figura 1).

Tabela 1 – Principais países produtores mundiais de camarão de cultivo em 2003.

Principais países produtores	2.003		
	Produção	Área em produção (ha)	Produtividade (kg/ha/ano)
China	370.000	257.000	1.440
Tailândia	280.000	64.000	4.375
Vietnã	220.000	500.000	440
Indonésia	168.000	200.000	840
Índia	160.000	195.000	821
Brasil	90.190	14.824	6.084
Equador	81.400	130.900	622
Bangladesh	60.000	145.000	414
México	38.000	27.500	1.382
Malásia	21.000	20.900	1.005
Outros	141.410	146.466	965
Total	1.630.000	1.701.590	958

Fonte: Rocha *et al.*, 2004.

De acordo com a Tabela 2, a liderança do Rio Grande do Norte em número de produtores (662), área cultivada (5.402 hectares) e produção (37.473 toneladas), foi evidente em 2003, cabendo ao Ceará, a segunda posição (185 produtores, 3.376 hectares e 25.915 toneladas). Contudo, o Estado do Ceará, com 7.676 quilos por hectare de produção anual e 80,9 milhões de dólares em exportações, superou o Rio Grande do Norte (6.937 quilos por hectare e 71,0 milhões de dólares) se consolidando como o maior exportador brasileiro de 2003 (Rocha *et al.*, 2004).

O aumento da demanda por camarão, aliado ao alcance da capacidade máxima sustentável das capturas em ambiente natural, estimularam a aceleração do crescimento da indústria da carcinicultura no mundo inteiro (Samocho *et al.*, 2003). Na América Latina e na Ásia esse crescimento foi fundamentado na disponibilidade de sementes selvagens e nos altos lucros da atividade (Fast & Menasveta, 2000).

Tabela 2 – Quadro geral da carcinicultura brasileira em 2002 e 2003.

Estado	2002			2003		
	Produção(T)	Área (ha)	Produtividade (kg/ha/ano)	Produção(T)	Área (ha)	Produtividade (kg/ha/ano)
RN	18.500	3.591	5.152	37.473	5.402	6.937
CE	16.383	2.260	7.249	25.915	3.376	7.676
BA	7.904	1.710	4.622	8.211	1.737	4.727
PE	6.792	1.031	6.588	5.831	1.131	5.156
PB	3.018	582	5.186	3.323	591	5.623
PI	2.818	590	4.776	3.309	688	4.809
SE	1.768	352	5.023	957	398	2.405
SC	1.650	560	2.946	3.251	865	3.758
MA	727	155	4.690	703	306	2.297
ES	250	97	2.577	370	103	3.592
PR	140	50	2.800	390	49	7.959
AL	100	16	6.116	130	15	8.667
PA	78	22	3.545	324	159	2.038
TOTAL	60.128	11.016	5.458	87.188	14.820	5.883

Fonte: Rocha *et al.* (2004).

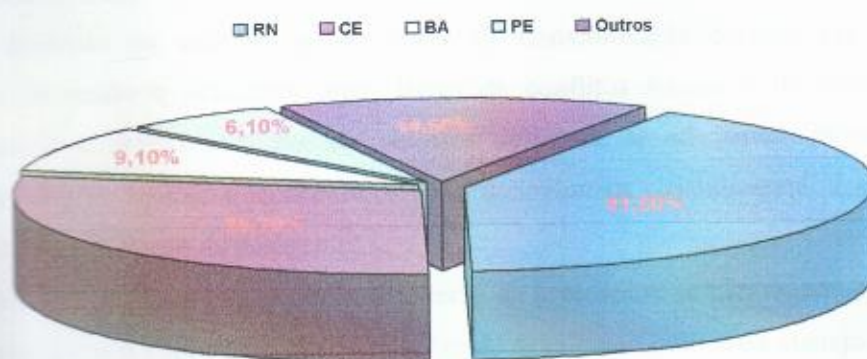


Figura 1 – Participação percentual dos principais Estados produtores de camarão de cativeiro na produção nacional em 2003.

O aumento de produção da carcinicultura tem decorrido não somente do incremento das áreas de produção, como também do uso de altas densidades de estocagem e do emprego de sistemas altamente intensificados que maximizam a obtenção de biomassa por unidade de investimento (Rosenthal & Black, 1993). Esses sistemas compactos de produção intensiva são adaptados e mais adequados às regiões de clima temperado, onde a disponibilidade de água e de temperatura requeridas, não é possível durante todo o ano (Davis & Arnold, 1998), enquanto que a intensificação do uso de áreas, especialmente nas faixas costeiras, tem ocorrido nas regiões de clima mais quentes e de menores estratificações térmicas anuais, a exemplo de países como o Vietnã, da Indonésia e Equador.

O Brasil com sua extensa faixa litorânea, condições climáticas, hidrobiológicas e topográficas favoráveis, iniciou a sua produção de camarões de cultivo em caráter empresarial, no final da década de oitenta (Rocha & Maia, 1998). E mesmo dotado dessas ótimas condições e de temperaturas anuais estáveis, especialmente em sua Região Nordeste, o aumento continuado de produção, tem sido feito de forma diversificada, em face da rigidez de sua legislação ambiental. O País aparece como um dos líderes mundiais nesse processo de evolução, evidenciado principalmente, pelo parâmetro produtividade (Martins, 2003), que aumentou de 1.015 quilogramas anuais por hectare em 1997 (DPA/MAPA & ABCC, 2001), para 6.084 Kg./ha/ano em 2003 (Rocha *et al.*, 2004), experimentando um crescimento anual, nesse período, da ordem de 35%.

Para que a demanda crescente por produtos de alta qualidade oriundos da carcinicultura possa ser atendida, os sistemas produtivos e de transformação deverão ser desenhados e manejados, de modo a utilizarem áreas livres de conflitos sociais e de riscos ambientais, proporcionarem a devida proteção aos recursos costeiros, se adequarem às culturas locais, gerando benefícios sociais e econômicos, e principalmente, viabilizarem a exclusão ou a minimização da incidência de patógenos.

Fica evidente que esses sistemas dependerão de protocolos de biossegurança, que deverão incluir a redução ou a eliminação das renovações de água como prática de manejo e a introdução ou da produção "in situ" de microrganismos, tanto como fonte de nutrição, como para atender os requerimentos do processo de filtragem biológica, necessários à manutenção da qualidade da água (Moss, 2002). Ao mesmo tempo, poderão exercer um papel na erradicação ou redução de patógenos, por exclusão competitiva, ou controle biológico. Tais sistemas serão ainda,

dependentes de fontes alternativas de água, doce, oligohalina ou mesohalina, para o controle da salinidade, especialmente nas regiões de clima tropical.

Maeda (1999) relata que esses microrganismos compreendem fungos, leveduras, protozoários, microalgas e bactérias, e segundo Moss (2002), devem estar inclusos, tanto os procariontes como os eucariontes. Suas funções como patógenos de camarões (Lightner, 1983; Lightner & Redman, 1992; Takahashi *et al.*, 1998; Sung *et al.*, 2000; Vieira *et al.*, 2000; Brock & Bullis, 2001), como probiontes (Nogami & Maeda, 1992; Maeda & Liao, 1992; Maeda *et al.*, 1997; Gatesoupe, 1999; Gómez-Gil *et al.*, 2000; Berger, 2000) e como fontes de alimentos para larvas de camarões (Austin & Day, 1990; Austin *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1999), têm sido bem reportadas e documentadas.

Nos sistemas de produção intensiva de camarões em água verde, os microrganismos desempenham uma variedade de funções importantes incluindo o suporte alimentar direto, como fontes de nutrientes ou indireto pela provisão de enzimas digestivas, removendo produtos residuais potencialmente tóxicos sob condições anaeróbias. Desta forma, mantem-se uma adequada qualidade da água e controla-se a ocorrência de microrganismos patogênicos através da competição por nutrientes, ou através de atividades predatórias (Decamp *et al.*, 2002).

Os viveiros de cultivo devem ser vistos como ecossistemas, nos quais, os microrganismos e os camarões se encontram numa variedade de interações de competição, predação, comensalismo e patogenia, onde a adição de nutrientes e outras manipulações podem causar perturbações ao ecossistema e influenciar a natureza e intensidade desses processos (Azam *et al.*, 2002).

A microbiologia, na aquíicultura, é uma ciência nova e por esta razão, o entendimento dos processos microbianos nessa área é indispensável para progressos futuros. O assunto tem sido alvo de um grande e recente número de revisões da literatura especializada, particularmente no que tange ao emprego de probióticos (Azam *et al.*, 2002).

De acordo com Jory (1998), na aquíicultura, o termo "probiótico microbiano", usualmente se refere a um suplemento bacteriano de uma monocultura ou a uma cultura mista de bactérias selecionadas.

O papel dos probióticos na aquíicultura é ainda objeto de especulações, tendo-se sugerido mecanismos de exclusão competitiva de bactérias patogênicas, absorção da matéria orgânica em solução e produção de substâncias inibidoras de patógenos, entre outros (Maia *et al.*, 2003a).

O mecanismo de ação das bactérias probiontes nesse segmento ainda pouco estudado, pressupõe ainda: a provisão de nutrientes essenciais para a melhora nutricional dos animais em cultivo; a produção de enzimas digestivas, facilitando o processo de digestão do hospedeiro e a decomposição da matéria orgânica e a transformação de outros compostos tóxicos da água de cultivo, melhorando a qualidade do meio.

Acredita-se que, mediante a inclusão de bactérias autótrofas nitrificantes tais como: *Nitrosomonas* spp. e *Nitrobacter* spp. ao meio de cultivo, possibilita-se o mecanismo de eliminação, de forma mais acelerada, da amônia e outras substâncias nocivas, melhorando assim, a qualidade da água, estabilizando o seu pH e viabilizando a obtenção de energia por parte das mesmas, através do processo de nitrificação. Essas bactérias são aeróbias, consomem gás carbônico como fonte de carbono e produzem ácidos que devem ser neutralizados (Horowitz & Horowitz, 2002).

Do mesmo modo, pressupõe-se que mediante a adição de bactérias heterótrofas, que usam principalmente carboidratos e proteínas como fonte de carbono (Horowitz & Horowitz, 2002) à água, os excrementos dos camarões e os materiais orgânicos remanescentes do alimento, do plâncton e de outras origens, podem ser reciclados e decompostos a gás carbônico, nitrato e fosfato. Estes sais inorgânicos constituem os nutrientes essenciais para o processo de crescimento do fitoplâncton e do fitobentos, que podem se tornar os grupos dominantes na coluna de água e no sedimento, contribuindo para a inibição do crescimento de microrganismos patogênicos.

Por outro lado, espera-se que a fotossíntese das microalgas produzidas possibilite a adequada disponibilidade de oxigênio dissolvido, para a oxidação e a decomposição dos materiais orgânicos e para a respiração dos microrganismos e dos animais cultivados. Supõe-se que essa espécie de ciclo possa facilitar a reciclagem dos nutrientes, criando um balanço entre as comunidades algais e bacterianas, favorecendo a manutenção do equilíbrio e da boa qualidade do ambiente de cultivo dos camarões.

O presente estudo teve por objetivo principal, avaliar o desempenho de um composto comercial de probióticos, mediante a sua aplicação na água do cultivo intensivo de *Litopenaeus vannamei* em viveiros de terra com reuso de água. Foram ainda objetivos específicos deste estudo: caracterizar as condições ambientais nos sistemas de produção da área estudada e relacionar a variação das principais variáveis físico-químicas da água, com o desempenho dos animais testados e, ao mesmo tempo, identificar os componentes das comunidades fito e

planktonicas; implementar um programa de baixa recirculação de água para a produção intensiva e caracterizar as técnicas de manejo e produção do camarão marinho *L. vannamei*, em um sistema fechado e de recirculação; quantificar as comunidades de bactérias heterotróficas aeróbias viáveis - BHAV e do gênero *Vibrio*, na água, no sedimento do ambiente de cultivo e na espécie cultivada e, determinar a influência do composto probiótico sobre a produção, produtividade, parâmetros zootécnicos e sanidade dos animais cultivados.

2.0 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Caracterização das Áreas Usadas e Potenciais para a Carcinicultura.

A cultura de camarões marinhos no Brasil é feita preferencialmente em áreas costeiras, mediante a captação de água estuarina. Essa atividade cresceu de modo considerável nos últimos anos em área produtiva, partindo de 4.320 hectares em 1998 para 11.016 hectares em 2002 (Rocha, 2003) e chegando a 14.824 hectares em 2003 (Rocha *et al.*, 2004), o que representou um aumento anual, da ordem de 28,0% nos últimos cinco anos. Essa ampliação foi feita principalmente de três modos: assumindo o passivo ambiental da destruição de mangues, causada por atividades tradicionais e seculares como a piscicultura estuarina, a produção de sal e em dimensão mais específica, o cultivo da cana de açúcar, a rizicultura e a bovinocultura; empregando extensões de apicuns, salgados e tabuleiros litorâneos e, em frações de menor representatividade, áreas vegetadas do próprio ecossistema manguezal (Maia, no prelo).

As áreas adjacentes aos manguezais, disponíveis e apropriadas à carcinicultura marinha na Região Nordeste, como viveiros de peixes abandonados e salinas desativadas, foram estimadas em 300.000 hectares, em 2001 (DPA.MAPA & ABCC, 2001).

Segundo a FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos, em levantamento realizado mediante a técnica de mapeamento por satélite, em 1989, foram detectadas aproximadamente 6.405 hectares de áreas adequadas para a carcinicultura marinha no Estado do Ceará. E somadas a essas, contava-se com mais 109 salinas abandonadas, ou em estado de desativação, consideradas como áreas potenciais para a carcinicultura (Machado, 1984; Martins, 1996; Martins, 2003).

Segundo Stern (2003), para o desenvolvimento planejado da carcinicultura na Bahia, o Estado considerou que existem 100.000 hectares de áreas adequadas.

De acordo com Santos (2003), mediante zoneamento realizado no Estado do Maranhão em 2003, foram detectados cerca de 748.000 hectares de áreas marginais às grandes coleções hídricas estuarinas de potenciais médio, alto e muito alto, para a carcinicultura marinha.

Embora os dados relativos aos demais Estados sejam escassos, a disponibilidade de áreas não se pressupõe como entrave ao crescimento da carcinicultura brasileira e segundo Gesteira *et*

af. (1996), essa disponibilidade, aliada às excelentes condições edafo-climáticas, à oferta de mão de obra e de ótima infra-estrutura, se constituem importantes condições de desenvolvimento.

2.2 – Caracterização e Ecologia dos Sistemas de Produção.

Nos sistemas extensivos de produção, a água de captação funciona como um mecanismo de introdução de fontes potenciais de alimentos (Hopkins *et al.* 1995). Nos sistemas mais intensivos, as trocas de água são mais freqüentes, em decorrência dos notáveis benefícios na prevenção do acúmulo de metabólitos tóxicos, visando manter a qualidade de água em nível aceitável (Hopkins *et al.* 1993). Dessa forma considera-se que, quanto mais intensificados forem os sistemas de produção, mais necessárias serão as trocas de água, em face do acúmulo de matéria orgânica e da produção de metabólitos tóxicos nesses meios. Essa concepção se fundamenta ainda na percepção de que existe uma relação positiva, entre as taxas de renovação de água e a produção de camarões, tendo como base as evidências encontradas na literatura (Moss *et al.* 2001). Segundo Hirasawa (1985), uma elevação de 150 % na produtividade anual de camarões pode ser obtida mediante o aumento de 20 a 100% nas renovações diárias. Apesar disto, esta relação positiva é discutível em sistemas intensivos aerados (Hopkins *et al.* 1991; 1993; Browdy *et al.* 1993; Maia 2005). O conceito da carcinicultura ambientalmente amigável inclui a proteção dos recursos costeiros e apesar da controvérsia sobre a ação dos efluentes (Chua *et al.* 1989; Primavera 1991; Weston 1991; Boyd & Musing 1992; Jakob *et al.* 1993; Csavas 1994; Goldberg & Triplett 1997; Maia *et al.* 2003b), deve ser concebida de forma a reduzir substancialmente ou eliminar as descargas para o meio ambiente.

Fica evidente que para o alcance de tal objetivo nos sistemas intensivos, além do suporte adequado de aeração artificial, disponha-se de fontes alternativas de água doce ou de baixa salinidade, como meio de controle de qualidade da água dos viveiros, nos períodos de estiagem e de reservatórios profundos e suficientemente capacitados para prover o tempo de residência necessário ao tratamento dos efluentes gerados.

A matéria orgânica e os nutrientes produzidos nos viveiros de camarão estão dissolvidos ou suspensos na coluna de água, e uma fração importante se acumula no sedimento (fósforo) ou é volatilizada para a atmosfera (nitrogênio). E quando o sedimento é tratado entre os ciclos, a

matéria orgânica é decomposta e parte do nitrogênio e do fósforo é liberada entrando em solução na água do próximo ciclo (Paez-Osuna *et al.*, 1998).

De acordo com Paez-Osuna *et al.* (1997), a produção semi-intensiva de camarões no México gera em cada ciclo, efluentes que contêm 52,1 e 8,4 Kg x hectare⁻¹ de nitrogênio e fósforo, respectivamente. Já para Abreu *et al.* (2003), a emissão de nitrogênio e fósforo pela carcinicultura na bacia do Rio Jaguaribe, Ceará, Brasil, corresponde a 15 e 14 Kg x hectare x ano⁻¹. De acordo com Kennish (1992), a capacidade assimilativa em nutrientes de um determinado meio é finita e o aporte excessivo destes, pode alterar a sua diversidade e a dinâmica de suas comunidades bióticas. Tais excessos normalmente resultam em "blooms" de fitoplâncton e acarretam problemas de eutrofização (Paez-Osuna *et al.*, 1999).

Os sistemas de cultivo extensivos e semi-intensivos não produzem efluentes, significativamente danosos (Boyd & Musing, 1992; Pruder, 1992; Teichert-Coddington, 1995; Wainberg & Câmara, 1998). No entanto, nas produções intensiva e super intensiva, com o aumento do ingresso de alimentos ricos em proteína e de biomassa por unidade de área, a capacidade de carga dos meios de cultivo pode ser rapidamente superada, gerando efluentes abundantes. Portanto, torna-se necessário um tratamento eficaz e prévio à devolução ao meio ambiente nos sistemas abertos e, para reuso nos processos fechados e de recirculação. McIntosh (1996) relata que em um sistema fechado de recirculação, apenas 9% do nitrogênio que ingressa, retorna ao próximo ciclo para reciclagem, e que 39% é transformado em biomassa de camarão, 14% é desnitrificado no viveiro, 27% é perdido na bacia de sedimentação e 11% é sedimentado.

Os efluentes da carcinicultura, normalmente não contêm substâncias tóxicas como pesticidas, metais pesados ou outros produtos químicos encontrados em descargas industriais ou de origem agrícola (Boyd, 1993). De acordo com Vinatea *et al.* (2003), em fazendas de *L. vannamei* do Nordeste do Brasil, os efluentes gerados contêm em média: 5,49 ppm de oxigênio dissolvido; pH de 7,9; sólidos suspensos na razão de 142,4 ppm; 0,15 ppm de fósforo e 0,15 ppm de N - NH₃, além de uma DBO da ordem de 4,41 ppm. Olivera *et al.* (2003), mediante estudo em três fazendas de camarão nos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará - Brasil, verificaram que no canal de drenagem, os valores de N - NH₃, fósforo total e DBO, corresponderam respectivamente a 0,11; 0,26 e 6,36 ppm; enquanto os valores de oxigênio dissolvido, pH e sólidos em suspensão foram 5,64; 8,10 e 294,5 ppm, respectivamente. Maia *et al.* (2003), analisando os efluentes dos viveiros de carcinicultura, numa fazenda de recirculação parcial, do

Estado do Ceará - Brasil, verificaram que os esses apresentavam condições semelhantes aos afluentes, em termos de qualidade de água, com valores da ordem de 0,21 ppm de N - NH₃ e 0,62 ppm de fosfato. De modo positivo e diverso do suposto, esses meios de cultivo têm a capacidade de assimilar poluentes (Larson *et al.*, 1993). Assim sendo, o tratamento requerido pode ser bastante simplificado e restrito a uma área exclusiva para a recepção dos efluentes líquidos e sedimentação de sólidos, onde processos físicos, químicos e biológicos ocorrem, possibilitando o reuso da água através da recirculação. Nesse sistema, segundo McIntosh (1999), num período de sete dias, 60 a 70% do Nitrogênio e 70 a 80% do Fósforo são removidos da água.

Von Sperling (1996) relata que a eficiência de um sistema de circulação fechada pode ser demonstrada pelas seguintes constatações: redução da DBO em 85%; do nitrogênio em 50%; do fósforo em 60% e redução de 99% em coliformes totais. Neste processo, quando as águas de descarga adentram a bacia, o longo tempo de residência possibilita uma série de processos físicos, químicos e biológicos que contribuem para a sua purificação. A matéria orgânica em suspensão (DBO particulada) sedimenta e forma o lodo do fundo, que é submetido ao processo de decomposição por microrganismos anaeróbios (biológica), sendo convertido em gás carbônico, água e metano (química). A matéria orgânica dissolvida (DBO solúvel) não sedimenta, ficando dispersa na camada mais superficial (zona aeróbia), onde é oxidada por meio da respiração aeróbia (biológica), sendo para tanto, necessária a presença de oxigênio e, conseqüentemente, a ocorrência da fotossíntese (química), mediante o aporte da energia luminosa (física). Outros fatores, importantes nesse processo de tratamento são a temperatura e o pH. Este último, quando neutro ou tendente a básico, pode proporcionar a precipitação de metais pesados, caso presentes, sob a forma de hidróxidos.

O aumento da eficiência desse tratamento representada pelo incremento na absorção de nitrogênio e fósforo se faz ainda, mediante o cultivo consorciado de moluscos, como a ostra *Crassostrea rhizophorae* e plantas aquáticas como *Gracillaria* spp. (Olivera, 2001) e pelo emprego de aeração mecânica de superfície.

A carcinicultura marinha intensiva pode usufruir, de três mecanismos de produção: os sistemas abertos, semi fechados e fechados. No sistema aberto, o relacionamento entre os meios de produção e de captação e descarga é contínuo e as renovações de água são constantes. No sistema semi fechado, esta relação é intermitente, o processo de recirculação de água é parcial e as renovações ocorrem em maiores intervalos de tempo. No caso do sistema fechado, o reuso de

água é um processo contínuo e a interação entre os meios de produção e o manancial de captação e descarga, pode ocorrer apenas em condições especiais como a captação inicial ou na ocorrência de adversidades climáticas.

O controle de qualidade da água nos sistemas intensivos fechados de recirculação dependerá, certamente, muito mais dos microrganismos, que nos sistemas de produção abertos.

Azam *et al.* (1983) propõem a hipótese da ciclagem microbiana, através da qual, a energia liberada como matéria orgânica dissolvida (DOM) pelo fitoplâncton é utilizada pelas bactérias, as quais alimentam os flagelados heterótrofos, que por sua vez, são usados como alimento pelos colônios maiores e pelo micro zooplâncton, que do mesmo modo, estabelecem a ligação do carbono microbiano com os níveis tróficos mais altos. Tal mecanismo possibilita que a energia e os materiais derivados do fitoplâncton retomem à cadeia alimentar, em vez de serem perdidos para o sistema e as evidências que suportam tal hipótese são convincentes (Lolic & Krstulovic, 1994; Koeman *et al.*, 2000; Moss, 2002). É provável que a ciclagem microbiana desempenhe um papel importante nos ecossistemas eutróficos, incluindo os meios de cultivo de camarões (Azam *et al.*, 2002). No que tange aos nutrientes, as bactérias são especialmente importantes no controle do ciclo do nitrogênio (Barnabé, 1990) e podem atuar como remineralizadores primários, criando assim, uma ponte energética (Ducklow *et al.* 1986; Moss, 2002).

Os microrganismos dominam os ambientes de cultivo pela riqueza desses meios, em alimento, o que facilita o seu processo de crescimento e reprodução e, no sistema intensivo de produção com renovação nula, a aeração artificial é crucial para a contínua ressuspensão das partículas orgânicas, evitando a formação de lodo e mantendo ativa a comunidade microbiana (Horowitz & Horowitz 2002). Assim sendo, os viveiros devem ser considerados como ecossistemas nos quais, os microrganismos e os camarões se engajam numa variedade de interações ecológicas, incluindo desde a competição e a predação até a patogênese e o comensalismo (Azam *et al.*, 2002).

Do ponto de vista alimentar, as bactérias do sedimento, ou agregadas a substratos, são mais importantes do que as bactérias livres (Moriarty 1987). Sob condições adequadas, cerca da metade da dieta dos camarões, consiste de flocos bacterianos. Embora, a manutenção desses flocos como suporte alimentar da biomassa de camarões não seja fácil, o alcance desse objetivo é muito importante porque possibilita, tanto a redução do acúmulo de lodo e do uso de alimentos

artificiais, como a minimização de resíduos das águas de drenagem (Horowitz & Horowitz, 2002), facilitando, sobremaneira, o processo de tratamento desses efluentes.

2.3 - Importância da Biotecnologia e Conceituação de Probiótico.

Na aquicultura, a biotecnologia vem adquirindo importância crescente e tem feito aportes significativos nos últimos anos, apoiando o crescimento dessa atividade e contribuindo para o seu processo de sustentabilidade. As principais aplicações de suas técnicas à aquicultura e particularmente à produção de camarões peneídeos dizem respeito principalmente à provisão de sementes com melhores características de adequação aos cultivos; à nutrição nas diferentes fases de produção; à solução de aspectos relacionados à alimentação de grupos sensíveis (reprodutores, larvas nos primeiros estágios e culturas intensivas); na prevenção e no tratamento de enfermidades e, na manutenção das boas condições dos ambientes de cultivo, particularmente nos processos de intensificação e em novas estratégias de produção. Uma tendência, muito aceita, é o manejo de comunidades bacterianas para formarem compostos, que além de nutritivos, funcionem no melhoramento das condições ambientais, reciclando subprodutos alimentares, com ênfase para os manejos de renovação "zero" ou de baixa renovação de água. Esses compostos, denominados de flocos microbianos, embora carentes em lipídios, são ricos em proteínas, vitaminas e cinzas. Tal princípio aproveita a capacidade de algumas espécies de camarões, como o *Litopenaeus vannamei*, de se alimentarem diretamente de microrganismos (Berger, 2000).

O autor acima referido argumenta que o emprego de microrganismos benéficos denominados de probióticos, no processo de exclusão competitiva, é também um importante campo de trabalho da biotecnologia. Supõe-se que esses organismos utilizando nutrientes da água, do sedimento e do próprio trato digestivo dos animais, reduzem a possibilidade de colonização e de desenvolvimento de patógenos ou de outros microrganismos potencialmente nocivos, proporcionando adicionalmente, outros serviços como: mineralização, redução de compostos tóxicos e nutrição.

De acordo com Gómez-Gil *et al.* (2000), os principais gêneros bacterianos testados como probióticos em aquicultura têm sido: *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e diversos lactobacilos. Porém, além das bactérias, outros organismos com fins probióticos como fungos e leveduras também foram usados (Intriago *et al.*, 1998; Scholz *et al.*, 1999; Devaraja, *et al.*, 2002).

Segundo Gatesoupe (1999), o conceito de probiótico foi desenvolvido para o emprego em animais terrestres, que são muito diferentes dos animais aquáticos posto que, enquanto o homem e alguns animais domésticos são protegidos pelo útero materno em seus estágios embrionários, a maioria dos animais aquáticos, como peixes e crustáceos, libera suas formas larvais nos primeiros estágios ontogênicos, diretamente na água. Essas larvas ainda não possuem um sistema imunológico completo (Valdstein, 1997) e são expostas a microbiota do meio, estando sujeitas a distúrbios gastrointestinais porque começam a se alimentar, mesmo quando seu trato digestivo ainda não está totalmente desenvolvido (Timmermans, 1987).

De acordo com Fuller (1992), a primeira conceituação de probiótico se refere a **“micróbios ingeridos com o propósito de promoverem boa saúde”** e foi feita no início do século “XX” por Elie Metchnikoff, que segundo Tannock (1997), propôs o emprego de bactérias ácido-láticas, como forma de supressão da atividade nociva de outros microrganismos. Segundo Gatesoupe (1999) essa definição foi modificada por Parker (1974) como sendo **“organismos e substâncias que contribuíam para o balanço microbiano intestinal”**, que por sua vez, foi modificada por Fuller (1989) para: **“suplementos microbianos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro, pelo melhoramento do seu balanço microbiano intestinal”**. Tannock (1997), percebendo em seus estudos, que os efeitos dos probióticos sobre o balanço microbiano intestinal nos hospedeiros, não era muito bem demonstrado em muitos casos, propôs a definição de probiótico como: **“células microbianas vivas, administradas como suplemento dietético com o propósito de melhorar a saúde”**. Moriarty (1998), propôs estender a definição de probiótico a, **“aditivos microbianos à água”**. Para Gatesoupe (1999), probiótico pode ser definido como **“células microbianas que são administradas de modo a penetrarem no trato gastro intestinal mantendo-se vivas, com o propósito de melhorarem a saúde”**. Gram *et al.* (1999) não consideraram a restrição ao melhoramento da condição intestinal do hospedeiro, definindo probiótico como **“suplemento microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando o seu balanço microbiano”**.

Segundo Gatesoupe (1999), diversos produtos comerciais são conceituados como probióticos, embora tenham sido designados para tratar o meio de cultivo e não como suplemento alimentar. E essa extensão do conceito é pertinente, quando microrganismos administrados sobrevivem no trato gastrointestinal do hospedeiro. Caso contrário, denominações mais gerais são sugeridas tais como: controle biológico ou biocontrole, quando se tratar de um tratamento

controlar a patógenos e biorremediação, quando no tratamento, a qualidade da água é melhorada.

De acordo com Horowitz & Horowitz (2000), um probiótico microbiano para uso em aquicultura, é "um suplemento bacteriano (cultura simples ou composta de bactérias selecionadas), adicionado a um sistema de produção, para modificar ou manipular as comunidades microbianas na água e no sedimento, para reduzir ou eliminar microorganismos patogênicos selecionados e para melhorar o crescimento e a sobrevivência da espécie cultivada".

Imants & Austin (2002) sugerem que, dado ao fato de algumas definições de probióticos, incluem componentes de células microbianas, as discussões sobre os produtos denominados de imunostimulantes se tornam apropriadas, uma vez que, diversos estudos têm empregando componentes ou células microbianas na íntegra, como imunostimulantes específicos contra patógenos.

De acordo com Boyd & Massaut (1999), os probióticos comumente usados no manejo dos viveiros são inóculos bacterianos vivos não patogênicos, normalmente espécies de *Bacillus* e produtos de fermentação ricos em enzimas extracelulares.

2.4- Aplicação de Probióticos na Aquicultura

Surtos de enfermidades, em aquicultura, são supostos como uma função da qualidade de vida dos animais que, além de outros fatores, depende amplamente, das condições ambientais. Segundo Primavera *et al.* (2000), a qualidade da água dos viveiros de camarão afeta a resposta imunológica inata desses animais. Por outro lado, presume-se que as ações antrópicas ou naturais, sobre o manejo dos cultivos, podem promover a degradação das condições ambientais do meio, que de acordo com Boyd (1999), apresenta uma relação estreita com a diminuição da resistência imunológica dos animais, provocada por estresse, possibilitando assim, o ataque de organismos oportunistas.

De acordo com Maeda (2002), *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Pseudoalteromonas* e *Aeromonas* são os principais gêneros dentre as populações bacterianas em aquicultura. E quando o ambiente de cultivo é enriquecido pelo aporte e acumulação de matéria orgânica, diversas bactérias desses gêneros começam a se multiplicar, especialmente *Vibrio* spp., devido às

suas habilidades de adaptação às condições de depleção de oxigênio dissolvido. Essa multiplicação excessiva pode ter como efeito negativo, o aumento da população de patógenos e o aparecimento de enfermidades. De acordo com Samocha *et al.* (2001), o surto de doenças virais e bacterianas em fazendas camaroneiras têm resultado em severas perdas de produção em todo o mundo. *Vibriosis* estão entre os mais importantes patógenos bacterianos de camarões cultivados, responsáveis por um grande número de doenças, e mortalidades de até 100% têm sido reportadas devido às *vibrioses* (Lightner, 1983). E de acordo com Macda (2002), métodos para manter os ambientes de cultivo livres de microrganismos patogênicos, principalmente vírus e bactérias, estão entre os principais propósitos dos produtores aquícolas. E com este objetivo, a filtração da água, a adição de cloro, a ozonização, o uso de luz ultravioleta e o emprego de antibióticos, são técnicas comuns em aquíicultura.

O interesse na redução e na eliminação do uso de antibióticos no cultivo de organismos aquáticos é cada vez mais crescente, uma vez que, de acordo com Karunasagar *et al.* (1994) e Weston (1996), o abuso no emprego dessas substâncias pode causar o aparecimento de linhagens bacterianas resistentes. Segundo Towner (1995), tal resistência pode ser transferida a outras linhagens, tanto pelas alterações do genoma existente, como por transferência do material genético entre células, através dos plasmídios ou bacteriófagos. A resistência intrínseca é uma característica que ocorre naturalmente e deve ser considerada como uma peculiaridade da espécie, enquanto que a resistência adquirida decorre tanto de mutações genéticas, como da aquisição de DNA alóctone de outras bactérias (Saarela *et al.*, 2000). Brown (1989) cita que essa aquisição de resistência é provável, quando esses quimioterápicos são empregados como profiláticos no cultivo de camarões marinhos.

Macda (2002) afirma que apesar do conhecimento da restrita eficiência dos antibióticos, poucos métodos alternativos de controle de enfermidades têm sido encontrados e que novos métodos, nos quais o antagonismo de certos microrganismos seja usado para reprimir outros patógenos, devem ser buscados. Esses métodos alternativos devem ser empregados também para manter a sanidade microbiológica do meio (Gómez-Gil *et al.*, 2000). Nesse papel se inserem os probióticos, cujo uso está sendo reconhecido, como uma estratégia útil para o combate de patógenos de peixes e camarões (Chythanya, 2002) e que, segundo Berger (2000), são compostos desenvolvidos de bactérias e leveduras e têm desempenho comprovado no mecanismo de exclusão competitiva, na biorremediação do meio e na suplementação de nutrientes.

De acordo com Boyd & Massaut (1999), apesar do mecanismo de ação dos probióticos ainda não ser bem conhecido e embora as condições, sob as quais os melhoramentos podem ser esperados, ainda não tenham sido identificadas, os relatos sobre os seus benefícios potenciais na aquicultura incluem: o aumento da capacidade de decomposição da matéria orgânica; a redução das concentrações de nitrogênio e fósforo; melhor desenvolvimento da comunidade algal; aumento da disponibilidade de oxigênio dissolvido; redução do desenvolvimento das cianofíceas; controle de amônia, nitrito e sulfeto de hidrogênio; menor incidência de enfermidades e maior sobrevivência, e incremento da produção nos cultivos.

As primeiras tentativas de incorporação de probióticos em alimentos para aquicultura foram feitas com preparações comerciais usadas para animais terrestres (Gatesoupe, 1999).

Nogami & Maeda (1992) e Maeda (1992) isolaram uma linhagem bacteriana codificada como PM-4 e identificada como *Thalassobacter utilis* (Nogami *et al.*, 1997), proveniente da água do mar e inocularam nos tanques de cultivo de larvas de caranguejo azul (*Portunus armatus*) numa concentração de 10^6 células \times ml⁻¹. A sobrevivência alcançada foi de 27,2% nos tanques teste, comparada com 6,8% nos tanques controle sem a inoculação de bactérias.

Nogami *et al.* (1997), numa seqüência de 33 testes nos quais a linhagem PM-4 foi inoculada, obtiveram uma taxa de sobrevivência média de 28,3%, comparada com 15,6% nos tanques controle, após 42 ensaios. Todos esses testes foram conduzidos num período de quatro dias. Os autores ainda verificaram que o PM-4 pode inibir o crescimento de uma linhagem supostamente patogênica de *Vibrio anguillarum*, além de suprimir, num experimento "in vitro", a presença de outra espécie do gênero *Vibrio* e bactérias pigmentadas nos tanques de larvas e inibir o crescimento do fungo *Haliphthoros* sp.

Nogami & Maeda, (1992) mencionam que a despeito das repetidas inoculações das linhagens de PM-4 nos tanques de larvas de caranguejo azul, o nível bacteriano não excedeu 10^6 células \times ml⁻¹. Os autores atribuíram esse efeito, ao comportamento alimentar da protozoa crescendo rapidamente e consumindo as bactérias, mantendo assim, a sua concentração no mesmo nível. De acordo com Gómez-Gil *et al.* (2000), outra possibilidade não mencionada no trabalho, é que pode ter havido uma falta de nutrientes no sistema. Maeda (1994), afirmou que um sistema de aquicultura, não pode suportar uma população bacteriana superior a 10^6 células \times ml⁻¹, sugerindo que se tal hipótese for verdadeira, em se mantendo essa densidade, pode-se

diminuir ou tornar desvantajoso, o crescimento de outras bactérias. O referido autor, considerou que controlar a população bacteriana não seria difícil, posto que, o efeito da introdução de novas bactérias pode não demorar muito. Gómez-Gil (1998) encontrou que a inoculação de água do mar controlada, em uma larvicultura de camarão com alta concentração de bactérias (10^7 células \times ml $^{-1}$), rapidamente resultou em concentrações bacterianas, superiores àquelas já existentes e que a contagem bacteriana decresceu depois de 72 horas, embora a taxa de declínio tenha sido dependente da linhagem empregada.

Segundo (Douillet & Longdon, 1993; 1994), uma bactéria CA-2, provavelmente uma *Aeromonas* spp., foi usada na larvicultura da ostra do pacífico (*Crassostrea gigas*). As larvas de ostra alimentadas com algas e essa bactéria mostraram uma melhoria na sobrevivência (21-22%) e crescimento (16-21%), comparadas com aquelas alimentadas apenas com as microalgas. Os autores encontraram que 10^5 células \times ml $^{-1}$ foi uma ótima concentração para o melhoramento do cultivo larval. Douillet & Langdon, (1994) afirmam que a evidência experimental sugere que a bactéria deve ter provido nutrientes essenciais ausentes nas microalgas ou melhorado a digestão das larvas, pela produção de enzimas. De acordo com Gómez-Gil *et al.*, (1998), uma clara distinção deve ser feita entre a função probiótica da bactéria, daquela como fonte de alimento natural e que, um microrganismo não pode ser considerado como probiótico se o seu papel está restrito apenas, ao suprimento de nutrientes essenciais.

Gibson *et al.* (1998) isolaram uma linhagem de *Aeromonas media* (A199) capaz de produzir substâncias inibidoras de bactérias. Essa linhagem mostrou atividade antagonista a diversas bactérias potencialmente patogênicas e foi usada como probionte para controlar infecções em larvas de *Crassostrea gigas*, causadas por uma linhagem de *Vibrio tubiashii*. Significativas diferenças foram observadas entre os tratamentos, demonstrando as características probióticas dessa linhagem.

Para o cultivo larval da vieira chilena (*Argopecten purpuratus*), um pré-tratamento com uma linhagem de *Vibrio* sp. protegeu as larvas contra desafios subsequentes com uma linhagem de *V. anguillarum* (Riquelme *et al.*, 1997). Os autores isolaram um grande número de linhagens, de fontes de laboratório e de larvicultura e as selecionaram para a produção de substâncias inibidoras contra a linhagem do *V. anguillarum*. A ingestão de probiontes potenciais (PP) pelas ostras mostrou depender do tipo de linhagem empregado, posto que, algumas linhagens foram significativamente melhor do que outras (Riquelme *et al.*, 2000).

Para a Vieira *Pecten maximus*, a bactéria *Roseobacter* sp. mostrou conferir proteção, apenas quando extratos celulares bacterianos foram inoculados nas culturas larvais e não quando as células foram adicionadas (Ruiz-Ponte *et al.*, 1999). Essa espécie (BS107) teve atividade antibacteriana, apenas na presença de outra bactéria que produziu uma molécula proteica, que atua como indutora.

Kawanishi (1986), empregando esporos de *Bacillus toyoi*, isolados do solo, reporta que esse cultivo alimentar reduziu a mortalidade da enguia japonesa infectada com *Edwardsiella* sp. e aumentou a taxa de crescimento do "olhete", *Seriola quinqueradiata*.

Rizzo *et al.* (1995) afirmaram que o trato digestivo dos peixes contém um número muito maior de microrganismos do que a água do meio, chegando a 10^8 células \times g⁻¹. Hansen & Olafsen, (1989) observaram que depois da eclosão, o trato gastrointestinal das larvas do bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* foi colonizado por quase os mesmos gêneros bacterianos encontrados nos ovos, sendo os mais importantes: *Pseudomonas*, *Cytophaga* e *Flexibacter*. Por outro lado, Hansen & Olafsen, (1999) mencionam que no estágio de absorção do vitelo, a ingestão de bactérias do meio pelos peixes de água fria, resulta no estabelecimento de uma microflora primária intestinal, a qual persiste além das primeiras alimentações e que uma sucessão bacteriana ocorre, até que uma microflora adulta seja estabelecida. Por essas razões, é muito importante adicionar os probiontes potenciais (PP), o mais cedo possível, após a eclosão dos ovos, como forma de colonizar efetivamente o trato digestivo larval, antes da introdução do alimento vivo (Gómez-Gil *et al.*, 2000).

Tem sido demonstrado que linguados adultos marinhos, *Scophthalmus maximus* são portadores de bactérias capazes de suprimir o crescimento de *V. anguillarum* (Olsson *et al.*, 1992) que devem agir como probiontes contra tais patógenos (Gómez-Gil *et al.*, 2000).

Munro *et al.* (1994) mencionaram que a flora do trato digestivo também desempenha importante papel sobre a sobrevivência das larvas de linguado, embora nenhuma correlação entre o número de bactérias do trato digestivo e a sobrevivência larval tenha sido observada.

Austin *et al.* (1995) reportaram que uma linhagem de *Vibrio alginolyticus* foi eficiente na redução de doença causada por *Aeromonas salmonicida* e duas espécies patogênicas de *Vibrio*, no salmão do Atlântico, *Salmo salar*. Maiores taxas de sobrevivência foram observadas com o uso desse probionte, alcançando algumas vezes, uma melhora de até 82%. De acordo com Gómez-Gil *et al.* (2000), é importante notar que a linhagem foi isolada de uma larvicultura de

canais do Equador e testada contra linhagens de água temperada (Escócia, Inglaterra e Noruega) e uma da Tasmânia.

Kennedy *et al.* (1998) mostraram que a adição de uma bactéria probionte gram-positiva, aumentou o crescimento, a uniformidade de tamanho e a taxa de sobrevivência de larvas de peixes marinhos (camorim, pargo, truta marinha e tainha). Os autores relatam ter observado que as bactérias dos meios externo e interno dos peixes mudaram da predominância de *Vibrio* para outros maiores de outras bactérias gram-negativas e positivas.

Gram *et al.* (1999) mencionaram que uma linhagem de *Pseudomonas fluorescens* (AH2) reduziu a mortalidade de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* de 40 gramas, infectada com uma linhagem patogênica de *V. anguillarum* (90-11-287, sorotipo 01). Controles inoculados com a bactéria patogênica tiveram uma mortalidade cumulativa de 47% depois de 07 dias, enquanto que nos peixes tratados a mortalidade foi de 32%.

Diets secas congeladas contendo bactéria ácido-láctica *Carnobacterium divergens*, isolada do trato intestinal de *Gadus morhua*, foram ofertadas a alevinos de bacalhau e mostraram um certo nível de resistência quando os animais foram submetidos subsequentemente, a desafios com *V. anguillarum* (Gildberg *et al.*, 1997). Por outro lado, Gildberg *et al.* (1995) afirmam que as bactérias ácido-lácticas do intestino de salmão não melhoraram a resistência de alevinos do Atlântico, *Salmo salar*, quando desafiados com a linhagem patogênica de *A. salmonicida*.

Segundo Gómez-Gil *et al.* (2000), rotíferos como alimentos vivos têm sido usados para a alimentação de larvas de peixes. Por este motivo, algumas pesquisas vêm sendo direcionadas para o melhoramento da sua qualidade microbiana. Gatesoupe (1989), demonstrou que bactérias associadas ao rotífero poderiam ser prejudiciais às larvas de linguado, porém a inoculação da bactéria *Bacillus toyoi* como probiótico, para a desinfecção do rotífero, melhorou a taxa de crescimento das larvas de linguado. De acordo com Gatesoupe, (1990), *V. alginolyticus* foi detectado onde quer que o rotífero e o linguado saudáveis foram cultivados e *Aeromonas* spp. foi dominante nos tanques onde altas mortalidades ocorreram. Conforme Gatesoupe, (1991), *Enterobacillus plantarum* e *Lactobacillus helveticus* foram usados como aditivos alimentares para o rotífero e a adição do primeiro aumentou a densidade populacional desse organismo, reduzindo a carga bacteriana aeróbia e aumentando o valor dietético do rotífero, pela concorrência inibitória de *A. salmonicida*. Outra bactéria ácido-láctica, *Lactococcus lactis* aumentou o crescimento do

utilizam *Brachionus plicatilis* e teve um efeito inibitório contra *V. anguillarum* (Harzevili *et al.*, 1998). Esporos de *Bacillus* spp. inibiram o crescimento de *Vibrio* spp. na cultura de rotífero, com melhoria do peso médio do linguado (Gatesoupe, 1991).

2.4.1 - Uso de Probióticos no Cultivo de Camarão Marinho.

Apesar da pouca importância dada à aplicação dos probióticos na carcinicultura marinha e dos seus prováveis efeitos sobre a nutrição dos camarões, eles têm sido objeto de estudos no controle de vibrioses (Austin *et al.*, 1995; Moriarty, 1998; Rengpipat *et al.*, 1998), como promotores do sistema imunológico dos camarões peneídeos (Rengpipat *et al.*, 2000; Sung *et al.*, 2003) e como agentes biorremediadores dos parâmetros de qualidade de água (Devaraja *et al.*, 2002).

Segundo Gomez-Gil *et al.* (2000), diversas bactérias têm sido usadas como probióticos no cultivo larval de animais aquáticos, tanto ministradas diretamente na água ou sob a forma de produtos resfriados secos, ou via portadores vivos como rotíferos e artemia. E embora alguns estudos tenham sido feitos na América do Sul sobre o emprego de probióticos no cultivo larval de camarões marinhos, quase não existem dados científicos conclusivos sobre essa prática.

Os primeiros testes foram conduzidos com o objetivo de promover o crescimento de vibrios benéficos ou sacarose positiva (fermentadores de sacarose) nos meios de cultivo. Para realizar esse propósito, fez-se o uso de tabletes de açúcar nos tanques de cultivo para estimular a multiplicação de *Vibrio* spp. sacarose positivos. Posteriormente, essas bactérias foram, como as microalgas, cultivadas em tanques aerados e adicionadas aos meios de cultura de larvas (Garrigos & Wyban, 1993; Daniels, 1993).

Griffith (1995) reporta que seguindo a introdução de probióticos no Equador em 1992, o intervalo de tempo entre os cultivos nas larviculturas de 7 dias por mês, foi reduzido para 21 dias por ano, a produção aumentou cerca de 35% e o emprego de antibióticos decresceu 94%.

Na Ásia, reporta-se como promissor, o uso de diversas espécies de bactérias no cultivo de larvas de *Penaeus monodon* e *Penaeus penicillatus*, no entanto sem evidências científicas (Rodríguez, 1991; Gómez-Gil, 2000).

Moriarty (1998) observou um aumento na sobrevivência do camarão *Penaeus monodon* nos viveiros, onde algumas linhagens de *Bacillus* spp. foram introduzidas. Esse tratamento decresceu

a propagação de bactérias luminescentes patogênicas *Vibrio* spp., no sedimento e, em menor proporção, na água. Contudo, o seu efeito sobre a microbiota intestinal do camarão não foi estudado. Tais linhagens de *Bacillus* foram selecionadas devido a sua atividade antibiótica contra essas bactérias e o autor enfatizou a multiplicidade dos possíveis efeitos do probiótico, como por exemplo, as excreções enzimáticas e a competição por nutrientes e por espaço.

Garrigues & Arevalo (1995), testaram uma linhagem de *Vibrio alginolyticus* isolada da água do mar, numa larvicultura de *Litopenaeus vannamei*. Num banho teste de desafio de patogenicidade, não ocorreu mortalidade nas larvas, no entanto quando o teste de patogenicidade foi feito com *Vibrio parahaemolyticus*, foram observados 100% de mortalidade, após 94 horas de exposição numa concentração de 2×10^3 células \times ml⁻¹. Num teste, repetido três vezes em datas diferentes, a introdução do probiótico nos tanques resultou numa sobrevivência de 90,1% e num peso úmido de 7,8 mg para as larvas, enquanto que nos tanques tratados com antibióticos, a sobrevivência foi de 83,8 % e peso úmido de 6,0 mg. Nos tanques controle, a sobrevivência foi de 74,3% e o peso médio foi de 7,1 mg. A contagem de *Vibrio* em TCBS Agar mostrou colônias negativas (colônias verdes) nos tanques com probiótico e apenas algumas, aparecendo nos tanques com antibióticos e nos tanques testemunha.

Segundo Gómez-Gil *et al.* (2000), as análises estatísticas não foram realizadas nos testes acima referidos e as avaliações dos dados, levando-se em conta falsas replicações no tempo, não mostraram diferenças significativas sobre a sobrevivência e sobre o peso úmido (ANOVA, $P = 0,204$ e $P = 0,101$, respectivamente).

Garrigues & Wyban (1993) obtiveram resultados similares, observando que as larvas de *L. vannamei* cresceram mais com probióticos e foram mais ativas, e bactérias luminescentes não estavam presentes nos tanques de cultura.

Zerfán *et al.* (1997) reportam que a inoculação de uma linhagem de probiótico bacteriano em um tanque com nauplius (N-5) de *L. vannamei* na razão de 10^3 células \times ml⁻¹, contra a colonização das larvas, por uma linhagem patogênica, mesmo quando desafiadas a uma densidade de 10^7 células \times ml⁻¹. Os autores supõem que o trato digestivo das larvas já estava colonizado por bactérias do meio ambiente, as quais devem ter interferido em seus experimentos com probióticos. Contudo, novamente a escassez de dados dessa publicação, comprometeu qualquer análise crítica dos resultados.

Na literatura sobre o uso de probióticos em larviculturas de camarões, a bactéria *Vibrio alginolyticus* é testada freqüentemente com resultados promissores. O trabalho de Austin *et al.* (1985) e de Garriques & Arevalo (1995) sugerem que o *V. alginolyticus* deve ter características capazes de conferir certo nível de proteção contra doenças. Gatesoupe (1990) também detectou *V. alginolyticus* em rotíferos sadios e estabeleceu uma correlação positiva entre a taxa de sobrevivência de larvas de linguado e a proporção de *V. alginolyticus* no ambiente marinho. Esses dados suportam a hipótese de que esta espécie de bactéria poderia ser uma candidata a probiótico, para larvicultura de camarão, embora com precaução por conta da patogenicidade de algumas linhagens (Lightner, 1993).

Horowitz & Horowitz (2000) avaliaram um suplemento bacteriano considerado como redutor de matéria orgânica e melhorador de qualidade da água e da produção de camarões das espécies *Penaeus setiferus* (atualmente *Litopenaeus setiferus*) e *L. vannamei*. Os testes foram conduzidos em tanques em área aberta e sem renovação de água, com alta taxa de aeração artificial, densidade de estocagem de 40-50 camarões por metro quadrado e empregando dietas de baixo (20%) e alto (45%) níveis protéicos. Um composto comercial contendo diversas espécies do gênero *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. polymyxa* e *B. Licheniformis*), todas não patogênicas, viáveis e naturais, foi pré-ativado e adicionado aos tanques, cinco vezes por semana, de acordo com as dosagens e indicações do fabricante. Os parâmetros de qualidade de água incluindo: oxigênio dissolvido; salinidade; pH; transparência; amônia total; nitrito; nitrato; fósforo total; DBO; DQO, sólidos totais em suspensão e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram monitorados. Quando das despesas, o sedimento gerado em cada tanque foi amostrado e analisado em seu peso seco relativo, volume, DQO, DBO e SSV e respiração microbiana. Da mesma forma, o peso médio final, a sobrevivência e a produção de camarões, além do fator de conversão alimentar da ração, também foram determinados. Os resultados obtidos não revelaram diferenças significativas entre os tratamentos (com e sem probióticos), para os parâmetros: taxa de sobrevivência, produção final e peso médio final, para ambas as dietas e ambas as espécies de camarão. Além disso, o tratamento probiótico não produziu qualquer melhoramento significativo, na remoção de amônia e nitrito, acumulação de nitrato nos tanques, ou em qualquer outro parâmetro de qualidade de água monitorado. Também não houve quaisquer diferenças nos parâmetros relacionados ao lodo dos tanques, entre os tratamentos. Desse modo, a adição dos suplementos bacterianos não produziram qualquer melhoramento mensurável, na qualidade da água ou do sedimento, ou na

produção de camarões, em relação aos tanques não tratados. Os autores mencionados concluíram que os benefícios do emprego de suplementos microbianos aos meios de cultivo, ainda são controversos. Contudo, esses suplementos devem ser aplicados de modo a favorecer o seu estabelecimento e atividade incluindo: introdução direta nos alimentos, adição de áreas de fixação e adesão microbiana, manipulação genética por seleção e melhoramento, e identificação de fatores que possam limitar a proliferação microbiana benéfica.

Benigapat *et al.* (1998) mencionam que uma bactéria, (*Bacillus* S11), foi isolada do habitat de *Penaeus monodon* e foi adicionada ao seu alimento como probiótico em três formas: células frescas, células frescas em solução salina normal e numa forma liofilizada. Depois de cem dias de teste alimentar, usando alimento com e sem probiótico, os indivíduos a partir de P1-30 não mostraram diferença significativa ($P > 0,05$) em crescimento, sobrevivência e nem na aparência externa, entre os três tratamentos com o probiótico. Porém diferenças significativas ($P < 0,05$) ocorreram entre os grupos controle e os grupos do probiótico. Depois de desafiar os camarões com um patógeno, *Vibrio harveyi*, por imersão durante 10 dias, os autores notaram que todos os grupos de tratamento com probiótico tiveram 100% de sobrevivência, enquanto que o grupo controle teve apenas 26% de sobrevivência. Além disso, o grupo controle apresentou sintomas comuns de enfermidades, bem como alterações estruturais no hepatopâncreas e intestino, ao contrário dos camarões do grupo tratamento que estavam saudáveis e normais.

Segundo Devaraja *et al.* (2002), viveiros comerciais de *Penaeus monodon*, recebendo dois produtos microbianos, foram monitorados sobre mudanças na população bacteriana e sobre a produção de camarão. Os produtos foram investigados para a composição de espécies e administrados seguindo as determinações dos fabricantes durante um período de 110 dias. O produto 1 continha *Bacillus* sp. e *Saccharomyces* sp. e o produto 2 continha *Bacillus* sp., *Stromosporus* sp. e *Nitrobacter* sp. Amostras da água e do sedimento foram coletadas uma vez a cada 14 dias para as análises bacteriológicas. As densidades populacionais de vários grupos bacterianos heterotróficos (vibrios presuntivos, mineralizadores de proteína, amonificadores e oxidantes de enxofre) e autotróficos (oxidantes de amônia, oxidantes de nitrito e presuntivos oxidantes de enxofre), foram estimadas, na água e no sedimento. Os resultados mostraram que *Bacillus* spp foram dominantes em todos os viveiros. O sedimento dos viveiros tratados com o produto 1, tiveram significativamente ($P < 0,05$) números mais altos em contagens de placas (TPO) ($1,24 \times 10^6 \pm 0,27 \times 10^6$ UFC x g⁻¹) e de bactérias presuntivamente oxidantes de enxofre

$0,19 \times 10^2 \sim 0,19 \times 10^2 \text{ UFC x g}^{-1}$). A densidade média de bactérias redutoras de enxofre ($2,74 \sim 0,27 \text{ UFC x ml}^{-1}$) na água dos viveiros controle, foi significativamente mais baixa ($P < 0,05$) do que nos viveiros tratados. A produção média no final do período de cultura, foi relativamente maior, mas não estatisticamente significativa, nos viveiros tratados com o produto 1 ($5837,14 \pm 752,02 \text{ Kg x ha}^{-1}$), quando comparada com a produção nos viveiros tratados com o produto 2 ($4477,40 \pm 438,46 \text{ Kg x ha}^{-1}$) e com os viveiros controle ($5102,28 \pm 262,28 \text{ Kg x ha}^{-1}$). Algumas populações bacterianas e alguns fatores de conversão alimentar (FCA) foram significativamente diferentes nos viveiros tratados com o produto 1, em comparação com os que receberam o produto 2 e os viveiros controle, porém, os retornos econômicos não foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos.

Widiaty (2000) relata que na Indonésia, algumas fazendas que recebiam água de uma fonte portadora de bactérias patogênicas do gênero *Vibrio* e que usaram *Bacillus* como probióticos, apresentaram um índice de sucesso muito maior do que aquelas não usuárias. Praticamente todas as fazendas que não aplicaram probiótico, tiveram colapso produtivo antes de 80 dias de cultivo, ao passo que, onde foi empregado, observou-se uma resistência por mais de 180 dias. Sugerindo, portanto, que seu uso pode promover a modificação da flora bacteriana dos viveiros em larga escala, com efeitos diretos sobre a produção de camarões.

Schultz *et al.* (1999) testaram cinco dietas para *Penaeus vannamei*: 1) contendo *Saccharomyces cerevisiae* a 1%; 2) contendo glucano extraído de *S. cerevisiae* a 0,1%; 3) contendo *Plasmodium frosdozymba* a 1%; 4) contendo a levedura experimental HPPR1 a 1% e 5) controle. O teste durou sete semanas. Os resultados mostraram não haver diferenças em ganho de peso e em conversão alimentar entre os tratamentos. Os autores observaram ainda, que as dietas: 1, 3 e 4 foram superiores significativamente quanto à sobrevivência dos animais em relação à dieta 5, no entanto o mesmo não ocorreu, em relação à dieta 5. Ao final do experimento, os autores testaram a capacidade dos animais de eliminarem os patógenos de sua hemolinfa, mediante a inserção em uma suspensão contendo *Vibrio harveyi* da linhagem (BP 05), verificando que os animais alimentados com as dietas: 1, 3, 4 e 5, efetivamente tiveram sucesso, o mesmo não sendo observado para os animais consumidores da dieta 2, onde inclusive, mortalidades foram registradas. Apesar de não haver evidência conclusiva de que as dietas: 1, 3 e 4 melhoraram a imunidade dos camarões, os autores sugerem que as mesmas foram benéficas.

30- MATERIAL E MÉTODOS

31- Caracterização da Área do Estudo

A fazenda onde o estudo foi realizado pertence à AQUARIUM - AQUICULTURA LTDA localizada à margem esquerda do Rio Apodi na localidade de Várzea da Ema, município de Mossoró - Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil (Lat: 5°, 11" S / Long: 37°, 20", W). A fazenda tem 800 hectares e se encontra a 14 Km (quilômetros) da sede do município citado (Figura 2).

O Rio Apodi é temporário e objeto de diversos barramentos, tendo seu fluxo de água doce limitado à estação chuvosa, que incide anualmente, entre os meses de janeiro e maio. O ingresso de água fluvial nesse período é suficiente para a redução da salinidade do seu estuário a níveis de 10,0 a 20,0‰. A atividade salineira é dominante no estuário citado e opera normalmente durante a estação seca, no período de junho a dezembro, desaguando seus efluentes hipersalinos (águas raras, firmemente nesse manancial, causando a elevação da salinidade da água a patamares da ordem de 80,0 a 100,0‰, impossibilitando seu uso para a cultura de camarões, nesse período.

Os solos, em toda a extensão da fazenda, são argilosos e salinizados, apesar de não sofrerem influência direta das marés. Os subsolos são ricos em água salobra, que varia de 5,0 a 10,0 ‰ de salinidade, sendo possível a obtenção desse recurso, mediante a escavação de poços artesianos (4 a 5 m de profundidade) com vazões médias de 100 a 200 m³ / hora.

O clima da região é semi-árido com três a cinco meses de chuvas, tendo precipitações anuais de 400 a 1.200 mm. A temperatura média da água é elevada durante todo o ano, variando de 27,5 a 31,5 °C e a taxa de evaporação e infiltração locais somadas, situam-se ao nível de 8,0 mm por dia (DNMET, 1992).



Figura 2 – Planta de situação e localização da fazenda experimental.

3.1.2 - Descrição da Estrutura Física da Fazenda

O projeto AQUARIUM envolve uma área total de 90 hectares compreendendo as seguintes seções: 6 viveiros berçários; 24 viveiros de engorda escavados em terreno natural com diques laterais em pedra; canais para circulação de água - 3 de adução e 4 de drenagem; área de tratamento de efluentes (bacia de sedimentação) - com área de 7,1 ha e rebaixada em 3,5 metros

conexão aos canais de drenagem e profundidade máxima de 4,6 metros, com capacidade de 120 mil metros cúbicos e área de tráfego, composta por diques e taludes. Contando ainda com estruturas de apoio como escritório, refeitório e alojamento.

3.1.2 - Sistema de Captação e Circulação de Água

A captação inicial foi feita através de um canal escavado, seccionado por uma comporta, elemento de ligação entre o Rio Mossoró e o lago de acumulação e tratamento de água. A partir da estação de tratamento, a água foi bombeada, através de três estações, para os canais de adução. Inicialmente, por vasos comunicantes (comportas de adução), abasteceram todos os viveiros, que inicialmente em princípio, como reservatórios. Cerca de 1,0 milhão de metros cúbicos de água, com salinidade de 8,0 a 10,0‰ foram captados entre janeiro e março de 2002. Desde então, esse volume foi mantido, mediante a reposição de suas perdas por evaporação e infiltração, feita através da captação de água salobra (5,0 a 8,0 ‰) de 6 poços tubulares artesianos com cerca de 100 m³ / hora de vazão total. A circulação da água foi vaso comunicante (comportas de adução), mediante o escoamento dos viveiros para a bacia de acumulação (estação de tratamento) através dos canais de drenagem, e o processo se completou, pela reposição por bombeamento e pela redistribuição aos viveiros através dos canais de adução.

3.1.3 - Sistema de Tratamento de Efluentes.

O tratamento de efluentes consistiu numa seqüência de procedimentos simples, que tiveram início com a acumulação da água de drenagem dos viveiros na lagoa de sedimentação, que tem formato retangular. Nessa bacia, o processo de sedimentação de sólidos foi possibilitado, tanto pela adequada profundidade como pela baixa velocidade de deslocamento da água em direção às estações de bombeamento. Nesse percurso, que transcorreu num período mínimo de cinco a dez dias, a água passou inicialmente pela cultura de macroalgas (*Gracillaria* spp. e *Ruphia* spp.) e em seguida, pelo sistema aerado de produção de ostras (*Crassostrea rhizophorae*), chegando finalmente às estações elevatórias (Figura 3).

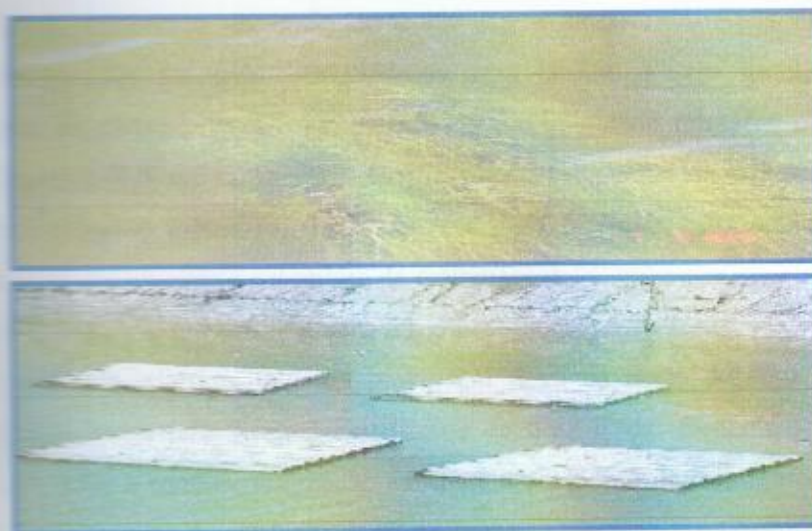


Figura 3 – Sistema de tratamento de efluentes: cultivo de *Ruphia* spp. e *C. rhizophorae*

3.2 – Caracterização do Sistema de Cultivo

Para a realização do estudo, foi adotado o sistema intensivo fechado e de recirculação em que, oito viveiros de terra, de formato retangular com áreas individuais de 2,6 ha, foram escolhidos ao acaso e empregados para os tratamentos. Quatro unidades (VE-01; VE-02; VE-11 e VE-21) foram usadas como viveiros teste, para a aplicação do probiótico, enquanto que os outros quatro (VE-03; VE-17; VE-23 e VE-24), funcionaram como controle (sem probiótico). O experimento teve início em 30 de abril e foi concluído em 30 de agosto de 2003. Todos os viveiros foram dotados de aeração artificial, mediante o emprego de aeradores de palhetas, na relação de 10 CV por hectare, sendo previamente preparados, estocados, manejados e despeçados, de acordo com a metodologia que segue.

3.2.1 – Preparação dos Viveiros

Vinte dias antes da estocagem, todos os viveiros foram esvaziados e tiveram suas comportas de adição e drenagem lacradas e dotadas de duas baterias consecutivas de telas, de 500 e 1000 micra, respectivamente. As áreas úmidas foram tratadas com uma solução de cloro a 100 ppm (partes por milhão). O tratamento do solo foi realizado mediante a revirada mecânica e a

utilização de calcário dolomítico na razão de 1.500 Kg x hectare⁻¹. Após cinco dias, o enchimento dos viveiros foi feito, admitindo-se uma lâmina d'água de 1,0 metro. A fertilização da água foi efetuada para o incremento da produtividade primária, obedecendo a relação N:P de 10 para 1 (3,0: 0,3 ppm). Três fertilizações subseqüentes na razão respectiva, de 10:1:0,3 ppm de nitrogênio e fósforo, foram feitas a cada três dias, para a manutenção da produtividade primária nos viveiros e o domínio de diatomáceas.

Sete dias antes dos povoamentos (Semana 1), o probiótico foi aplicado nos viveiros teste, obedecendo aos seguintes critérios: diluição prévia em água na razão de 75,0 g x litro⁻¹; colocação da mistura em garrafa plástica esterilizada de dois litros; fechamento, agitação e resaca por quatro horas à sombra; reagitação da mistura e aspersão uniforme nos viveiros na proporção de 0,266 ppm (grama do produto por m³ de água).

Assim como uma Contagem Total de Aeróbios (TCA), especificada como mínima pelo fabricante, equivalente a $2,2 \times 10^8$ UFC x g⁻¹ (unidades formadoras de colônias por grama), a concentração inicial de bactérias aeróbias ministradas aos viveiros equivaliu a 58,52 UFC x ml⁻¹. Aplicações suplementares foram feitas durante dezesseis semanas consecutivas, em dosagens e concentrações que variaram de 0,01 a 0,12 ppm e 2,11 a 26,62 UFC x ml⁻¹, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 – Aplicação do probiótico durante o experimento, expressa em dosagens e concentrações.

Semanas	Aplicações	
	Dosagens (ppm)	Concentrações (UFC/ml)
1	0,27	58,52
2	0,08	17,77
3	0,08	17,77
4	0,08	17,77
5	0,12	26,62
6	0,12	26,62
7	0,12	26,62
8	0,04	7,71
9	0,01	2,11
10	0,01	2,53
11	0,01	2,77
12	0,01	2,62
13	0,01	2,77
14	0,01	2,44
15	0,02	3,63
16	0,02	3,36

3.2.2 – Transferência dos Juvenis e Estocagem dos Viveiros

Sete dias após a aplicação do probiótico nos viveiros teste (semana 2), todas as unidades experimentais teste e controle, foram povoadas com juvenis de *L. vannamei*, com peso médio individual de 2,71 e 1,97 g, respectivamente (Tabela 2), numa densidade de 97 a 98 animais /m², o que correspondeu em média, a 2.540.000 juvenis por viveiro de 2,6 ha.

As transferências dos juvenis dos viveiros berçários intensivos (raceways) para os viveiros teste e controle foram realizadas no período da manhã entre 01:00 e 06:00 horas, para a redução do estresse aos animais e para essa tarefa, um sistema de fluxo contínuo entre os berçários e os viveiros foi idealizado. Dessa forma, uma torre de madeira com 6 metros de altura e 1,2m² de área, foi edificada na área de despesca dos berçários, onde foi colocada uma caixa plástica com capacidade de 500 litros, provida de uma tubulação de PVC de 100 mm de

colocada, localizada no fundo e que se conectava aos viveiros. Uma bomba marca JACUZI, com motor elétrico de 10 CV e vazão de 50 m³ por hora, captando água dos próprios "raceways" e filtrada em malha de 500 micra, proporcionava o fluxo contínuo entre o reservatório elevado e os viveiros de engorda.

A captura dos juvenis foi feita pela drenagem gradual dos berçários e o aprisionamento nas mesmas em forma de pirâmide (3,0 x 0,8 x 0,8 m) com malha de 5 mm, colocadas na comporta de escoamento. A cada dois minutos, os juvenis retidos eram coletados em caixas plásticas vazadas (30 x 10 x 1,4 m) e pesados em uma balança eletrônica digital marca FILIZOLA, sendo em seguida, colocados no reservatório elevado e transferidos para os viveiros de engorda, através do sistema de vasos comunicantes.

O número de animais transferidos foi obtida pela seguinte fórmula:

$$N = (PT - T) : PM, \text{ em que:}$$

N = número de animais transferidos;

PT = massa total registrada em cada pesagem;

T = tara da caixa plástica;

PM = peso médio individual dos animais em transferência.

Tabela 4 – Peso médio inicial, com os respectivos desvios padrões e valores mínimos e máximos, dos juvenis de *L. vannamei* estocados nos viveiros experimentais.

Tratamentos	Peso médio (g)	Desvio Padrão da média	Valores	
			Mínimo	Máximo
Viveiros teste	2,21	± 0,29	1,92	2,48
Viveiros controle	1,97	± 0,31	1,73	2,43

2.2.3—Monitoramento das Variáveis Físico-químicas de Qualidade da Água.

Dentre os parâmetros físico-químicos indicadores de qualidade de água, foram mensuradas diariamente as variações de: temperatura e oxigênio dissolvido (05:00 e 15:00 horas) e, condutividade e pH (15:00 h). Semanalmente foram determinadas as variações de: amônia total, nitrato, nitrito, fosfato e silicato (15:00 h) e, quinzenalmente, foram feitas as avaliações de DBO (05:00h). As análises de pH não foram feitas nas semanas 7 a 13 e a partir da semana 15; amônia total não foi mensurada nas semanas 2 a 5 e a partir da semana 14. As coletas para DBO iniciaram a partir da semana 4.

A temperatura (T °C) e o oxigênio dissolvido (mg/L) foram mensurados sempre na comporta de drenagem dos viveiros com um oxímetro digital modelo 55 12 FT, marca YSI. A condutividade (S %) foi determinada também, nas áreas de drenagem, por meio de um refratômetro modelo S.Mill, marca ATAGO, enquanto que a transparência (cm), foi tomada com o auxílio de um disco de Secchi. As medições de pH foram feitas através de um medidor digital, modelo L 55, marca HANNA. Todas as avaliações dos parâmetros supracitados foram feitas "in situ".

Para as determinações (em ppm) de amônia, nitrito, nitrato, fosfato e silicato, as amostras foram coletadas semanalmente em garrafas plásticas de 200 ml, nas comportas de drenagem dos viveiros e analisadas de imediato em laboratório. Com esse propósito, foi utilizado um espectrofotômetro modelo SL 2K seguindo metodologias modificadas de APHA (1995), indicadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Métodos adotados para as análises químicas dos nutrientes na água dos viveiros experimentais.

NUTRIENTES	MÉTODOS
Amônia (NH_3+NH_4)	Nessler
Nitrito (NO_2)	Alfaftilamina
Nitrato (NO_3)	Brucina
Fosfato (PO_4)	Alfanato Sulfônico

Fonte: ALFATECNOQUÍMICA

Para as análises da DBO, foi utilizado um kit marca ALFATECNOQUÍMICA com incubação em estufa a 20°C e mensuração de oxigênio por titulação.

3.2.4 – Monitoramento das Variáveis Biológicas de Qualidade da Água.

Dentre os parâmetros biológicos de qualidade de água, foram avaliados semanalmente o fitoplâncton e o zooplâncton. As amostras de água para análise de fitoplâncton ($\text{cell} \times \text{ml}^{-1}$) e de zooplâncton ($\text{ind.} \times \text{litro}^{-1}$) foram coletadas sempre às 15:00 horas, na área de drenagem dos viveiros, através de uma rede de plâncton com malha de 20 micra. As amostras coletadas foram imediatamente para garrafas plásticas de 200 ml, fixadas em solução de formalina a 4% e analisadas imediatamente em laboratório, usando um microscópio de luz marca NIKON. Para o fitoplâncton, as densidades dos grupos mais importantes como as diatomáceas, clorofíceas, cianobactérias e dinoflagelados foram obtidas através da contagem em câmara de Neubauer, de acordo com Stanford (1999). Para o zooplâncton, foram identificados e quantificados os grupos: Cladocera, Rotifera, Ostracoda e Cirripedia, mediante o emprego de uma câmara de Sedgewick-Rafter.

3.2.5 – Monitoramento Bacteriológico

As análises bacterianas, em aeróbios totais e presuntivas de *Vibrio* foram feitas semanalmente, tanto para água de superfície, água de profundidade e sedimento (semanas 1, 3, 5, 7, 9, 12, 14, 16), como para camarões (semanas: 2, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 17).

A quantidade de amostras (oito para cada parâmetro) foi a mesma para os dois tratamentos (com e sem probiótico) e as coletas foram feitas entre 05:00 e 07:00 horas.

3.2.5.1 - Coleta das Amostras

Em todos os viveiros (teste e controle), foram coletados 500 ml de água em garrafas de cor âmbar esterilizadas e etiquetadas, a 0,40 m de profundidade, para a água de superfície e a 0,40 m acima do sedimento, para a água de profundidade, em dois pontos distintos, na área de abastecimento e de drenagem.

As amostras de sedimento foram coletadas em dois pontos (abastecimento e drenagem) de cada um dos viveiros (teste e controle) mediante o uso de um amostrador de solo, a 0,1 m de profundidade no solo, sendo acondicionadas em recipientes plásticos de 500 ml etiquetados e previamente esterilizados.

Para as camarões, as amostras foram coletadas ao acaso, usando uma tarrafa de nylon com área de 0 m². Os animais coletados (35 em cada viveiro), foram acondicionados em bolsas plásticas contendo água do próprio viveiro, saturada artificialmente com oxigênio, para manter os animais vivos até a chegada ao laboratório.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e imediatamente transportadas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado, do Instituto de Ciências do Mar – UNICENMAR, da Universidade Federal do Ceará e o tempo decorrido entre a coleta e seu processamento foi de aproximadamente seis horas.

3.2.5.2 - Preparação das Diluições das Amostras

As diluições das amostras de água, tanto de superfície, como de profundidade, foram realizadas no laboratório com a retirada de 1 ml de água de cada frasco âmbar com pipeta esterilizada e a homogeneizada em 9 ml de solução de Água Peptonada Alcalina (APA). Dessa maneira obtida a diluição 10⁻¹ e, a partir da retirada de 1 ml dessa diluição, foram preparadas as diluições decimais: 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵.

As amostras dos dois pontos do sedimento de cada viveiro foram homogeneizadas em *gral* esterilizado e dessa homogeneização, foram retirados 25 gramas, que foram adicionados a um balão contendo 225 ml de APA, obtendo-se dessa forma, a diluição decimal de 10⁻¹. Para a homogeneização mais adequada, a amostra foi posta em um agitador magnético por um período de 30 minutos, sendo em seguida, deixada em repouso por 2 horas. Decorrido este período, uma amostra de 1 ml foi retirada através de uma pipeta esterilizada e colocada em tubo de ensaio esterilizado, contendo 9 ml de APA para a diluição decimal de 10⁻² e daí para as diluições subsequentes de 10⁻³ a 10⁻⁵.

As amostras de camarão foram maceradas em *gral* esterilizado, sendo retirada uma amostra de 25 gramas que foi liquidificada em 225 ml de APA, obtendo-se assim, a diluição decimal de 10⁻¹. Dessa diluição, foi retirado 1 ml com auxílio de pipeta esterilizada e colocado em tubo de

meio esterilizado contendo 9 ml de APA (diluição 10^{-2}), a partir da qual, foram feitas as diluições de 10^{-2} a 10^{-5} .

3.2.5.3 - Ensaios Bacteriológicos

Um volume de 1 ml de cada uma das diluições de cada amostra (10^{-1} a 10^{-5}), foi depositado em placas de Petri e coberto, através da técnica de derrame em placa ou "pour plate" com 15 ml de meio de cultura Agar Contagem Padrão (PCA), Oxoid Ltda., esterilizado em autoclave. O espalhamento foi realizado em duplicata num período de 15 minutos a partir da preparação das diluições e as placas foram submetidas a movimentos de rotação para a homogeneização das bactérias com o meio. Após a solidificação do Ágar, as placas foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas, de acordo com Maturin & Peeler (2002). Após esse período foram feitas as contagens através do contador QUÉBEC, das placas que apresentaram crescimento entre 25 e 250 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de bactérias heterotróficas aeróbias viáveis. Das contagens realizadas, foi calculada a média das placas por diluição. O resultado foi calculado pela expressão: $\text{UFC} \times \text{inverso do fator de diluição} = \text{número de UFC/mL}$ para amostras de água e UFC/g para amostras de solo e de camarão.

A contagem de bactérias, sacarose positivas e sacarose negativas, foi feita mediante a aplicação da técnica do espalhamento em placa ou "spread plate" em meio Agar Tiosulfato-Citrato Sais Biliares (TCBS), Oxoid Ltda., o qual foi preparado segundo as recomendações do fabricante, sendo 15 ml distribuídos em cada uma das placas de Petri previamente esterilizadas. Aliquotas de 0,2 ml das diluições de cada amostra foram espalhadas com alça de Drigalsky esterilizada por autoclavação. As placas, em duplicata para cada uma das diluições, foram incubadas em estufa a 35°C por 18 horas de acordo com Elliot *et al.* (2002). Após esse período, foram feitas as contagens das placas que apresentavam crescimento entre 25 e 250 UFCs representativas de *Vibrio* e o resultado foi calculado pela expressão: $\text{UFC} \times 5 \times \text{inverso do fator de diluição} = \text{número de UFC/ml}$ para as amostras de água e UFC/g para as amostras de sedimento e de camarão.

3.2.6 – Recirculação de Água e Manejo Alimentar

Os dados referentes à recirculação de água foram calculados em valores percentuais, levando-se em consideração os volumes drenados e de reabastecimento.

A alimentação dos camarões nos viveiros foi feita com uma ração comercial para engorda, contendo 37,0% de proteína bruta, distribuída três vezes ao dia (08:00, 12:00 e 16:00 horas), empregando-se o método de comedouros fixos e consumo voluntário, segundo a metodologia descrita por Maia (1995) e Rocha & Maia (1998). Dessa forma, foram usados 100 comedouros por hectare, confeccionados com pneus descartados, onde o alimento era distribuído manualmente através do uso de caiaques movidos a remo, em quantidades definidas pelo consumo registrado na alimentação precedente.

3.2.7 – Manejo, Avaliação Populacional e Colheita.

No decorrer do estudo, diversas práticas de manejo foram realizadas nos viveiros teste e controle, sendo as mais frequentes as fertilizações de cobertura com uréia, para manutenção da produção de microalgas e correções de alcalinidade da água pela aplicação de calcário magnésico. Além dessas, a aplicação de melão de cana de açúcar para a adequação da relação Carbono Nitrogênio e o estímulo ao crescimento bacteriano, foi realizada a partir da semana 6. O consumo dos insumos está expresso na Tabela 6.

Table 6 – Consumo de probiótico e outros insumos nos viveiros experimentais.

Insumos	Média de consumo (Kg)	Desvio Padrão da média	Valores	
			Mínimo	Máximo
Viveiros teste				
Probióticos	2.625,0	253,3	2.300,0	2.850,0
Calcário Dolomítico	8.150,0	1.016,5	7.050,0	9.450,0
Cloro HTH	62,5	15,6	47,0	84,0
Ureia	282,8	91,7	180,0	395,0
Super Fosfato Triplo	28,0	9,1	18,0	39,0
Melão de cana	4.160,0	-	4.160,0	4.160,0
Viveiros controle				
Probióticos	-	-	-	-
Calcário Dolomítico	7.975,0	1.269,2	6.500,0	9.600,0
Cloro HTH	79,3	31,1	47,0	114,0
Ureia	195,0	12,9	180,0	210,0
Super Fosfato Triplo	19,5	1,3	18,0	21,0
Melão de cana	4.160,0	-	4.160,0	4.160,0

Tendo como objetivo a avaliação do estado de sanidade, o crescimento e o processo de mudas nos camarões, foram feitas amostragens semanais nas populações em cada um dos viveiros, com o auxílio de uma tarrafa de 8,0 m² de área e 0,8 cm de malha. Em cada avaliação, 400 animais foram capturados, visualmente analisados no que se refere à cor, estado de muda, sintomas de enfermidades e presença de necrose. Após estas análises, os animais foram pesados, obtendo-se o peso médio individual, o que viabilizou o cálculo do incremento semanal em peso (g.semana⁻¹). Essas amostragens possibilitaram ainda a avaliação quantitativa da população em estoque, mediante a aplicação da fórmula:

$$P = (Tc \times Sv) : (St \times NI)$$

- onde:
- P= população em estoque;
 - Tc = total de camarões capturados;
 - Sv = área do viveiro em m²;
 - St = área da tarrafa em m²;
 - NI = número de lances efetuados.

Essas amostragens foram importantes também para a estimativa do consumo de ração em relação ao aumento da biomassa ao longo do ciclo e o planejamento das colheitas.

Entre as semanas 15 e 17, amostragens diárias das populações cultivadas foram feitas, observando-se o percentual de perfeição dos animais em relação às deformidades, lesões corporais e aos estágios de ecdise (percentual de perfeição), como determinantes da época de colheita.

Foram adotados como requisitos para a colheita dos animais, um índice de perfeição superior a 80% e peso médio individual acima de 10 gramas. Constatadas essas condições, a alimentação dos animais foi suspensa e os viveiros foram drenados em 50% do seu volume, com permanência de um dia da despesca. As colheitas foram realizadas à noite e durante as mesmas, o oxigênio dissolvido da água foi mantido em torno de 5 ppm, através do acionamento dos aeradores de palhetas, tendo por objetivo a redução do estresse dos animais e a manutenção da qualidade do produto. Esta operação consistiu no escoamento do viveiro através da abertura da comporta de drenagem, onde foi colocada uma rede "bag net", com malha de 1 cm². Nessa rede, os camarões arrastados pelo fluxo de água, foram aprisionados, coletados de forma intermitente e sacrificados por choque térmico, mediante a imersão em água gelada (4 °C), clorada (5 ppm) e com adição de metabisulfito de sódio na concentração de 1,5%. Os camarões permaneceram imersos nesta mistura por cerca de 10 minutos, tempo esse, requerido para a obtenção de uma concentração residual de sulfito, entre 80 e 100 ppm. Em seguida, os camarões foram pesados dentro de monoblocos plásticos e transferidos para caixas isotérmicas de 60 kg, onde foram colocados em gelo, dispostos em camadas alternadas. As caixas isotérmicas, contendo 30 kg de camarão e 30 kg de gelo, foram lacradas e transportadas em caminhão isotérmico, para a planta de beneficiamento.

Os resultados finais, em sobrevivência, produção, produtividade, FCA (Fator de Conversão Alimentar), em cada viveiro tratamento e controle, foram obtidos com a conclusão das despescas.

3.3 - Análise Estatística dos Dados

Para modelar os perfis médios dos parâmetros estudados ao longo das semanas, utilizou-se um modelo polinomial de segunda ordem no tempo, de forma que para o *i*-ésimo viveiro (*i* = 1, 2,

... Para o tratamento j ($j=0$, controle e $j=1$ probiótico), obteve-se, o comportamento médio de cada viveiro, dado pela equação:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_j + \beta_{1j}semana + \beta_{2j}semana^2 + \beta_{3j}semana^3 + \epsilon_{ij} \quad (1)$$

Onde: β_0 = ao efeito de uma constante geral no modelo;

β_j = o efeito do tratamento j

β_1 e β_2 = os efeitos linear e quadrático da semana

β_{1j} e β_{2j} = os efeitos linear e quadrático da semana no tratamento j ;

ϵ_{ij} = efeito aleatório associado ao i -ésimo viveiro no j -ésimo tratamento.

Os coeficientes β_{1j} e β_{2j} , efeitos linear e quadrático da semana no tratamento j ($j=0,1$) permitem a estimativa de diferentes curvas para a os dois tratamentos: com e sem probiótico.

Após a definição do modelo polinomial utilizado, o passo seguinte foi a escolha da estrutura de covariância mais adequada para a análise dos dados observados de cada parâmetro. De acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC), foram empregadas as seguintes estruturas de covariância: Matriz de Toeplitz, Matriz de Simetria Composta e a Matriz de Simetria Composta Estratificada (Winer, 1971; Montgomery, 1991).

4.8- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2 - Caracterização do Sistema de Produção

4.2.1 - Variáveis Físico-químicas de Qualidade da Água

4.2.1.1 - Temperatura

Os valores de temperatura, registrados diariamente durante o período do estudo, às 05:00 e 15:00 horas, estão representados pelas médias semanais. Nos viveiros teste, a temperatura das águas variou de 25,6 a 28,6 °C com média de $26,7 \pm 0,93$ °C, enquanto que nos viveiros controle, ocorreram variações de 25,5 a 28,4 °C com média de $26,7 \pm 0,93$ °C (Figura 4).

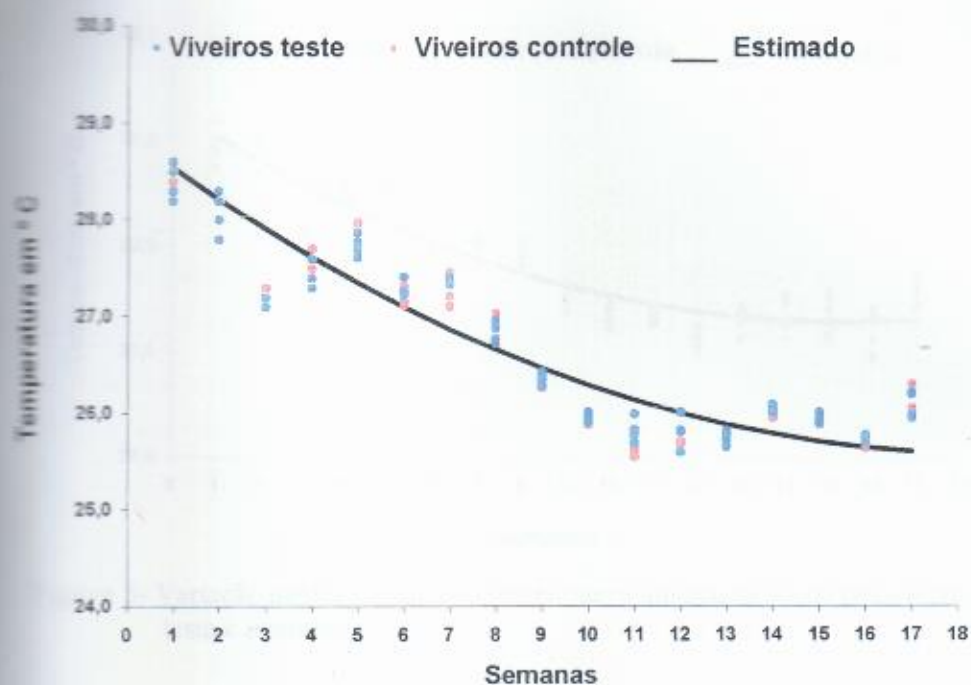


Figura 4- Variação média semanal da temperatura medida às 05:00 horas nos viveiros teste e controle

As temperaturas das 15:00 horas variaram nos viveiros controle, de 26,9 a 31,4 °C com média de $28,7 \pm 1,18$ °C, enquanto que para as unidades teste, a média foi de $28,7 \pm 1,15$ °C com uma variação de 27,0 a 31,0 °C (Figura 5).

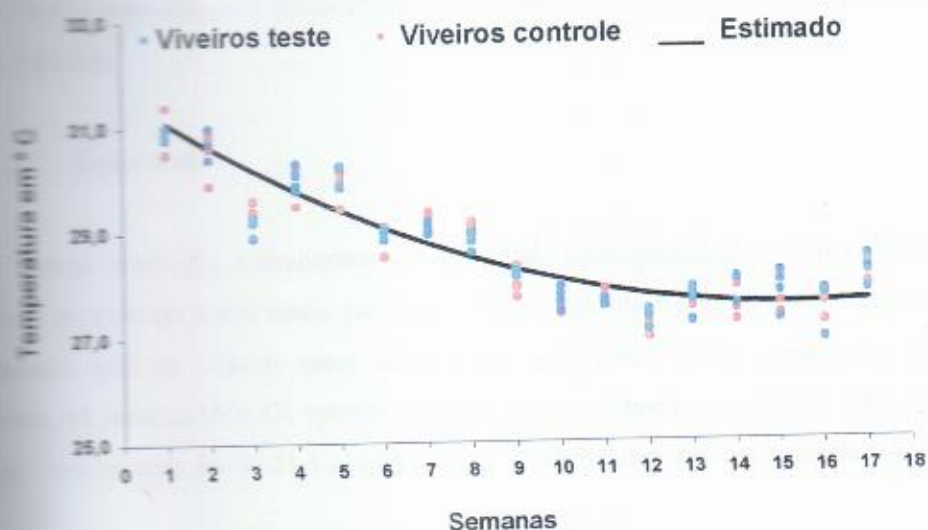


Figura 5- Variação média semanal da temperatura medida às 15:00 nos viveiros teste e controle.

A análise estatística dos dados não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$), em ambos os períodos e apenas o efeito da semana apresentou-se estatisticamente significativo ($P < 0,01$). No entanto, as curvas expressas nas Figuras 4 e 5, revelam um declínio de temperatura ao longo das semanas, para ambos os horários e em ambos os tratamentos.

Do mesmo modo que o relatado por Maia *et al.* (2003b), em dois anos de monitoramento numa fazenda de cultivo da espécie *L. vannamei* no Estado do Ceará, as variações de temperatura nos períodos diários monitorados, supostamente não contribuíram para a alteração de desempenho entre os tratamentos. Entretanto, o declínio deste parâmetro com o tempo, provavelmente influenciou a redução da taxa de crescimento semanal dos camarões, observada ao longo do período, nos dois tratamentos.

Uma grande amplitude de variação da temperatura para os dois períodos diários foi constatada neste estudo, corroborando os achados de Maia *et al.* (2003a), contudo diferindo dos resultados relatados por Maia *et al.* (2002) em 113 dias de avaliação do cultivo de *L. vannamei* do Estado do Ceará e dos níveis observados por Martins (2003), em três ciclos de estudos realizados no Estado do Ceará, entre setembro de 2001 a abril de 2002.

A elevada amplitude de variação sazonal registrada no presente estudo e aquela relatada por *Mora et al.* (2003) devem-se ao declínio de temperatura da água constatado anualmente nos meses de abril a setembro, em decorrência do decréscimo observado para temperatura ambiente na região estudada.

4.1.1.2 – Salinidade

Do mesmo modo que a temperatura, a salinidade foi expressa em valores médios semanais tanto para os viveiros testes como para os viveiros controle foi mais baixa na semana 1 (15,0 ‰), enquanto que os valores mais altos (30,7 e 29,1‰) foram registrados no final do experimento, na semana 15 e 17, respectivamente, para os viveiros controle e teste. A salinidade nos viveiros teste foi de $21,1 \pm 4,04$ e $22,0 \pm 4,36$ ‰ nos viveiros controle (Figura 6).

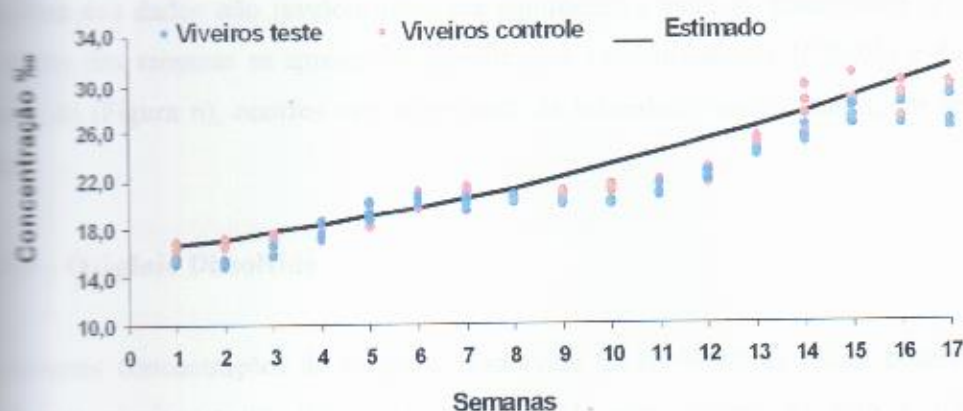


Figura 6- Variação média semanal da salinidade medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

A salinidade teve um comportamento sazonal inverso à temperatura e do mesmo modo que esta apresentou uma alta amplitude de variação.

Segundo Martins (2003), a Região Nordeste apresenta períodos de chuvas e períodos secos bastante diferenciados e como consequência, a salinidade da água dos estuários da região tem uma grande variação entre esses dois períodos.

Embora se tratando de um sistema fechado, não sofrendo, portanto, a influência marcante e direta das variações do estuário, a salinidade nos dois tratamentos apresentou uma grande amplitude de variação. Entretanto, a oscilação sazonal detectada neste estudo foi inferior à mencionada por Martins (2003) e Maia *et al.* (2002) e, superior à relatada por Maia *et al.* (2003a). Embora essa variação similar, nos viveiros teste e controle, pode-se considerar que a salinidade atuou como fator limitante do desempenho entre os dois tratamentos.

Segundo Bray *et al.* (1994), a influência da salinidade sobre o processo de crescimento dos camarões pode ser de natureza ecológica, na produção quali-quantitativa de alimentos naturais; de ordem fisiológica, nos mecanismos de osmorregulação, e ainda, de natureza nutricional influenciando o processo de assimilação de nutrientes. Assim sendo, dada a influência direta da mudança dessa variável sobre o processo de osmorregulação dos camarões, e conseqüentemente, sobre o seu balanço energético, supõe-se que o incremento da salinidade, por si, e aliado ao aumento da temperatura, influenciaram a redução temporal, constatada na taxa de crescimento dos camarões nos dois tratamentos.

A análise dos dados não revelou diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,01$) e quanto ao efeito das semanas se apresentou significativo estatisticamente ($P < 0,01$) e de acordo com a curva da (Figura 6), ocorreu um incremento de salinidade com o tempo, em ambos os tratamentos.

4.1.1.3 - Oxigênio Dissolvido

As menores concentrações de oxigênio dissolvido às 05:00 horas foram observadas na semana 15 nos viveiros teste, VE - 11 e VE - 21, com valores de 1,46 e 1,94 ppm, respectivamente. Para os viveiros controle, os menores valores (1,92 ppm) foram registrados no VE-10 e no VE-23, nas semanas 15 e 8, respectivamente. As variações médias observadas nos viveiros controle foram: 1,92 a 4,61 com uma média geral de $2,82 \pm 0,69$ ppm, ao passo que, nos viveiros testes ocorreram flutuações médias de 1,46 a 4,30 com uma média geral de $2,87 \pm 0,66$ ppm (Figura 7).

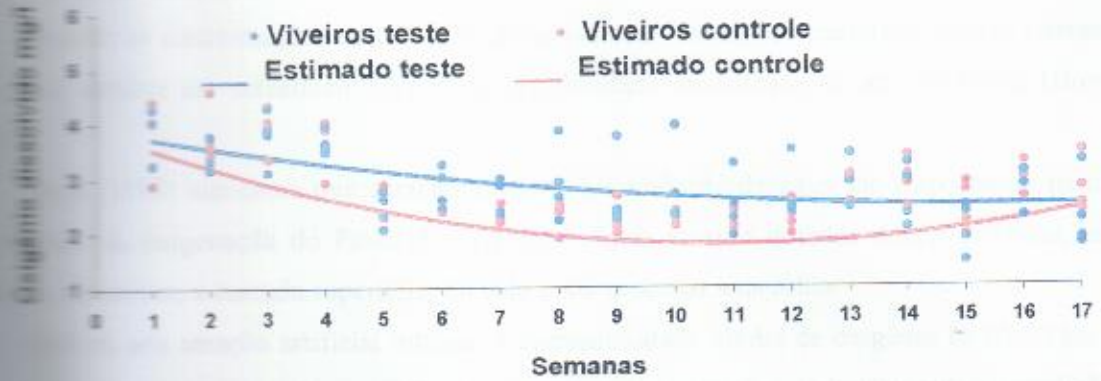


Figura 7 - Variação média semanal do oxigênio dissolvido medido às 05:00 horas nos viveiros teste e controle.

Nos viveiros testes, foram observadas para o oxigênio dissolvido das 15:00 horas, variações médias semanais de 7,0 a 13,0 ppm, com uma média geral de $9,14 \pm 0,75$ ppm. Nos viveiros controle, a média geral foi $9,08 \pm 0,83$ ppm, com limites entre 7,7 e 10,8 ppm (Figura 8).

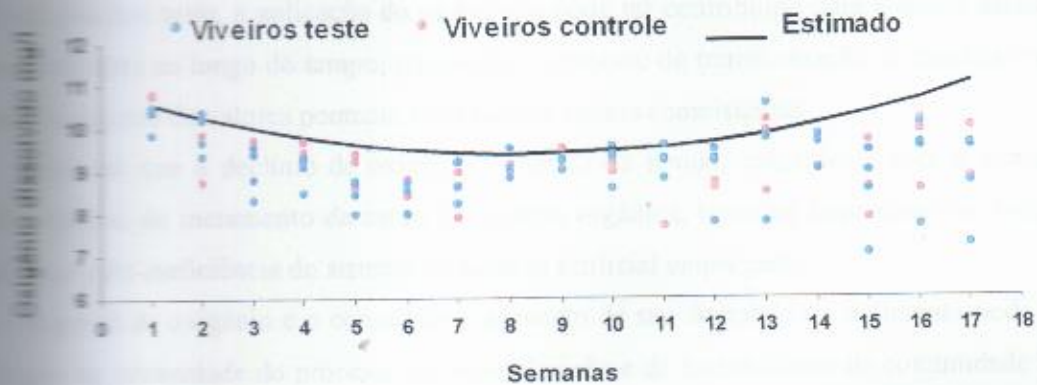


Figura 8 - Variação média semanal do oxigênio dissolvido medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

De acordo com Boyd (1989), concentrações de oxigênio dissolvido em torno de 5 ppm são consideradas adequadas para o cultivo de camarões marinhos, com bons resultados em

desenvolvimento e conversão alimentar. No entanto, para Rocha & Maia (1998), a espécie *L. vannamei* desenvolve bem, em concentrações de oxigênio dissolvido superiores a 3 ppm.

Quando as concentrações de oxigênio dissolvido são baixas, os camarões sofrem estresse, o que pode resultar em crescimento lento, susceptibilidade às doenças ou até em morte (Boyd, 2002).

Boyd (1998) menciona que aeração artificial e circulação de água são importantes para o aumento da oxigenação do fundo dos viveiros e que, mesmo dotados desses sistemas, nos cultivos intensivos, a camada superficial do solo pode se tornar anaeróbia.

Embora sob aeração artificial intensa, a disponibilidade média de oxigênio às 05:00 horas nos viveiros monitorados, esteve sempre abaixo de 3 ppm para os dois tratamentos e, condições de anoxia e depleções pontuais ocorreram, registrando-se com maior frequência nos viveiros teste. Tais reduções coincidiram com os maiores incrementos pontuais da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e podem estar relacionadas ao aumento das doses do probiótico nas semanas 5 a 7, mais provável e conseqüente, incremento da taxa de decomposição aeróbia da matéria orgânica. Flutuações pontuais foram verificadas nesses ecossistemas na semana 7, como conseqüência possível de tais interações.

A Figura 7 mostra que mesmo apresentando dados semelhantes no início do estudo, o oxigênio dissolvido das 05:00 horas teve um declínio temporal nos dois tratamentos. Acredita-se que nos viveiros teste, a aplicação do probiótico pode ter contribuído para a maior estabilidade desse parâmetro ao longo do tempo, regulando o processo de transformação da matéria orgânica, resultando no registro de valores pontuais mais baixos, nesses ecossistemas.

Supõe-se que o declínio de oxigênio ao longo do tempo, coincidente com o aumento da DBO, resultou do incremento da carga de matéria orgânica, tanto na água como no sedimento, bem como pela ineficiência do sistema de aeração artificial empregado.

A queda de oxigênio e o conseqüente aumento de sua demanda no sedimento pode ser um indicador da intensidade do processo de mineralização e do metabolismo da comunidade bêntica (Sommelech & Ritvo, 2003).

De acordo com a curva da Figura 8, o oxigênio dissolvido das 15:00 horas, mesmo apresentando valores pontuais mais baixos nos viveiros teste, mostrou um comportamento semelhante nos dois tratamentos, ocorrendo um decréscimo dos valores nas semanas 1 e de 6 a 7, com uma recuperação ao final do ciclo.

O período do declínio de oxigênio observado coincide com a época de maior incremento do aporte nos viveiros, de alimento artificial rico em proteínas, devido ao crescimento do consumo médio individual dos camarões, em consequência do aumento da biomassa, acarretando em contrapartida, a elevação da carga de matéria orgânica.

A análise estatística dos dados não revelou diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,01$) em ambos os horários monitorados. Entretanto, para o oxigênio dissolvido às 05:00 horas, as interações: semana*tratamento e semana*semana*tratamento foram significativamente diferentes ($P < 0,01$).

4.1.1.4 – Potencial Hidrogeniônico (pH)

Em média, o potencial hidrogeniônico variou de 7,60 a 8,40 nos viveiros testes com uma média geral de $7,92 \pm 0,21$. Nos viveiros controles ocorreram oscilações médias semanais de 7,40 a 8,50 com uma média geral de $8,04 \pm 0,25$. Para ambos os tratamentos, houve um declínio de pH entre as semanas 1 e 14 e de forma bem mais acentuada nos viveiros controle (Figura 9).

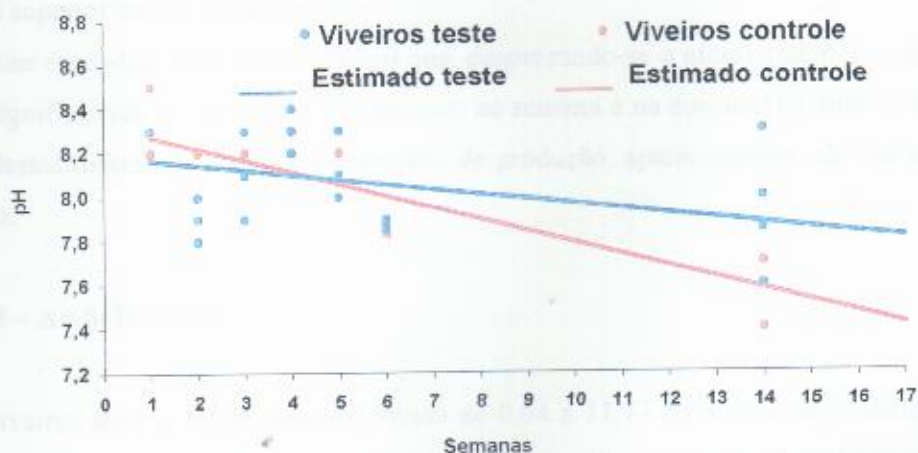


Figura 9 - Variação média semanal do pH medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

O pH mais elevado nos viveiros teste sugere uma maior absorção do dióxido de carbono no tratamento do que no controle e, conseqüentemente, que uma taxa de fotossíntese e de fixação de carbono mais alta deve ter ocorrido. Esta suposição leva em consideração que a disponibilidade

elementos como nitrato e fosfato foram ligeiramente, inferiores, especialmente em variação, registrando um consumo mais acentuado pelo fitoplâncton nesses ecossistemas. Entretanto, o aumento esperado da produtividade primária, não ocorreu.

Por outro lado, o maior declínio de pH nos viveiros controle sugere uma maior ação de atividade heterotrófica mais intensa, uma vez que os organismos heterotróficos interferem sobre o pH da água, em geral, promovendo o seu declínio. Essa situação ocorre devido aos processos de respiração e de decomposição, através dos quais, acontece a liberação de dióxido de carbono e ions de hidrogênio. E embora os organismos nitrificantes também absorvam o dióxido de carbono, esse processo não é capaz de promover uma significativa elevação do pH (Bratvold & Hansen, 2001) porque ions de hidrogênio são também produzidos durante a nitrificação (Hindrichsen & Kemp, 1988).

Situação de natureza mais heterotrófica supostamente ocorrida nos viveiros controle pode estimular a produção de microrganismos mineralizadores, naturalmente presentes no meio, pelo uso do melão como fonte de carbono, igualmente efetuado nos dois tratamentos a partir da semana 6. Contudo, o domínio de bactérias heterotróficas aeróbias não foi evidenciado nos viveiros, por ocasião das análises microbiológicas, apesar ter sido registrado um número aparentemente superior na sua água de fundo.

Análise estatística dos dados mostrou que, desprezando-se o efeito quadrático, ocorreram diferenças significativas entre os dois tratamentos, na semana e na semana*tratamento ($P < 0,01$). Diferenças menos diferenças sobre os parâmetros de produção, aparentemente não influenciaram os resultados.

4.1.5 - Amônia Total

Nos viveiros teste a média semanal variou de 0,04 a 11,57 ppm com uma média geral de $4,09 \pm 3,27$. Para os viveiros controle, a média geral foi $4,09 \pm 3,27$ superior aos viveiros teste apresentando flutuações entre 0,14 e 13,43 ppm. Valores superiores a 7,0 ppm, foram constatados com frequência, nos viveiros controle. Nos viveiros teste, um valor mais elevado (11,57 ppm) foi registrado VE-02, na semana 7 (Figura 10).

A amônia ocorre na água como um subproduto do metabolismo dos animais ou através da decomposição da matéria orgânica pelas bactérias. Com o aumento da sua concentração, a

ocorrência pelos camarões diminui e os níveis de amônia na hemolinfa e nos tecidos aumentam, elevando o pH da hemolinfa, com efeitos adversos sobre a estabilidade das membranas e sobre as reações de catalização de enzimas (Boyd, 1989).

A combinação entre maior ocorrência de picos de amônia e media geral mais alta, níveis mais elevados de fosfato e maior declínio de pH nos viveiros controle, sugere uma atividade fitoplanctônica mais baixa nesses ambientes, apesar da semelhança entre os tratamentos, no que diz respeito à densidade do fitoplâncton.

De acordo com Caron & Goldman (1988), taxas de respiração elevadas na água de fundo são altamente correlacionadas com taxas mais altas de reciclagem de nutrientes. Assim sendo, a menor estabilidade e disponibilidade de oxigênio dissolvido até o penúltimo mês do estudo e a presença aparentemente superior de bactérias heterotróficas, na água de fundo nos viveiros controle, sugerem que um processo respiratório e de transformação de matéria orgânica, mais intensos pode ter ocorrido nesses ambientes, com uma maior produção de amônia.

Por outro lado, supõe-se que a presença menos acentuada e o registro da ocorrência limitada de picos de amônia nos viveiros teste podem ser devido à maior estabilidade desses ambientes, resultante da aplicação do probiótico desde a semana 1. De acordo com Boyd & Massaut (1999), espera-se que seu uso atue na estabilidade da oferta de nutrientes, sobre o melhor desenvolvimento da comunidade algal, no aumento da disponibilidade de oxigênio dissolvido e redução de amônia.

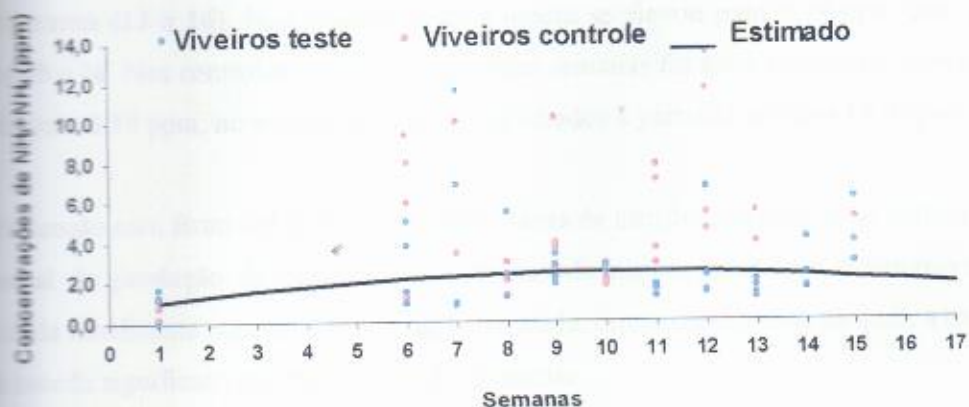


Figura 10 - Variação média semanal da amônia total medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

A amônia não ionizada é a forma tóxica do composto e concentrações de amônia total acima de 3,0 ou 4,0 ppm, quando combinadas com pH acima de 8,5 ou 9,0, podem resultar em mortalidade para organismos aquáticos de águas tropicais (Boyd, 2002). Embora o pH da água, em média nos dois tratamentos, não tenha alcançado os limites estabelecidos por este autor, sabe-se que as interações entre os picos de amônia e as depleções de oxigênio dissolvido influenciaram o desenvolvimento dos animais cultivados, no entanto, de forma similar entre os tratamentos.

No tocante à taxa de sobrevivência dos animais, supõe-se que o pico de (11,57 ppm) registrado na semana 7 associado aos valores mais altos do pH nos viveiros teste, ocasionaram a mortalidade verificada no VE-02, fato que provavelmente se repetiu com a associação deste elemento a picos de nitrito e depleção de oxigênio na semana 15, nos viveiros VE-11 e VE-21.

A análise estatística dos dados não revelou diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$) e apenas os efeitos: semana e semana*semana, foram estatisticamente significativos ($P < 0,05$).

4.3.1.6 – Nitrito

A variação média semanal de nitrito, nos viveiros teste foi de 0,06 a 1,59 ppm com uma média geral de $0,58 \pm 0,38$ ppm. Nos viveiros controle a média geral foi de $0,61 \pm 0,48$ com uma variação de 0,06 a 1,94 ppm. Os valores mais altos dessa variável foram observados nas últimas quatro semanas (13 a 16). Nos viveiros teste a média se elevou para 0,79 ppm com picos nas semanas 15 e 16. Nos controles, o incremento nestas semanas foi mais acentuado, com o aumento da média para 1,19 ppm, no entanto com picos registrados a partir da semana 14 (Figura 11).

De acordo com Bratvold & Browdy (2001) taxas de nitrificação mais altas podem aumentar o potencial de produção de concentrações tóxicas de nitrito, quando o desenvolvimento da comunidade nitrificante ocorre de forma desbalanceada, circunstância essa na qual, a oxidação da amônia excede significativamente a oxidação do nitrito.

Neste estudo, embora as concentrações de amônia tenham alcançado valores altos, especialmente nos viveiros controle, os níveis de nitrito, embora mais elevados nesses ambientes, especialmente no final do ciclo, não atingiram níveis tóxicos. Apesar da condição de toxicidade

não ter ocorrido, o incremento das concentrações dessa variável nos viveiros controle, de forma bem mais acentuada do que nos viveiros teste, sinalizava nessa direção.

Os valores registrados ao final deste estudo começaram a sofrer um incremento, atingindo níveis muito superiores aos citados por Maia *et al.* (2002), que registrou valores de nitrito de 0,1 a 0,28 ppm, em um cultivo super intensivo do camarão, *L. vannamei* com baixa renovação de água. Porém, foram próximos dos valores de 1,5 a 2,3 ppm relatados por Bratvold & Browdy (2005) para cultivos intensivos de *L. vannamei* em sistemas fechados.

Tais incrementos, geralmente indicam que o equilíbrio da comunidade de bactérias nitrificantes de amônia e de nitrito está sofrendo alterações e ou a capacidade de carga do ambiente, supostamente se aproximava do limite de sustentabilidade, devido ao acúmulo de sedimentos orgânicos (Avnimelech & Ritvo, 2003), tornando-se necessária a recirculação da água.

Especialmente durante os picos observados nos viveiros teste na semana 15, coincidentes com suas maiores depleções de oxigênio dissolvido e elevações de amônia, mortalidades foram registradas nas unidades VE-11 e VE-21. Segundo Colt & Armstrong (1981), os efeitos tóxicos da amônia e do nitrito são mais agressivos quando atuam sinergicamente e em condições de baixos níveis de oxigênio dissolvido.

Nos viveiros controle, mesmo apresentando picos de nitrito e valores de amônia superiores aos meios testes no mesmo período, não ocorreram mortalidades, provavelmente devido às suas mais elevadas concentrações de oxigênio dissolvido e valores de pH mais baixos.

Diante do observado, pode-se presumir que o nitrito teve influência sobre o desenvolvimento e a sobrevivência dos animais cultivados e conseqüentemente, sobre produção, produtividade e conversão alimentar.

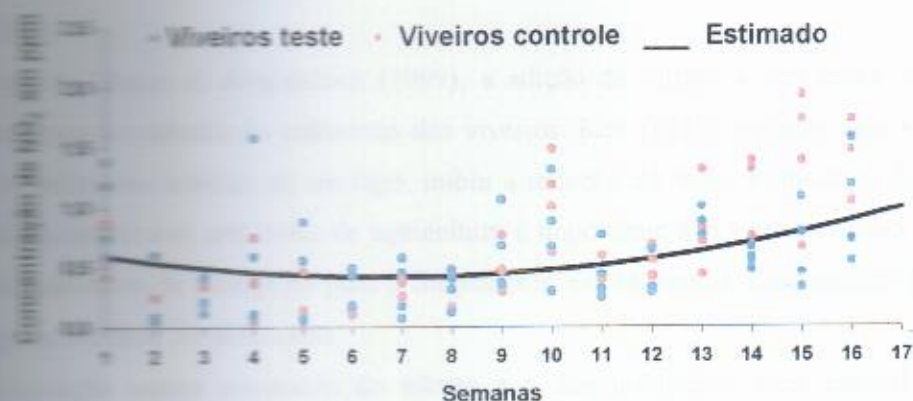


Figura 11 - Variação média semanal do nitrito medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

As análises estatísticas não revelaram diferenças significativas ($P > 0,01$) entre os tratamentos, demonstrando que apenas o efeito da semana se apresentou estatisticamente significativo ($P < 0,01$).

4.2.2.7 - Nitrato

O valor médio do nitrato foi praticamente idêntico nos viveiros teste ($1,79 \pm 0,98$ ppm) e controle ($1,71 \pm 1,12$ ppm). Entretanto, a variação registrada nos primeiros (0,40 a 4,87 ppm) foi menor do que nos viveiros controle (0,13 a 7,44 ppm), observando-se que de uma forma geral, a variabilidade desse nutriente foi ligeiramente maior e com picos mais acentuados nos viveiros controle. A Figura 12 sugere uma suposta tendência de redução dos níveis, em ambos os tratamentos, no final do estudo, ocorrendo uma elevação a partir da semana 13.

O nitrato é o produto final da oxidação da amônia (Vinatea, 1997) e de acordo com Boyd (2002), as concentrações desse nutriente nos viveiros são bem menores do que as concentrações de nitrogênio amoniacal. O autor menciona ainda, que o processo de nitrificação ocorre na água dos viveiros, mas que boa parte do nitrato é denitrificado no sedimento.

Nitrato é um oxidante moderado e diferente dos oxidantes convencionais, não reage com matéria orgânica em suspensão, não sendo, portanto, tóxico aos camarões (Avnimelech & Noya, 2005).

Segundo Meijer & Avnimelech (1999), a adição de nitrato a ambientes de aquicultura contribui para a oxidação do sedimento dos viveiros. Ripl (1976) registrou que a aplicação de nitrato ao sedimento anóxico de um lago, inibiu a redução do ferro. Portanto, a disponibilidade regular de nitrato nos ambientes de aquicultura é importante não somente como a forma mais completa da oferta de nitrogênio para o fitoplâncton e o fitobentos, mas também pela sua ação como agente oxidante no sedimento.

A variação menos acentuada do nitrato e a disponibilidade mais estável do oxigênio dissolvido, às 05:00 e 15:00 horas nos viveiros teste, sugerem uma maior densidade da comunidade algal nesses ambientes, e embora o comportamento do fitoplâncton tenha sido semelhante nos dois tratamentos, esse pressuposto pode estar relacionado à presença mais expressiva do fitobentos, não analisado neste estudo.

A disponibilidade mais regular desse nutriente nos viveiros teste, sugere que uma interação mais próxima entre as comunidades bacterianas, ministradas como probiótico e autóctones e as comunidades algais pode ter ocorrido e que, ao final do experimento, essa relação pode ter sido alterada, resultando na ruptura desse equilíbrio e no incremento da disponibilidade do nitrato, também nos viveiros teste.

Mediante a avaliação dos resultados, pode-se supor, que a disponibilidade de nitrato nas unidades teste e controle não se apresentou como fator limitante do cultivo de *L. vannamei*, não exercendo influência sensível sobre os parâmetros de produção em ambos os tratamentos.

A análise estatística dos dados mostrou uma similaridade entre os dois tratamentos ($P > 0,01$) e que apenas o efeito da semana foi estatisticamente significativo ($P < 0,01$) – (Figura 12).

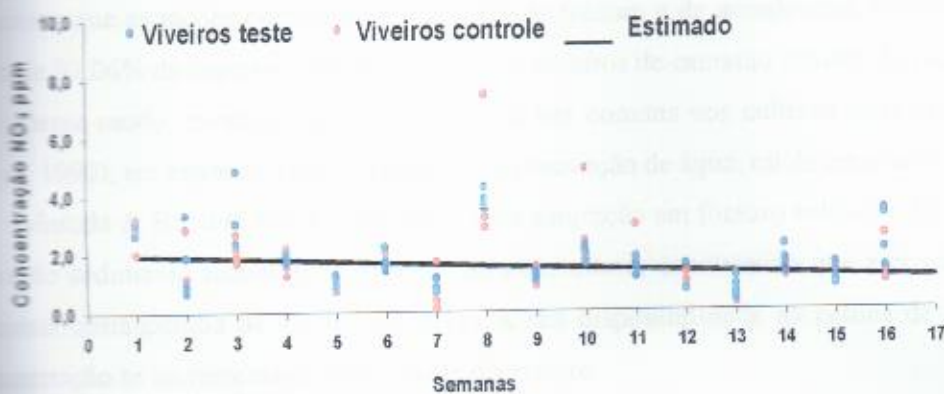


Figura 12 - Variação média semanal do Nitrato medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

4.1.1.8 – Fósforo

Os níveis desse nutriente foram ligeiramente mais elevados nos viveiros controle, cuja média geral foi $1,67 \pm 1,68$ ppm e a variação de 0,15 a 2,32 ppm. Nos viveiros teste, o valor médio encontrado foi de $0,79 \pm 0,41$ ppm e a variação da disponibilidade foi menor, ficando entre 0,08 e 2,11 ppm (Figura 13).

O fósforo pode se apresentar em solução, sob a forma de partículas e detritos e juntamente com o nitrogênio são nutrientes essenciais para o desenvolvimento das comunidades algais, sendo do mesmo modo, os principais causadores de eutrofização dos corpos de água.

De acordo com Ritvo *et al.* (1999), baixas concentrações de fósforo em águas naturais tendem a limitar a produção de fitoplâncton e conseqüentemente, a produção pesqueira.

Sivakami (1988) testando o crescimento do camarão *Penaeus indicus* em pequenas unidades experimentais, constatou que o emprego de uma dosagem mais elevada de um fertilizante fosfatado ofereceu melhores resultados, quando comparado às unidades controle.

Binh *et al.* (1977) encontraram uma associação positiva entre a produção de camarão e a concentração de fósforo dissolvido na água, em um sistema integrado de produção de camarão e o manguezal.

em viveiros intensivos, o maior ingresso de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, vem principalmente da oferta de alimentos artificiais (Boyd, 1989; Wang, 1990). Chiu (1988) observou que as rações contêm de 1,0 a 1,5% de fósforo e de acordo com Stapornvanit (1993), cerca de 9,38% do ingresso total de fósforo em viveiros de camarão provém da ração.

Dessa maneira, níveis crescentes de fósforo são comuns nos cultivos intensivos de camarão (Boyd, 1990), em especial naqueles com baixa renovação de água, ou de renovação nula.

Wang & Boyd (1994a) observaram uma saturação em fósforo solúvel reativo na água dos viveiros de aquicultura, constatando que a concentração desse nutriente correspondia de 4,5 a 14,0 vezes, a sua disponibilidade na coluna de água e que tal concentração se incrementava com a idade do viveiro.

De acordo com Hargreaves & Tucker (1996), nas camadas anaeróbicas reduzidas dos solos, a concentração de fósforo solúvel na água dos poros, é derivada do chamado "fósforo reductor" absorvido sob a forma de géis amorfos de óxidos e hidróxidos férricos ou como fósforo adsorvido em camadas de óxido férrico, envolvendo partículas de silte ou argila. Segundo estes autores, sob condições de redução, o ferro férrico é reduzido a ferro ferroso solúvel e o fósforo adsorvido é solubilizado. Deste modo, a existência de uma superfície oxidada no sedimento funciona como uma barreira para a difusão de substâncias reduzidas para a coluna de água. No sedimento, na ausência de uma camada superficial oxidada, o fósforo reativo solúvel mobiliza-se, em resposta ao gradiente de concentração entre a água dos poros e a coluna de água.

Wang & Boyd (1994b), avaliando os efeitos da aeração mecânica sobre a química do fósforo, encontraram que a concentração do fósforo reativo solúvel na água dos viveiros sem aeração mecânica era maior do que nos viveiros aerados.

Um dos principais inibidores do fosfato na água dos viveiros é a adição de carbonato de cálcio. Segundo Hopher (1958), o fosfato desaparece rapidamente da coluna de água depois da adição desse alcalinizante.

O uso de calcário como floculante tem sido amplamente difundido na carcinicultura, principalmente com o objetivo de precipitar e reduzir a carga de matéria orgânica da água (Wang, 1995). Entretanto, mediante tal procedimento o fósforo pode ser floculado e precipitado, penetrando no sedimento dos viveiros e promovendo o enriquecimento de seus nutrientes orgânicos.

Wassili & Boyd (1994a) relatam que o complexo de fósforo solúvel na água intersticial do sedimento está diretamente relacionado à quantidade total de fósforo no sedimento.

Neste estudo, nos viveiros de aquicultura, o fósforo remanescente no sedimento pode contribuir para o aumento da disponibilidade de seus compostos solúveis na água intersticial, que migra a partir da camada superficial desse sedimento e em função do gradiente de concentração entre a coluna de água e a água intersticial, pode funcionar como fonte de fósforo solúvel para a água de cultivo.

De acordo com a idade dos viveiros usados neste estudo e das baixas disponibilidades de nutrientes dissolvidos constatados na água de fundo, é provável que além da contribuição do alimento artificial, a água intersticial do sedimento também contribuiu com o aporte de fósforo. Nos viveiros teste como nos controles, especialmente durante as primeiras semanas, quando as concentrações desse nutriente na coluna de água foram mais baixas. A Figura 13 mostra que os níveis desse nutriente aumentaram com o tempo de cultivo, em ambos os tratamentos.

As concentrações de fosfato neste estudo foram bastante superiores às citadas por Boyd (1994) como adequadas para viveiros de aquicultura (0,3 ppm); aos limites máximos observados por Gilliam *et al.* (2002), no cultivo intensivo de *L. vannamei* com baixa renovação de água (0,44 a 0,90 ppm), e semelhante aos valores obtidos por Maia *et al.* (2003a) para a água de drenagem dos viveiros de camarão em sistema semi fechado (0,21 a 2,2 ppm).

O aumento da carga orgânica em função, principalmente do aporte de alimentos artificiais e como resultado do metabolismo da biomassa de camarões em crescimento, pode ser responsável pelo aumento do fósforo, ao longo do tempo. Os resultados obtidos permitem supor que as concentrações de fosfato não influenciaram diretamente o desenvolvimento de *L. vannamei*, não afetando, portanto, sobre os dados de produção e rendimento dos cultivos em ambos os tratamentos. A análise estatística dos dados mostrou que estes foram semelhantes em ambos os tratamentos ($P > 0,01$) – (Figura 13).

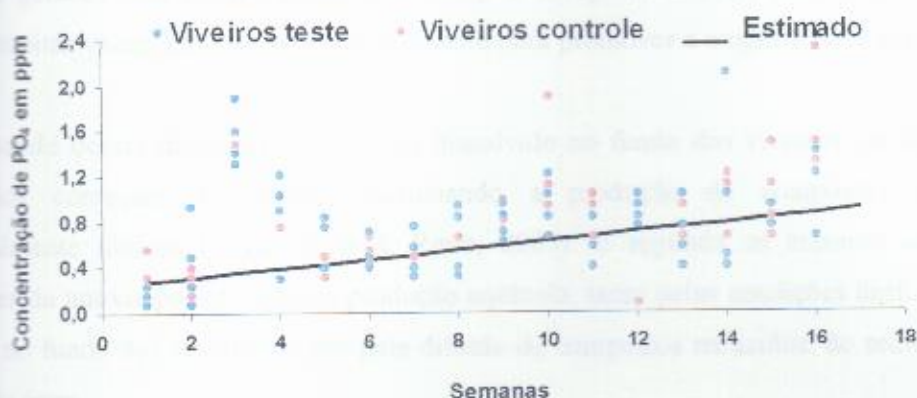


Figura 13 - Variação média semanal do fosfato medido às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

4.1.1.9 - Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

O comportamento desse parâmetro foi praticamente semelhante nos dois tratamentos com valores ligeiramente mais altos nos viveiros teste. A média geral nos viveiros teste foi de $19,78 \pm 6,54$ ppm e de $17,64 \pm 6,56$ ppm nos controles. A variação da DBO também foi um pouco maior nos viveiros teste, indo de 9,50 a 36,00 ppm, enquanto que nos controles esteve entre 5,80 e 31,70 ppm.

A Figura 14 mostra um incremento de valores entre as semanas 4 e 10 para ambos os tratamentos, com a observação de picos na semana 6. Este incremento teve continuidade até a semana 14 nos viveiros teste, quando ocorrem os dos maiores picos. Para os viveiros controle, foi registrado um decréscimo nos valores da DBO, a partir da semana 12 e continuou até a última semana monitorada.

A demanda bioquímica de oxigênio é um indicador da intensidade do processo de mineralização e do metabolismo das comunidades vivas nos viveiros e, de modo inverso à disponibilidade de oxigênio dissolvido, a DBO é sempre mais alta na região bêntica, ao passo que, a produtividade primária tem lugar nas camadas mais superficiais, onde as algas produzem mais oxigênio durante o dia, promovendo seu enriquecimento.

A transferência de oxigênio dissolvido para a zona bêntica pode ser feita através das correntes geradas pelo vento e principalmente, pela aeração mecânica, caso do presente estudo, porém muitas vezes, em quantidade insuficiente para promover a oxigenação requerida por essa região.

Quando ocorre depleção de oxigênio dissolvido no fundo dos viveiros, muitos processos microbianos começam a ocorrer, ocasionando a produção de compostos reduzidos e especialmente tóxicos (Avnimelech & Ritvo, 2003). E segundo os mesmos autores, essas condições de anoxia podem afetar a produção aquícola, tanto pelas condições desfavoráveis aos organismos no fundo dos viveiros, como pela difusão de compostos reduzidos, do sedimento para a coluna de água.

O comportamento da DBO, com valores mais elevados nos viveiros teste, indica que o processo de mineralização e de metabolismo das comunidades vivas nesses meios foram mais intensos do que nos viveiros controle, sugerindo que nos primeiros, pode ter ocorrido uma maior eficiência por parte dos microrganismos, devido ao uso do probiótico.

Os resultados mostram uma relação entre a ocorrência dos picos da DBO e de depleções de oxigênio dissolvido, especialmente nos viveiros teste, onde o pico da semana 4 sucedeu a queda de oxigênio da semana 5 e o pico da semana 14 antecedeu a queda de oxigênio na semana 15, quando mortalidades foram constatadas nessas unidades experimentais.

Apesar da pequena diferença de comportamento entre os tratamentos, nesse parâmetro no final do experimento, verificou-se que tanto os picos, como as médias da DBO, foram praticamente semelhantes, com valores ligeiramente superiores nos viveiros teste e acima do considerado como ideal para água de viveiros de aquíicultura, ou sejam ≤ 30 ppm relatados por Reed (2000).

A associação dos picos desse parâmetro às quedas de oxigênio dissolvido e aos elevados valores de nitrito e amônia, de forma praticamente simultânea, certamente influenciou o desenvolvimento, a sobrevivência e consequentemente, os parâmetros de produtividade dos sistemas estudados, especialmente no tratamento com probiótico, onde os efeitos negativos foram mais evidenciados.

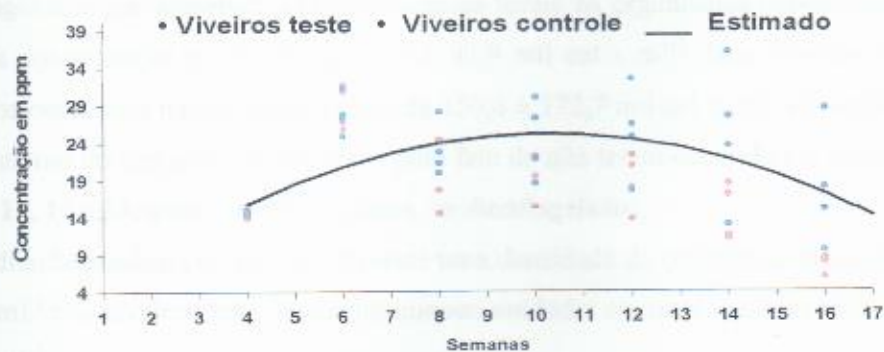


Figura 14 - Variação da demanda bioquímica de oxigênio medida às 15:00 horas nos viveiros teste e controle.

A análise estatística dos dados de DBO mostrou a inexistência de diferença ($P > 0,01$) entre os tratamentos e que somente o efeito da semana se apresentou estatisticamente significativo ($P < 0,01$).

4.2 – Variáveis Biológicas de Qualidade de Água

4.2.1 – Fitoplâncton

Os dados das análises de fitoplâncton, expressando as variações médias semanais das densidades de diatomáceas e clorofíceas encontram-se na Tabela 7, ao passo que os dados referentes às cianofíceas e aos dinoflagelados são mostrados na Tabela 8.

As diatomáceas dominaram apenas nas semanas 1 e 2, quando ocorreram em concentrações semelhantes, em ambos os tratamentos. Nos viveiros teste, sua densidade de ocorrência média foi de $43,0 \pm 35,8$ mil cel \times ml⁻¹, enquanto que nos controles foi registrada uma concentração média de $43,4 \pm 25,7$ mil cel \times ml⁻¹.

O grupo das clorofíceas não registrou qualquer predominância temporal nos viveiros testes ou de controle, durante todo o estudo. Nos primeiros, a densidade populacional média foi de $48,2 \pm 66,6$ mil cel \times ml⁻¹, ao passo que nos viveiros controle, uma concentração populacional média de $81,0 \pm 112,2$ mil cel \times ml⁻¹ foi obtida.

À exceção das duas primeiras semanas do domínio de diatomáceas e da semana 10, quando os dinoflagelados prevaleceram, as cianobactérias foram os organismos prevalentes nos viveiros teste, cuja concentração média foi de $95,7 \pm 93,9$ mil cel x ml⁻¹. Nos viveiros controle, esses organismos ocorreram na densidade média de $150,6 \pm 172,7$ mil cel x ml⁻¹ e tiveram um domínio temporal menor do que nos viveiros teste, pelo fato de não terem ocorrido em maior número, nas semanas 11, 12 e 13, quando predominaram os dinoflagelados.

Os dinoflagelados, por sua vez, tiveram uma densidade de ocorrência média de $19,0 \pm 18,9$ mil cel x ml⁻¹ nos viveiros teste, enquanto que nas unidades controle, correspondeu a $42,5 \pm 39,2$ mil cel x ml⁻¹.

Em valores absolutos e percentuais, e de conformidade com o expresso nas Figuras 18 e 19, as cianobactérias foram os organismos mais abundantes da comunidade fitoplanctônica, cuja participação percentual, em ambos os tratamentos, foi de 47%. As clorofíceas, por seu turno, ocuparam o segundo lugar em abundância, com uma participação percentual de 23% nos viveiros teste e 26% nas unidades controle. O terceiro lugar nesse contexto foi ocupado pelas diatomáceas com uma participação percentual de 21 e 14%, para as unidades teste e controle, respectivamente.

As comunidades do fitoplâncton são componentes essenciais da maioria dos sistemas de produção em aquicultura e a produção primária pelo fitoplâncton é a base da cadeia alimentar nos viveiros de cultivo, que dependem da produção de alimento natural, para dar suporte à produção de peixes e camarões (Paerl & Tucker, 1995).

De acordo com Maia *et al.* (2003b), o acompanhamento da evolução da comunidade planctônica constitui-se um fator determinante para a identificação de possíveis problemas como baixas taxas de crescimento e de sobrevivência e proliferação excessiva de organismos prejudiciais ao cultivo de *L. vannamei*, como cianofíceas e dinoflagelados.

A produção de diatomáceas tem grande importância no embasamento do processo de engorda de camarões marinhos. Olivera (2002) relata que dentre as espécies de microalgas, as diatomáceas são as mais empregadas no cultivo larval de camarão marinho devido à sua riqueza em nutrientes, principalmente ácidos graxos poli-insaturados e esteróis.

Maia *et al.* (2003b) sugerem que o domínio inicial e a prevalência de Bacillariophyceae, no cultivo superintensivo de *L. vannamei*, comparado à prevalência inicial de outros organismos fitoplanctônicos, proporcionou a obtenção de uma taxa de sobrevivência muito superior e equivalente a 94%. Dessa forma, a produção em massa de diatomáceas foi objetivada, não

mente para o domínio nas primeiras semanas, mas no decorrer de todo o experimento. Assim sendo, a prevalência inicial, certamente resultou do processo de fertilização executado, que manteve a relação N:P (nitrogênio/fósforo) em massa, de 20:1 de acordo com o sugerido por Maia (1995) e que segundo Fabregas *et al.* (1996), corresponde aos requerimentos das microalgas marinhas.

Supõe-se que o domínio inicial de diatomáceas, obtido durante a presente pesquisa, proporcionou o suporte alimentar adequado ao zooplâncton (Copepoda e Rotifera) e foi responsável pelo maior nível de ocorrência destes organismos registrado no final da semana 1 e de forma associada ao florescimento dessa comunidade, garantiu o suporte alimentar inicial e adequado aos juvenis de *L. vannamei* cultivados.

De acordo com Olivera (2002), as clorofíceas são, como as diatomáceas, nutritivas e ricas em ácidos graxos e esteróis, sendo o segundo grupo de microalgas, mais empregado na alimentação de camarões marinhos, a exemplo do gênero *Tetraselmis*. Essa comunidade de microalgas, embora não predominante, a partir da semana 3, representou de forma associada às diatomáceas, 44 e 40 % da comunidade fitoplanctônica presente nos viveiros teste e controle, respectivamente (Figuras 15 e 16).

Smith (1983) observou que cianobactérias foram raras ou ausentes, quando a relação em massa N:P foi superior a 29.

As concentrações elevadas de fosfato nas semanas 2 e 3 em ambos os tratamentos, foram certamente, fatores importantes para o florescimento de Cyanophyceae e a sucessão do domínio de Bacillariophyceae, dado ao fato de certos gêneros de cianobactérias terem a habilidade de fixarem nitrogênio da atmosfera, podendo dessa forma, usufruir da vantagem competitiva das baixas relações N : P (Paerl & Tuckey, 1995).

O domínio das cianobactérias ao longo do experimento, provavelmente se tornou possível, tanto pelo aumento da disponibilidade do fosfato com o tempo, como também pela disponibilidade de nutrientes como a amônia e o nitrato, reduzindo a razão nitrogênio:fósforo. Por outro lado, a capacidade de migração vertical e de flutuação comuns a certos grupos de cianobactérias para a absorção de luz, certamente possibilitou a esses microrganismos, condições de competição com grupos como as diatomáceas e as clorofíceas, sob condições variáveis de luminosidade e de regimes de nutrientes, de acordo com o mencionado por (Paerl & Tuckey, 1995). Além desses fatores, a tentativa de adoção do programa de recirculação nula, impediu a

aplicação de medidas de suporte à continuidade do domínio de Bacillariophyceae, como a recirculação de água e reajuste da relação N : P.

Smith (1991) afirma que a maioria dos problemas relacionados à qualidade de água em aquicultura resulta da produção e de manejos inadequados das comunidades fitoplanctônicas, tendo como resultado o domínio de cianobactérias, especialmente pelos gêneros formadores de florecimentos nocivos como: *Microcystis*, *Oscillatoria* e *Anabaena*. Segundo o mesmo autor, todas essas cianobactérias são relativamente pobres produtoras de oxigênio e podem gerar compostos tóxicos aos animais cultivados.

Embora apenas a ocorrência desses gêneros produtores de toxinas, tenha sido constatada neste estudo, as cianobactérias prevaleceram, admitindo-se que a ineficiência desse grupo fitoplanctônico na produção de oxigênio, deve ter contribuído para a queda da disponibilidade média, bem como para as depleções pontuais desta variável, constatados nos dois tratamentos.

De acordo com Hevia *et al.* (1999), depois das diatomáceas, os dinoflagelados são os organismos mais comuns do fitoplâncton marinho, ocorrendo em maior abundância em águas oceânicas e quentes e possuindo dois flagelos que facilitam sua mobilidade na coluna de água. Segundo o mesmo autor, esse grupo fitoplanctônico apresenta dois modos de nutrição: o mecanismo autotrófico pela fotossíntese e o heterotrófico, aproveitando o alimento produzido pelos autotróficos, através da incorporação de matéria orgânica, particulada ou dissolvida, podendo inclusive preda organismos como bactérias e protozoários.

Segundo Torgan (1989), as causas das florações e suas consequências no meio biótico e abiótico são pouco conhecidas.

Supõe-se que neste estudo, as florações e os domínios pontuais foram estimulados por diversos fatores que certamente, contribuíram de forma conjugada, dentre os quais merecem destaque: a ocorrência de gêneros, como *Ceratium* e *Noctiluca* durante todo o teste; a condição estática imposta pelo objetivo de renovação nula; o incremento da carga de matéria orgânica e de nutrientes fosfatados e nitrogenados; as vantagens competitivas desses microrganismos em relação aos outros grupos fitoplanctônicos presentes, especialmente no que se refere aos seus mecanismos de nutrição e às condições ambientais mais adversas, de elevada turbidez, incremento de salinidade e declínio de temperatura.

Os efeitos do domínio e das florações de dinoflagelados e outros organismos danosos sobre o cultivo de camarão marinho têm sido reportados em diversas regiões do mundo (Maclean,

1989; Haei-Meei *et al.*, 1993; Jiasheng *et al.*, 1993; Mingyuan & Jiasheng, 1993; Cortés Ramírez, 1994), citando-se como problemas decorrentes, eutrofizações; anoxias; queda da disponibilidade de oxigênio dissolvido; liberação de amônio; produção de capas limosas e obstrução das brânquias; reduções de taxas de crescimento e sobrevivência, além das mortalidades em massa.

Apesar dos gêneros identificados não produzirem toxinas, existem indicações de alterações de odor e de coloração da água, bem como da formação de espuma, obrigando ao acionamento contínuo da aeração artificial, para implementar a disponibilidade de oxigênio dissolvido e como meio de geração de correntes horizontais e de convecção, diminuindo as vantagens competitivas dessa comunidade dominante e minimizando a sua capacidade de multiplicação (Acleto & Zamora, 1998). De acordo com Paerl (1988), a implementação física dessa condição é considerada como um importante mecanismo na modelagem da competição dos componentes do fitoplâncton, com sua sucessão em curto prazo (diária) ou em longo prazo (sazonal ou interanual).

Dado ao valor nutritivo da Bacillariophyceae e Chlorophyceae e sua participação conjunta, similar e relativamente elevada no decorrer do experimento, em ambos os tratamentos, presume-se que essa biomassa alimentar natural, estimulou o crescimento e a sobrevivência de *L. vannamei* nos tratamentos, influenciando positivamente, os resultados em produção, produtividade e sanidade, de forma semelhante nas unidades testes e controle.

A prevalência das cianobactérias, equivalentes em ocorrência nos dois tratamentos, dado ao seu valor nutritivo e capacidade de produção de oxigênio, relativamente inferiores, certamente influenciou negativamente no crescimento, na sobrevivência, na sanidade e conseqüentemente nos parâmetros de produção e produtividade dos dois tratamentos.

Além dos domínios pontuais, os dinoflagelados ocorreram em concentrações elevadas, especialmente nos últimos dois meses do experimento, em ambos os tratamentos e, embora as mortalidades não tenham sido atribuídas exclusivamente a sua intervenção, supõe-se que a sua predominância, sempre em sucessão ao domínio de cianobactérias, influenciou o consumo e a produção de oxigênio dissolvido, estimulou a produção de espuma e alteração de cor e odor da água e contribuiu relativamente para o declínio de crescimento, afetando a taxa de sobrevivência e sanidade e, conseqüentemente, os parâmetros de produção e produtividade dos dois tratamentos.

A análise estatística dos dados do fitoplâncton mostrou uma semelhança ($P > 0,01$) entre os dois tratamentos, possibilitando a afirmação de que a aplicação do probiótico não interferiu significativamente sobre esse parâmetro biológico de qualidade de água.

TABELA 1

Fórmula de cálculo da diversidade de espécies

Tratamento	Tempo (dias)	Tempo (horas)	Tempo (minutos)	Tempo (segundos)	Tempo (milissegundos)	Tempo (microsegundos)	Tempo (nanossegundos)
Controle	1 x 24	1	1	1	1	1	1
	24 x 24	1	1	1	1	1	1
Probiótico	1 x 24	1	1	1	1	1	1
	24 x 24	1	1	1	1	1	1

Tabela 7 - Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de diatomáceas e clorofíceas nos viveiros teste e controle durante o experimento.

Semanas		DIATOMACEAS		CLOROFICEAS	
		Teste (mil cel x μ l)	Cont. (mil cel x μ l)	Teste (mil cel x μ l)	Cont. (mil cel x μ l)
1	X \pm Sd	30,9 \pm 106,9	30,9 \pm 24,8	28,2 \pm 13,9	28,9 \pm 16,5
	Min - Máx	9,8 - 234,3	6,8 - 65,4	8,3 - 38,0	14,7 - 52,2
2	X \pm Sd	135,9 \pm 131,8	96,0 \pm 22,2	33,4 \pm 12,6	39,9 \pm 11,1
	Min - Máx	48,2 - 327,5	6,9 - 115,5	18,2 - 47,1	26 - 51,6
3	X \pm Sd	30,0 \pm 10,0	43,5 \pm 7,4	38,7 \pm 13,0	77,5 \pm 44,11
	Min - Máx	17,9 - 40,7	34,6 - 50,9	25,7 - 50,4	37 - 135,2
4	X \pm Sd	58,7 \pm 18,3	82,6 \pm 23,4	135,5 \pm 62,4	158,9 \pm 42,11
	Min - Máx	36,4 - 81,1	51,7 - 105,2	68,2 - 219,3	102,5 - 194,8
5	X \pm Sd	55,8 \pm 18,4	65,2 \pm 24,5	269,5 \pm 187,9	393,2 \pm 208,0
	Min - Máx	33,3 - 73,8	32,5 - 90,7	94,2 - 535,0	175,0 - 656,5
6	X \pm Sd	14,6 \pm 6,3	28,8 \pm 19,0	71,6 \pm 50,4	308,7 \pm 284,2
	Min - Máx	7,5 - 22,5	2,5 - 47,5	20,8 - 141,3	11,3 - 687,9
7	X \pm Sd	18,1 \pm 18,6	13,1 \pm 7,5	15,6 \pm 11,7	64,0 \pm 63,4
	Min - Máx	6,7 - 45,8	5,0 - 23,2	2,7 - 17,5	18,3 - 155,7
8	X \pm Sd	75,8 \pm 108,3	10,8 \pm 10,8	21,8 \pm 2,2	15,4 \pm 9,2
	Min - Máx	7,5 - 237,5	2,5 - 26,4	20,0 - 25,0	7,5 - 28,2
9	X \pm Sd	32,7 \pm 25,7	52,7 \pm 54,3	26,3 \pm 16,3	32,7 \pm 18,9
	Min - Máx	13,1 - 68,8	15,0 - 132,5	4,4 - 39,4	16,1 - 51,3
10	X \pm Sd	41,3 \pm 31,2	48,3 \pm 29,2	16,9 \pm 8,7	25,9 \pm 12,7
	Min - Máx	22,5 - 87,5	21,3 - 86,1	5,0 - 25,0	13,8 - 37,5
11	X \pm Sd	28,8 \pm 6,6	60,6 \pm 34,0	25,3 \pm 23,3	33,1 \pm 8,2
	Min - Máx	20,0 - 35,0	31,3 - 108,8	10,0 - 60,0	22,5 - 42,5
12	X \pm Sd	91,5 \pm 47,0	60,6 \pm 48,3	28,8 \pm 7,4	35,0 \pm 12,5
	Min - Máx	50,8 - 152,5	35,0 - 133,1	20,0 - 36,9	22,5 - 50,7
13	X \pm Sd	47,4 \pm 27,1	44,8 \pm 30,6	16,9 \pm 4,5	32,6 \pm 22,5
	Min - Máx	23,5 - 78,5	14,5 - 83,8	13,0 - 22,5	3,0 - 57,0
14	X \pm Sd	15,0 \pm 10,1	16,4 \pm 7,2	14,4 \pm 12,0	21,8 \pm 16,8
	Min - Máx	8,8 - 30,0	8,8 - 25,0	3,8 - 31,3	2,5 - 42,5
15	X \pm Sd	5,6 \pm 6,3	8,4 \pm 5,6	16,3 \pm 24,3	17,4 \pm 9,0
	Min - Máx	2,5 - 15,0	2,5 - 15,9	2,5 - 52,5	7,5 - 27,5
16	X \pm Sd	5,6 \pm 5,1	31,5 \pm 46,7	11,9 \pm 5,5	11,0 \pm 9,3
	Min - Máx	2,5 - 10,0	2,5 - 100,8	5,0 - 17,5	2,5 - 24,2
Média Geral		43,0 \pm 35,8	43,4 \pm 25,7	48,2 \pm 66,6	81,0 \pm 112,2
Min.	Max.	5,6 - 135,9	8,4 - 96,0	11,9 - 269,5	11,0 - 393,2

X \pm Sd (Média e Desvio Padrão)

Min - Máx (Mínimo e Máximo)

Tabela 8 - Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de cianofíceas e dinoflagelados nos viveiros teste e controle durante o experimento.

Semanas		CIANOFÍCEAS		DINOFLAGELADOS	
		Teste (mil cel x ml ⁻¹)	Cont. (mil cel x ml ⁻¹)	Teste (mil cel x ml ⁻¹)	Cont. (mil cel x ml ⁻¹)
1	X \pm Sd	4,3 \pm 0,5	4,4 \pm 7,7	1,0 \pm 1,5	4,6 \pm 7,53
	Mín - Máx	3,5 - 4,8	3,1 - 7,4	0,0 - 3,2	0,3 - 15,11
2	X \pm Sd	65,3 \pm 105,0	45,4 \pm 41,8	8,7 \pm 5,4	3,7 \pm 7,54
	Mín - Máx	7,1 - 222,5	8,9 - 84,4	1,8 - 14,3	1 - 7,3
3	X \pm Sd	111,0 \pm 192,5	188,9 \pm 196,1	6,9 \pm 4,1	7 \pm 2,1
	Mín - Máx	7,9 - 399,7	11,7 - 385,5	1,4 - 11,1	1,7 - 14,4
4	X \pm Sd	241,1 \pm 279,6	544,1 \pm 595,4	5,2 \pm 4,3	3,8 \pm 2,6
	Mín - Máx	83,6 - 660,0	21,4 - 1263,5	0,0 - 10,4	0,4 - 6,4
5	X \pm Sd	384,8 \pm 125,0	428,5 \pm 399,6	0,6 \pm 1,3	1,7 \pm 3,4
	Mín - Máx	221,7 - 503,8	82,5 - 906,0	0,0 - 2,5	0,0 - 6,9
6	X \pm Sd	118,5 \pm 113,3	479,6 \pm 355,5	5,0 \pm 5,8	16,5 \pm 11,8
	Mín - Máx	16,7 - 280,0	10,0 - 851,4	0,0 - 10,0	4,6 - 30,0
7	X \pm Sd	51,9 \pm 17,1	118,7 \pm 111,1	0,0 \pm 0,0	8,5 \pm 13,6
	Mín - Máx	35,8 - 72,5	18,3 - 247,1	0,0 - 0,0	0,0 - 28,6
8	X \pm Sd	86,7 \pm 32,0	39,5 \pm 21,8	28,1 \pm 16,4	15,1 \pm 10,8
	Mín - Máx	42,5 - 115,0	15,0 - 63,9	17,5 - 52,5	0,0 - 23,2
9	X \pm Sd	68,7 \pm 49,8	63,1 \pm 25,1	54,1 \pm 22,1	97,6 \pm 93,7
	Mín - Máx	8,1 - 124,4	32,9 - 93,9	31,9 - 82,5	34,6 - 233,8
10	X \pm Sd	29,7 \pm 17,0	49,3 \pm 45,5	45,0 \pm 32,5	53,7 \pm 40,7
	Mín - Máx	10,0 - 46,3	20,0 - 117,1	11,3 - 81,3	4,5 - 90,4
11	X \pm Sd	70,9 \pm 72,5	74,3 \pm 18,3	46,9 \pm 29,6	59,1 \pm 31,1
	Mín - Máx	15,0 - 177,5	57,5 - 100,0	22,5 - 87,5	30,0 - 101,1
12	X \pm Sd	108,0 \pm 31,7	106,1 \pm 60,8	39,4 \pm 24,5	72,9 \pm 41,5
	Mín - Máx	74,2 - 148,3	17,5 - 155,0	23,8 - 75,8	31,3 - 123,6
13	X \pm Sd	55,0 \pm 84,7	129,9 \pm 106,5	32,9 \pm 23,4	103,6 \pm 104,7
	Mín - Máx	12,0 - 182,0	11,5 - 233,5	7,0 - 63,0	19,0 - 254,7
14	X \pm Sd	34,1 \pm 46,9	66,8 \pm 46,3	14,4 \pm 7,5	106,6 \pm 110,7
	Mín - Máx	13,8 - 55,0	12,5 - 125,0	9,7 - 28,8	7,5 - 255,0
15	X \pm Sd	40,6 \pm 17,1	21,7 \pm 23,7	2,8 \pm 1,6	66,8 \pm 48,6
	Mín - Máx	25,0 - 65,0	7,5 - 56,8	1,3 - 5,0	2,5 - 112,1
16	X \pm Sd	61,3 \pm 45,6	49,3 \pm 12,5	12,5 \pm 4,6	58,8 \pm 40,7
	Mín - Máx	30,0 - 127,5	38,4 - 102,1	7,5 - 17,5	5,0 - 100,0
Média Geral		95,7 \pm 93,9	150,6 \pm 172,7	19,0 \pm 18,9	42,5 \pm 39,2
Mín.	Max.	4,3 - 383,4	4,4 - 544,1	0,0 - 54,1	1,7 - 106,6

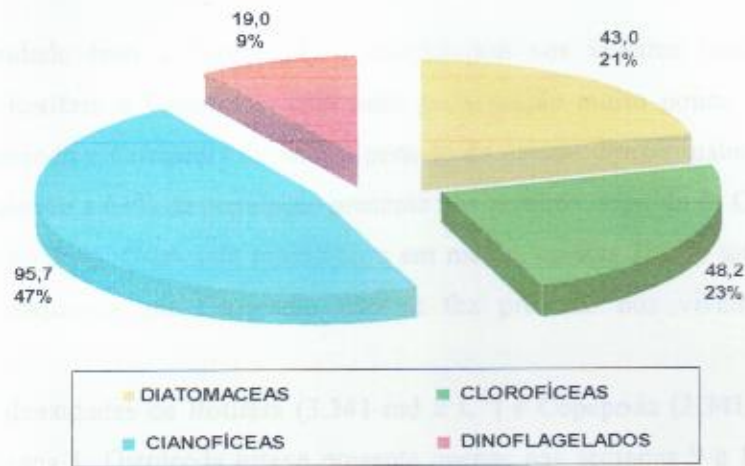


Figura 15 – Distribuição porcentual dos grupos fitoplanctônicos nos viveiros teste.

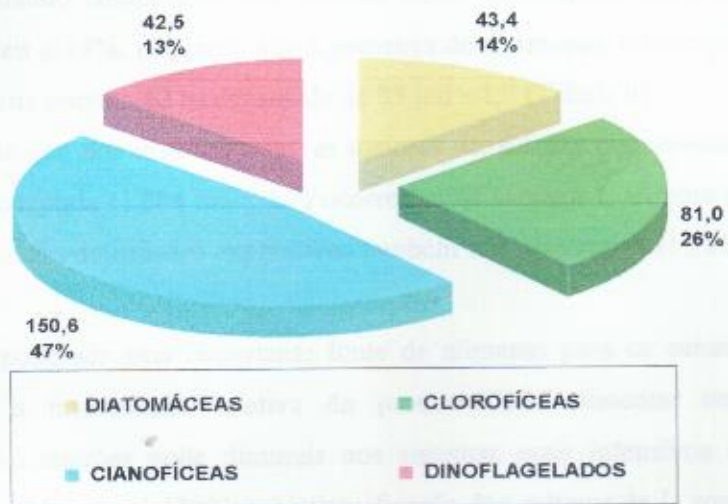


Figura 16 – Distribuição porcentual dos grupos fitoplanctônicos nos viveiros controle

4.2.2 – Zooplâncton

De conformidade com a Figura 17, o zooplâncton nos viveiros teste, esteve sempre representado por Rotifera e Copepoda, com uma participação muito pouco representativa de classes como Ostracoda e Cirripedia durante o período do estudo. Porcentualmente, Rotifera foi dominante, equivalendo a 63% da população presente nos viveiros, seguida de Copepoda com um percentual médio de 35%. Ostracoda representou em média, apenas 2% do total de organismos zooplantônicos, enquanto que Cirripedia não se fez presente nos viveiros tratados com probiótico.

As maiores densidades de Rotifera ($3.341 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$) e Copepoda ($2.341 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$) foram registradas na semana 1. Ostracoda esteve presente apenas nas semanas 9 e 12, em ambas, na densidade de $63 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$ (Tabela 9).

Nos viveiros controle, Rotifera e Copepoda também foram os representantes, de maior domínio no zooplâncton, equivalendo respectivamente a 79 e 14% dessa comunidade nesses ecossistemas (Figura 18).

No que tange à Ostracoda e Cirripedia, ocorreu uma inversão na participação porcentual desses organismos, quando comparados aos viveiros teste, observando-se que a população de Cirripedia correspondeu a 14%, enquanto que a presença de Ostracoda foi inexpressiva (Figura 18), ocorrendo apenas na semana 12 na densidade de $83 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$ (Tabela 9).

Da mesma forma que nos viveiros teste, as maiores densidades populacionais de Rotifera ($6.116 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$) e Copepoda ($1.884 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$) ocorreram na semana 1, embora a população de Rotifera tenha apresentado densidades expressivas também nas semanas 4 ($1.286 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$) e 5 ($5.875 \text{ ind} \times \text{L}^{-1}$).

O zooplâncton pode ser uma importante fonte de alimento para os camarões (Mc Vey, 1993), no entanto, a importância relativa da produtividade alimentar natural sobre o desenvolvimento dos camarões pode diminuir nos sistemas mais intensivos (Tacon, 1993), embora de acordo com Maia *et al.* (2003c), a intensificação dos cultivos de *L. vannamei* requeira uma comunidade planctônica de diatomáceas e de zooplâncton bem desenvolvida, devido a sua riqueza em ácidos graxos essenciais, importantes para seu crescimento e sobrevivência.

As concentrações médias e os picos do zooplâncton constatadas neste estudo foram muito baixos, especialmente quando comparados aos achados de Maia *et al.* (2003c), trabalhando com

L. vannamei em um ciclo de cultivo de inverno e outro de verão, em que a densidade média de zooplâncton em ambos os ciclos foi de 25.000 ind / litro, em viveiros estocados com pós-larvas de vinte dias (150 ind / m²).

Neste estudo, a estocagem dos viveiros com juvenis, resultou numa elevada biomassa inicial de camarões e numa alta pressão alimentar sobre as espécies de presas em ambos os tratamentos. De acordo com Nunes & Parsons (1999; 2000), a intensidade alimentar aumenta com o tamanho dos camarões.

A intensidade alimentar e a pressão, da elevada biomassa inicial de camarões sobre o zooplâncton, explicam a redução brusca da sua ocorrência, imediatamente após as estocagens.

A recorrência de picos de Rotifera nas unidades controle nas semanas 4 e 5 e a sutil elevação da densidade de Rotifera e Copepoda nas semanas 5 e 6 nos viveiros teste, coincidem e podem resultar dos picos de ocorrência do fitoplâncton registradas nesses ambientes no mesmo período. É provável que tais recorrências estejam ainda associadas, ao alívio da pressão sobre essas comunidades, por conta da sua sucessão por outros microrganismos, a partir da segunda semana e ao conseqüente redirecionamento da atividade alimentar, por parte dos camarões.

É provável que o zooplâncton, como fonte inicial de alimento de boa qualidade tenha influenciado positivamente a sobrevivência dos juvenis em ambos os tratamentos, presumindo-se da mesma forma, que as concentrações inadequadas dessa comunidade de microrganismos ao longo do experimento, aliadas a outros fatores, contribuíram para a obtenção do baixo crescimento registrado para os camarões, em ambos os tratamentos. Pesquisas têm demonstrado que mesmo com a oferta diária de ração, o consumo alimentar e a maior fonte de carbono para o crescimento dos camarões deriva-se da biota do viveiro. Reymond & Lagardère (1990) registraram que 37 a 43% do volume alimentar encontrado no trato digestório da espécie *Penaeus japonicus* (agora classificada como *Masurpenaeus japonicus*) era composto por alimento natural, contra 4% de ração, e Anderson *et al.* (1987) sugeriram que a biota natural contribuía com 45,80 a 69,57% da fonte de carbono usado no crescimento do camarão *Penaeus vannamei* (*L. vannamei*).

A análise estatística dos dados permitiu afirmar que não houve diferença significativa ($P > 0,01$) entre os tratamentos, indicando que o uso do probiótico não influenciou qualitativa e quantitativamente a comunidade zooplancônica.

■ Copepoda ■ Rotifera ■ Ostracoda ■ Cirripedia

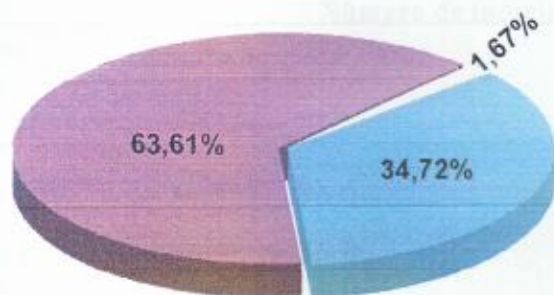


Figura 17 - Distribuição porcentual das classes do zooplâncton nos viveiros teste durante o experimento.

■ Copepoda ■ Rotifera ■ Ostracoda ■ Cirripedia

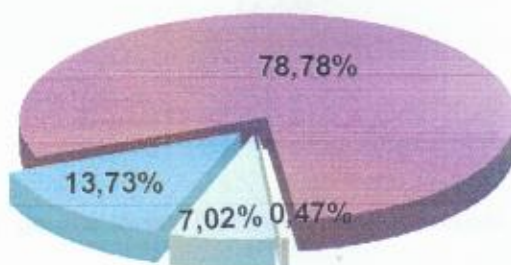


Figura 18 - Distribuição porcentual das classes do zooplâncton nos viveiros controle durante o experimento.

Tabela 9 - Ocorrência média do zooplâncton (Ind/L) nos viveiros teste e controle durante o experimento

Semanas	Classes	Número de indivíduos/L	
		Viveiros Teste	Viveiros Controle
1	Copepoda	2.341,0	1.884,0
	Rotifera	3.340,8	6.116,0
2	Rotifera	-	71,0
3	Rotifera	36,0	-
4	Copepoda	36,0	-
	Rotifera	36,0	1.286,0
5	Rotifera	542,0	5.875,0
6	Copepoda	250,0	-
	Rotifera	500,0	125,0
9	Rotifera	170,0	-
	Ostracoda	63,0	-
12	Copepoda	-	63,0
	Rotifera	63,0	313,0
	Ostracoda	63,0	83,0
14	Rotifera	125,0	-
16	Copepoda	-	500,0
	Rotifera	-	250,0
	Cirripedia	-	1.250,0

4.2.3 – Monitoramento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Viáveis (BHAV) e de *Vibrio* spp.

4.2.3.1 – BHAV no Solo

Para os viveiros teste, a concentração média de bactérias heterotróficas aeróbias viáveis (BHAV) encontradas no solo variou de $7,76 \times 10^4$ a $134,6 \times 10^5$ UFC \times g⁻¹ nas semanas 1 e 10, respectivamente. A média geral para as oito coletas realizadas foi de $282,98 \pm 333,07 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹. Nos viveiros controle, as variações ficaram entre $23,13 \times 10^4$ e $253,50 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹ nas semanas 14 e 16, tendo como média geral $63,36 \pm 69,78 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹ (Tabela 10).

4.2.3.2 – *Vibrio* spp. no Solo

A média das concentrações totais de *Vibrio* spp. no solo dos viveiros teste variou de $0,46 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ na semana 5 a $143,40 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ na semana 10, com uma média geral de $27,44 \pm 53,77 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹. Nos viveiros controle, a variação foi de $1,15 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ na semana 5 a $52,00 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ na semana 12, com uma média geral de $9,69 \pm 18,72 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ (Tabela 11).

Martins (2003), analisando as concentrações de BHAV em viveiros de cultivo de *L. vannamei*, em três ciclos semi-intensivos e um superintensivo, de forma seqüente no tempo, obteve como valor máximo $11,50 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹, densidade esta, bastante inferior às médias obtidas neste estudo, tanto para os viveiros controle como para os viveiros teste. Entretanto, a concentração mais elevada de *Vibrio* spp. obtida pelo referido autor ($27,50 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹), embora superior à média obtida para os viveiros controle neste estudo ($9,69 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹), coincide com a média do tratamento com o probiótico.

À exceção da semana 1, quando o probiótico foi inoculado, e da semana 16, durante todo o período do teste, as concentrações de BHAV foram muito mais altas no solo dos viveiros teste, onde a média geral foi cerca de cinco vezes superior à dos viveiros controle (Tabela 10).

As concentrações de *Vibrio* spp. (totais) no solo dos viveiros controle foram sempre mais altas do que nos viveiros teste (Tabela 11). No entanto, excetuando-se o pico de *Vibrio* spp. sacarose negativa - Sac⁻ observada nos viveiros teste, na semana 10, *Vibrio* spp. sacarose positiva - Sac⁺ foi prevalente ao longo do tempo, em ambos os tratamentos.

O domínio de BHAV, as mais baixas concentrações de vibrios totais e a prevalência de *Vibrio* spp. Sac⁺ nos viveiros teste, podem indicar que *Bacillus* spp. ministrado proliferou no solo desses ecossistemas, sugerindo que a aplicação do probiótico contribuiu para que ocorresse a sucessão e o domínio dessa comunidade.

Por outro lado, os achados de Martins (2003) mostraram que mesmo no ciclo de cultivo super-intensivo, com densidade de 165 animais por m², e portanto, supostamente, com um aporte muito mais expressivo de substrato orgânico para a comunidade bacteriana, a concentração de BHAV foi muito baixa ($0,36 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹), contribuindo para corroborar a hipótese da atuação tanto do suporte de carbono ministrado em ambos os tratamentos (melaço de cana) e principalmente, do probiótico aplicado semanalmente nos viveiros teste.

Devaraja *et al.* (2002), estudando os efeitos de dois produtos probióticos em viveiros de cultivo do camarão *P. monodon*, constataram que o sedimento dos viveiros tratados com o produto "1", contendo *Bacillus* sp. e *Saccharomyces* sp. apresentou uma concentração total de bactérias ($1,24 \times 10^6$ UFC \times g⁻¹) significativamente superior ($P < 0,05$) aos demais tratamentos, mediante a Contagem Padrão em Placas (CPP). Moriarty (1998), ministrando linhagens de *Bacillus* spp. em viveiros de cultivo de *P. monodon*, constatou que a proporção de *Vibrio* spp. luminoso patogênico Sac⁻ decresceu no sedimento dos viveiros teste.

Neste estudo, apesar da superioridade relativa das concentrações médias de BHAV e *Vibrio* spp. no solo dos viveiros teste, a análise estatística dos dados não revelou diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,01$) entre os dois tratamentos, tanto para BHAV, como para *Vibrio* spp. Sac⁺ e Sac⁻.

Tabela 10- Valores médios \pm desvio padrão das unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas aeróbias viáveis (BHAV) no solo (UFC/g) e na água de superfície (UFC/ml) dos viveiros teste e controle durante o experimento.

Semanas	Solo (UFC/g)		Água Superficial (UFC/ml)	
	Teste	Controle	Teste	Controle
	$\times 10^6$		$\times 10^6$	
1	7,76 \pm 7,51	27,53 \pm 48,49	0,46 \pm 0,49	1,75 \pm 1,08
3	622,70 \pm 1198,20	28,98 \pm 40,79	0,22 \pm 0,28	0,10 \pm 0,06
5	69,68 \pm 59,10	57,98 \pm 64,54	6,32 \pm 10,30	11,02 \pm 21,52
7	29,98 \pm 33,75	28,68 \pm 32,39	4,15 \pm 2,88	6,35 \pm 4,02
10	1346,00 \pm 1174,90	42,38 \pm 17,78	58,82 \pm 95,15	64,25 \pm 48,04
12	114,38 \pm 128,56	44,75 \pm 41,29	42,25 \pm 68,86	5,38 \pm 2,02
14	37,13 \pm 8,84	23,13 \pm 22,64	35,63 \pm 10,47	39,20 \pm 15,33
16	36,25 \pm 53,71	253,50 \pm 290,33	1,64 \pm 1,96	1,76 \pm 1,69
Médias	282,98 \pm 333,07	63,36 \pm 69,78	18,69 \pm 23,80	16,23 \pm 11,72

Tabela 11 - Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de *Vibrio* spp. (UFC/g) no solo dos viveiros teste e controle durante o experimento.

Semanas	Testes (X 10 ³)			Controle (X 10 ³)		
	Sacarose +	Sacarose -	Total	Sacarose +	Sacarose -	Total
1	0,8 \pm 0,97	0,0 \pm 0,35	0,9	0,8 \pm 0,83	1,5 \pm 2,30	2,3
5	0,2 \pm 0,28	0,1 \pm 0,24	0,4	1,1 \pm 1,20	0,0 \pm 0,03	1,1
7	0,3 \pm 0,44	0,3 \pm 0,73	0,7	5,8 \pm 11,30	0,0 \pm 0,00	5,8
10	6,4 \pm 3,50	137,0 \pm 180,00	143,4	1,3 \pm 1,30	0,1 \pm 0,21	1,4
12	44,0 \pm 87,00	0,6 \pm 1,20	44,6	47,0 \pm 84,00	5,0 \pm 9,90	52,0
14	1,1 \pm 1,60	0,1 \pm 0,23	1,2	2,5 \pm 4,90	0,0 \pm 0,00	2,5
16	0,4 \pm 0,22	0,2 \pm 0,00	0,6	2,5 \pm 4,60	0,0 \pm 0,11	2,5
Média	7,6 \pm 16,18	19,8 \pm 51,68	27,4	8,7 \pm 16,97	0,9 \pm 1,85	9,6

4.2.3.3 – BHAV na Água de Superfície

A média geral de BHAV nos viveiros teste foi de $18,69 \pm 23,8 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹, sendo de $16,23 \pm 11,72 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹ para os viveiros controle. Nos primeiros, as variações estiveram entre $0,22 \times 10^4$ e $58,82 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹ enquanto que nos últimos, se situaram entre $0,10 \times 10^4$ e $64,25 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹, com os valores mínimos detectados na semana 2 nos viveiros teste e os máximos, na semana 10, em ambos os tratamentos (Tabela 10).

4.2.3.4 – *Vibrio* spp. na Água de Superfície

Nos viveiros teste a densidade de *Vibrio* spp. variou de $0,05 \times 10^3$ UFC x g⁻¹ na semanas 7 a $1.804,20 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ na semana 1, com uma média geral de $258,49 \pm 681,60 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹. Para os viveiros controle, a média geral foi de $1,98 \pm 1,87 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹, com uma

variação compreendida entre $0,05 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ nas semanas 7 e 16 e $4,32 \times 10^3$ UFC \times ml⁻¹ na semana 10 (Tabela 12).

No que se refere a BHAV, os resultados tanto em variações como nas concentrações médias, foram bastante semelhantes nos dois tratamentos, sugerindo que a disponibilidade de substrato na água de superfície foi semelhante nos dois tratamentos. De acordo com Boyd (2004), a abundância de microrganismos é uma função da oferta de substrato, aumentando com o incremento deste e caindo rapidamente com o seu esgotamento, permanecendo em repouso e reflorescendo com o aumento ou com a adição desses suportes.

De acordo com a Tabela 12, excetuando-se as semanas 1, 5 e 16, a densidade média de vibrios totais na água de superfície dos viveiros teste foi sempre ligeiramente inferior aos viveiros controle. Entretanto, a grande superioridade da média geral nos viveiros teste se deveu ao valor médio muito elevado ($1,80 \times 10^6$ UFC \times ml⁻¹) detectado para *Vibrio* spp. Sac⁺ nos viveiros teste na semana 1.

Tabela 12- Valores médio \pm desvio padrão da ocorrência de *Vibrio* spp. (UFC/ml) na água de superfície dos viveiros teste e controle durante o experimento.

Semanas	Testes (X 10 ³)			Controle (X 10 ³)		
	Sacarose +	Sacarose -	Total	Sacarose +	Sacarose -	Total
1	4,20 \pm 5,50	1800 \pm 3600	1804,2	2,6 \pm 2,80	0,61 \pm 0,29	3,21
5	4,30 \pm 8,10	0,29 \pm 0,29	4,59	1,00 \pm 1,30	1,80 \pm 2,10	2,80
7	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,05	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,01	0,05
10	0,26 \pm 0,48	0,14 \pm 0,23	0,40	4,20 \pm 6,00	0,12 \pm 0,48	4,32
12	0,03 \pm 0,01	0,03 \pm 0,00	0,06	3,30 \pm 6,70	0,08 \pm 0,11	3,38
14	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,06	0,04 \pm 0,04	0,03 \pm 0,01	0,07
16	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,06	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,05
Médias	1,27 \pm 2,04	257,22 \pm 680,30	258,49	1,60 \pm 1,75	0,38 \pm 0,66	1,98

Martins (2003), analisando as comunidades bacterianas da água, (50 cm de profundidade), em quatro ciclos de cultivo de *L. vannamei*, constatou concentrações médias de $0,56 \times 10^4$ UFC \times

ml^{-1} para BHAV e $2,30 \times 10^3 \text{ UFC} \times \text{ml}^{-1}$), para vibrios totais. Tais concentrações são semelhantes às constatadas para *Vibrio* spp. porém, em BHAV, foram muito inferiores às obtidas neste experimento, indicando que a adição do substrato (melaço de cana) estimulou a proliferação dessa comunidade bacteriana tanto nos viveiros controle como nos viveiros teste.

As densidades de BHAV foram semelhantes nos dois tratamentos deste estudo, sugerindo mais uma vez, que provavelmente, o estímulo à produção dessa comunidade bacteriana na água de superfície esteve muito mais relacionado à oferta semanal do substrato (melaço), do que propriamente ao uso do probiótico.

A análise estatística dos dados de BHAV neste estudo revelou uma semelhança entre os dois tratamentos ($P > 0,01$), no entanto, a avaliação dos dados de *Vibrio* spp. embora sem diferença significativa ($P > 0,01$) entre os tratamentos, mostrou que nos viveiros com probiótico, ocorreu uma redução mais rápida da concentração de *Vibrio* spp. Sac^+ ao longo do tempo (Figura 19), indicando que concentrações maiores dessa comunidade podem ter ocorrido em outros nichos desses ecossistemas, incrementando a demanda por seus substratos específicos e conseqüentemente, limitando a sua estabilidade e crescimento na água de superfície ou que, a disponibilidade de substrato não foi suficiente para manter suas concentrações.

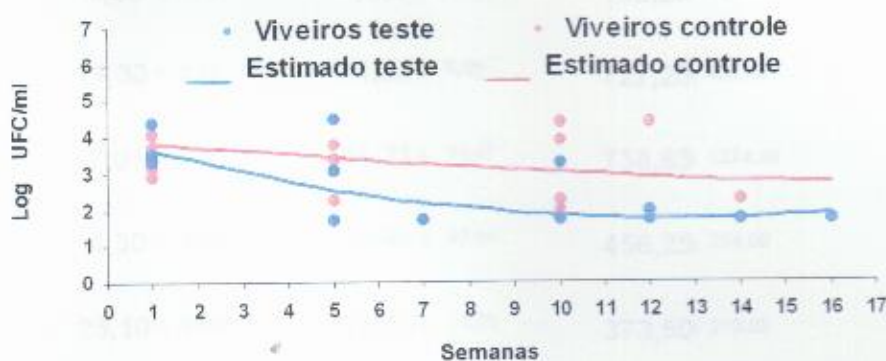


Figura 19 - Concentrações de *Vibrio* spp. sacarose positiva na água de superfície dos viveiros teste e controle durante o experimento.

4.2.3.5 – BHAV na Água de Fundo

Na água de fundo dos viveiros teste, a variação das concentrações médias de BHAV esteve entre $0,53 \times 10^4$ e $35,56 \times 10^4$ UFC \times ml⁻¹ nas semanas 3 e 1, respectivamente, enquanto que nos viveiros controle foi detectada uma flutuação entre $0,28 \times 10^4$ na semana 5 e $109,83 \times 10^4$ UFC \times ml⁻¹ na semanas 3. Para os viveiros teste a média registrada foi de e de $10,73 \pm 12,86 \times 10^4$ UFC \times ml⁻¹ e para os viveiros controle de $27,98 \pm 32,20 \times 10^4$ UFC \times ml⁻¹ (Tabela 13).

Tabela 13- Valores médios \pm desvio padrão das unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas aeróbias viáveis (BHAV) na água de fundo (UFC/ml) e no camarão (UFC/g) dos viveiros teste e controle, durante o experimento.

Semanas	Água de fundo (UFC/ml)		Camarão (UFC/g)	
	Teste	Controle	Teste	Controle
	$\times 10^4$		$\times 10^4$	
1	35,56 \pm 69,63	0,30 \pm 0,15	52,75 \pm 27,96	87,63 \pm 49,14
2				
3	0,46 \pm 0,39	109,83 \pm 157,89	458,08 \pm 750,78	100,38 \pm 80,89
4				
5	0,53 \pm 0,11	0,28 \pm 0,03	155,25 \pm 225,62	492,38 \pm 542,56
6				
7	11,33 \pm 8,72	11,55 \pm 8,65	727,20 \pm 457,63	293,00 \pm 172,50
9				
10	7,01 \pm 7,59	41,71 \pm 34,47	738,63 \pm 1374,49	58,88 \pm 20,40
11				
12	4,50 \pm 1,73	13,63 \pm 20,94	456,25 \pm 254,08	261,38 \pm 359,35
13				
14	25,10 \pm 13,48	29,50 \pm 22,23	373,50 \pm 210,62	213,00 \pm 106,39
15				
16	1,39 \pm 1,23	17,00 \pm 13,27	334,00 \pm 243,40	160,50 \pm 133,78
17				
Médias	10,73 \pm 12,86	27,98 \pm 32,20	411,96 \pm 443,07	208,39 \pm 183,13

4.2.3.6 – *Vibrio* spp. na Água de Fundo

Os viveiros teste tiveram valores mínimos de $0,05 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ na semana 12 e máximo de $411,7 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ na semana 7, com uma média geral de $59,28 \pm 155,4 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹. Nos viveiros controle a variação foi de $0,05 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ nas semanas 10 e 16 e $113,0 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ na semana 7, com uma média geral de $16,6 \pm 42,51 \times 10^3$ UFC x ml⁻¹ (Tabela 14).

Tabela 14- Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência de *Vibrio* spp. (UFC/ml) na água de fundo dos viveiros teste e controle durante o experimento

Semanas	Testes (X 10 ³)			Controle (X 10 ³)		
	Sacarose +	Sacarose -	Total	Sacarose +	Sacarose -	Total
1	1,4 \pm 2,30	0,5 \pm 0,41	1,9	1,7 \pm 1,80	0,0 \pm 0,00	1,7
5	0,3 \pm 0,46	0,1 \pm 0,14	0,4	0,2 \pm 0,43	0,2 \pm 0,48	0,5
7	410,0 \pm 760,0	1,7 \pm 2,20	411,7	93,0 \pm 170,0	20,0 \pm 30,00	113,0
10	0,0 \pm 0,00	0,2 \pm 0,00	0,2	0,0 \pm 0,00	0,0 \pm 0,00	0,0
12	0,0 \pm 0,00	0,0 \pm 0,00	0,0	0,0 \pm 0,06	0,1 \pm 0,23	0,2
14	0,3 \pm 0,36	0,1 \pm 0,22	0,4	0,6 \pm 0,43	0,1 \pm 0,23	0,7
16	0,0 \pm 0,01	0,0 \pm 0,00	0,0	0,0 \pm 0,00	0,0 0,00	0,0
Média	58,8 \pm 154,8	0,4 \pm 0,60	59,2	13,6 \pm 34,99	2,9 \pm 7,52	16,6

Dados relativos à quantificações bacterianas em água de fundo de viveiros empregados em estudos com probióticos não são comuns na literatura, observando-se que a maioria dos autores faz referência às águas de superfície, ou à coluna de água.

Devaraja et al. (2002), em experimentos com probióticos, encontraram na água de fundo dos viveiros de cultivo de *P. monodon*, concentrações médias de BHAV, variáveis entre $1,78 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹ e $6,82 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹ para as unidades teste e uma densidade média de $2,4 \times 10^4$ UFC x ml⁻¹ para as unidades controle. Tais concentrações, inferiores às registradas, tanto nos

viveiros teste, como nos viveiros controle deste estudo, corroboram a hipótese de que a oferta regular do melaço de cana pode ter contribuído positivamente tanto para a sobrevivência e a proliferação da comunidade de BHAV ministrada nos viveiros teste, como para o desenvolvimento e a sobrevivência da comunidade natural de BHAV estimulada nos viveiros controle.

Durante as primeiras semanas do estudo, nenhuma definição de tendência de comportamento, para a comunidade de BHAV da água de fundo foi observada em ambos os tratamentos, no entanto, a partir da semana 5 até o final do experimento, ao contrário do que ocorreu no sedimento, as concentrações médias de BHAV na água de fundo dos viveiros controle foram sempre superiores aos viveiros teste. Tais resultados indicaram que uma transformação do sistema autotrófico para o mecanismo heterotrófico de produção, ocorreu mais significativamente, em toda a coluna d'água dos viveiros controle, uma vez que, foi observada uma similaridade de comportamento de BHAV na água de superfície dos dois tratamentos. Tal hipótese pode ser confirmada pela análise do comportamento do pH, cujos valores médios, foram significativamente mais baixos nas unidades experimentais de controle e estatisticamente diferentes, ($P < 0,01$) nos dois tratamentos.

O mecanismo de produção mais autotrófico verificado nos ecossistemas teste pode ter sido decorrente da sobrevivência e do domínio mais acentuado de bactérias autotróficas nitrificantes como *Nitrosomonas* spp. e *Nitrobacter* spp. ministradas como probiótico apenas nesses ambientes.

Devaraja *et al.* (2002) verificaram para as águas de fundo, concentrações presuntivas de *Vibrio* spp. semelhantes, entre os viveiros controle ($6,26 \times 10^2$ UFC \times ml⁻¹) e os viveiros teste ($5,57$ a $6,16 \times 10^2$ UFC \times ml⁻¹) e bastante inferiores, às médias gerais obtidas neste estudo, em que os viveiros teste tiveram concentração relativamente superior aos controle, especialmente por conta da maior ocorrência de *Vibrio* spp. Sac⁺.

A variação das concentrações médias de vibrios totais na água de profundidade nos viveiros teste e controle, não apresentou qualquer definição de tendência ou de domínio nos dois tratamentos.

As médias de *Vibrio* spp. Sac⁺ foram ligeiramente mais altas na água de fundo nos viveiros teste do que nas unidades controle, durante as nove primeiras semanas do estudo, ocorrendo uma

equiparação das médias nos dois tratamentos na décima semana, a partir da qual, verificou-se uma sutil superioridade das médias, nos viveiros controle.

As concentrações médias de *Vibrio* spp. Sac⁻, à exceção da primeira e nas duas últimas semanas, foram sempre mais baixas na água de fundo dos viveiros teste do que nas unidades de controle, indicando provavelmente, a influência de *Bacillus* spp. ministrado como probiótico, sobre o controle dessa comunidade bacteriana.

A análise estatística dos dados de BHAV na água de profundidade neste estudo revelou uma semelhança entre os dois tratamentos ($P > 0,01$), no entanto, a avaliação dos dados de *Vibrio* spp., tanto Sac⁻ como Sac⁺, embora não revelando diferença significativa ($P > 0,01$) entre os dois tratamentos, mostrou que nos viveiros com probiótico, ocorreu uma redução mais rápida da concentração de *Vibrio* spp. Sac⁻ ao longo do tempo (Figura 20). Tal fato sugere uma contribuição positiva do composto probiótico, no controle da população de *Vibrio* spp. Sac⁻, supostamente de maior potencial de patogenicidade sobre os camarões cultivados.

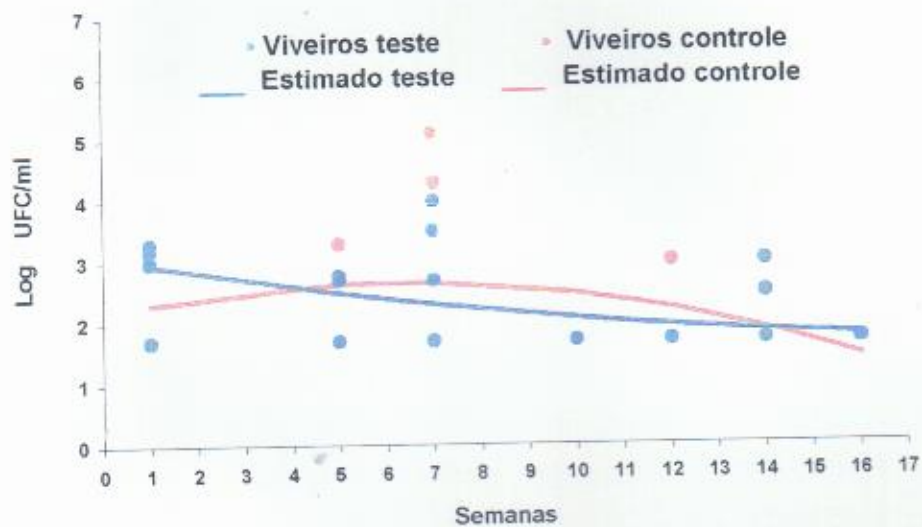


Figura 20 - Concentrações de *Vibrio* spp. sacarose negativa na água de fundo dos viveiros teste e controle durante o experimento.

4.2.3.7 – BHAV no Camarão

Nos viveiros teste, as concentrações médias de BHAV no camarão variaram de $52,75 \times 10^4$ na semana 2 a $738,6 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹ na semana 11, com uma média geral de $412,96 \pm 443,07 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹. Nos viveiros controle a média geral de BHAV nos camarões foi de $208,39 \pm 183,13 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹, enquanto as flutuações estiveram entre $58,88 \times 10^4$ na semana 11 e $492,38 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹ na semanas 6 (Tabela 13).

4.2.3.8 – *Vibrio* spp. no Camarão

Para os dois tratamentos, as menores concentrações médias de *Vibrio* spp. no camarão ($0,05 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹) foram constatadas na semana 9, enquanto que as maiores médias ocorreram nas semanas 13 $693,00 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ nos viveiros teste e na semana 17 nos viveiros controle $437,60 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹. A média geral de *Vibrio* spp. no camarão dos viveiros teste foi de $171,56 \pm 250,80 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ enquanto que nos viveiros controle foi de $97,10 \pm 159,84 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹ (Tabela 15).

Tabela 15- Valores médios \pm desvio padrão da ocorrência do *Vibrio* spp. (UFC/g) no camarão dos viveiros teste e controle durante o experimento

Semanas	Testes (X ³)			Controle (X ³)		
	Sacarose +	Sacarose -	Total	Sacarose +	Sacarose -	Total
2	4,10 \pm 2,10	0,66 \pm 0,48	4,8	23,00 \pm 32,00	1,90 \pm 1,20	24,90
4	0,52 \pm 0,98	0,13 \pm 0,21	0,65	0,82 \pm 1,40	0,14 \pm 0,23	0,96
6	18,00 \pm 29,00	12,00 \pm 0,24	30,00	13,00 \pm 9,00	0,26 \pm 0,18	13,26
9	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,05	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,05
11	21,00 \pm 34,00	16,00 \pm 0,29	37,00	6,40 \pm 6,30	0,78 \pm 1,40	7,18
13	680,00 \pm 610,00	13,00 \pm 13,00	693,00	220,00 \pm 130,00	24,00 \pm 29,00	244,00
15	220,00 \pm 260,00	16,00 \pm 29,00	236,00	48,00 \pm 54,00	0,81 \pm 1,10	48,81
17	350,00 \pm 660,00	21,00 \pm 39,00	371,00	430,00 \pm 710,00	7,60 \pm 11,00	437,60
Médias	161,71 \pm 246,37	9,85 \pm 8,37	171,56	92,66 \pm 154,76	4,44 \pm 8,29	97,10

Martins (2003), analisando as concentrações de BHAV em camarões *L. vannamei* cultivados em viveiros, em três ciclos semi-intensivos e um super-intensivo e de forma seqüente no tempo, obteve como valor máximo no ciclo 2 $173,23 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹ sendo portanto, muito inferior à média obtida neste estudo para os viveiros teste ($412,0 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹), porém semelhante à média dos viveiros controle ($208,4 \times 10^4$ UFC \times g⁻¹).

Das concentrações de *Vibrio* spp. nos camarões, obtidas pelo autor acima referido, apenas a média do primeiro ciclo ($65,13 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹), apresentou uma similaridade com a média geral constatada neste estudo para os viveiros controle ($97,10 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹). Nos demais ciclos estudados, as concentrações de *Vibrio* spp. nos camarões ($454,7 \times 10^3$; $488,7 \times 10^3$ e $735,5 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹), foram muito superiores às médias registradas neste experimento, tanto para os animais dos viveiros controle como para os viveiros teste ($171,56 \times 10^3$ UFC \times g⁻¹).

Durante as primeiras seis semanas do estudo ocorreu uma alternância do domínio das concentrações médias de BHAV nos camarões, entre os tratamentos controle e teste, no entanto, a partir da semana 7, de modo semelhante ao constatado nas análises de sedimento e, ao contrário

do observado na água de fundo, as concentrações de BHAV nos camarões dos viveiros com probiótico foram sempre muito superiores às observadas para os animais das unidades controle.

Por outro lado, as concentrações totais de *Vibrio* spp. nos camarões aumentaram consideravelmente a partir da semana 13 em ambos os tratamentos e estes incrementos foram representados principalmente pela maior proliferação e domínio de *Vibrio* spp. Sac⁺, especialmente nos viveiros teste.

A análise desses achados permite sugerir que, embora o declínio de *Vibrio* spp. Sac, a exemplo do observado na água de fundo nos viveiros teste, não tenha ocorrido nos camarões, a maior concentração e o domínio de *Vibrio* spp. Sac⁻ nesses animais nos dois tratamentos se deveram ao aporte contínuo do melão como substrato. Do mesmo modo, o domínio e a superioridade das concentrações de BHAV nos camarões dos viveiros teste, devem estar diretamente relacionados à sobrevivência e à presença da comunidade bacteriana heterotrófica ministrada como probiótico e continuamente estimulada pela adição do melão como substrato.

Ficou constatada uma estreita relação entre as comunidades bacterianas do sedimento e do camarão, tanto no que se referiu ao domínio e a prevalência de *Vibrio* spp. Sac⁻ em ambos os tratamentos, como ao domínio e à superioridade das concentrações de BHAV, da fase intermediária ao final do experimento, nos viveiros teste.

Tais achados sugerem a hipótese de que, devido ao comportamento bentônico de *L. vannamei* e ao seu estreito relacionamento com o sedimento, principalmente durante as ecdises, a microbiota bacteriana desses animais sob condição de cultivo, esteve muito mais relacionada à diversidade bacteriana do solo, do que propriamente àquela da coluna de água.

Apesar do domínio e das maiores concentrações médias de BHAV no camarão dos viveiros teste, a análise estatística dos dados revelou uma semelhança entre os dois tratamentos ($P > 0,01$), o mesmo ocorrendo para *Vibrio* spp. Sac⁻ e Sac⁺, cuja análise estatística também não revelou diferença significativa ($P > 0,01$) entre os tratamentos.

4.2.4 - Recirculação da Água e Manejo Alimentar

Uma baixa taxa de recirculação de água foi mantida para ambos os tratamentos, com destaque para os viveiros controle, onde apenas a reposição das perdas por infiltração e

evaporação foi realizada até a semana 17. O percentual de recirculação foi de 20% na última semana e necessário apenas como preparação para as colheitas.

Para os viveiros teste, não houve necessidade de recirculação até a semana 15, no entanto, no início da semana 16, foi efetuada na razão de 27,7 a 33,3%, com uma média de 29,6% na última semana.

Uma das principais considerações ambientais sobre a carcinicultura, é o possível impacto negativo dos efluentes dos viveiros sobre a qualidade da água costeira (Boyd, 2001).

O desenho e o manejo de sistemas de produção voltados para o reuso de água minimizam as renovações e eliminam as descargas de efluentes para o meio ambiente, melhorando as perspectivas para a obtenção de tecnologias mais lucrativas e sustentáveis (Browdy *et al.*, 2001).

Em sistemas de produção comercial intensiva de camarões, a renovação de água pode ser significativamente reduzida (Browdy *et al.*, 1993; Hopkins *et al.*, 1993; Allan & Maguire, 1993; Maia, 2002) ou eliminada (Hopkins *et al.*, 1996; Fast & Menasveta, 2000; Maia, 2003) sem afetar o crescimento e a sobrevivência, mantendo o oxigênio em níveis aceitáveis (Browdy *et al.*, 2001) e proporcionando altas produtividades. Nesses sistemas de produção, a aeração é crucial para a provisão de oxigênio e a formação de correntes para a suspensão contínua das partículas orgânicas, evitando a formação de lodo e possibilitando a manutenção de uma comunidade microbiana ativa (Horowitz & Horowitz, 2002).

Os resultados do presente estudo, apesar das limitações do oxigênio dissolvido, demonstraram a potencialidade da tecnologia da renovação nula uma vez que, mesmo dotado de capacidade de recirculação, o tratamento teste prescindiu dessa vantagem por quinze semanas, o mesmo ocorrendo no tratamento controle, por um período de dezessete semanas.

A recirculação foi ditada pela elevação da DBO constatada ao final da semana 14 (média de 25,0 ppm) e pela depleção de oxigênio dissolvido, cuja média foi 2,04 ppm, constatada no final da semana 15. Este procedimento foi iniciado a partir de registros de mortalidades nas unidades experimentais e o percentual médio de 29,6% foi suficiente para a melhoria dessas variáveis e consequentemente, para a queda da mortalidade.

O programa de renovação nula proposto, embora com eficiência ligeiramente limitada nos viveiros teste, corroborou os achados de: Ropkins *et al.* (1996); Fast & Menasveta (2000); Bratvold & Browdy (2001); McIntosh (1999, 2000), McIntosh & Avnimelech (2001) e Maia (2003).

O manejo alimentar foi igualmente implementado nos viveiros teste e controle, a partir da semana 2, quando foi observado o menor consumo médio: 294 Kg nos viveiros teste e de 248 Kg nos viveiros controle. O maior consumo médio semanal (2.208 Kg) foi verificado na semana 16 para os viveiros teste e na semana 11 para os de controle (2.539 Kg). De uma forma geral, o incremento do consumo do alimento artificial ocorreu com o aumento da biomassa e com a duração do estudo, no entanto, as maiores demandas foram constatadas entre as semanas 5 e 12 nos dois tratamentos.

O limite de produção nos sistemas de renovação nula pode ser determinado pelo ingresso de nutrientes via aporte de alimento e, dessa forma, o tipo de alimento e as estratégias de alimentação, continuarão sendo componentes críticos na elaboração de protocolos de manejo alimentar eficientes (Browdy *et al.*, 2001).

Dentre as estratégias de alimentação de camarões, o uso de bandejas para monitoramento de consumo e ajuste das taxas de alimentação, pode melhorar a eficiência do alimento e reduzir desperdícios (Cruz, 1991; Clifford, 1992; Salame, 1993) e contribuir para a manutenção da qualidade da água e do solo dos viveiros (Maia, 1993).

A oferta de alimento exclusivamente em bandejas fixas é uma estratégia de sucesso no cultivo semi-intensivo de *L. vannamei* (Calvo, 1993; Maia, 1995; Rivas, 1997), sendo a opção alimentar mais apropriada à carcinicultura, reduzindo desperdícios de alimento e evitando os erros de oferta. Este sistema é eficiente ainda, na redução da taxa de conversão alimentar, baixando os custos e incrementando a rentabilidade dos cultivos (Rocha & Maia, 1998).

A estratégia da alimentação em bandejas fixas baseia a oferta de alimento exclusivamente no consumo (Maia, 1999) e neste estudo, permitiu a constatação da ocorrência de picos de ingestão nos períodos de pós muda; baixo consumo durante as ecdises, e ingestão nula geralmente coincidente com as marés de sizígia e migração intensa nos viveiros.

Nunes & Parsons (2000) afirmam que a combinação de fatores ambientais, climáticos e fisiológicos influencia o apetite dos camarões e Martins (2003) menciona que os picos semanais de consumo alimentar estiveram ligados aos ciclos de mudas. Tais afirmações foram confirmadas neste estudo em que, apenas as mais baixas taxas de consumo médio semanal, observadas na primeira semana, tiveram relação direta com a biomassa de camarão.

A análise estatística dos dados de recirculação de água e consumo de ração mostrou uma semelhança ($P>0,01$) entre os tratamentos, sugerindo que a aplicação do probiótico não teve influência significativa sobre tais parâmetros de produção.

4.2.5 - Manejo, Avaliação Populacional e Colheita.

De acordo com a Tabela 16, os cultivos tiveram a duração média de 132 dias nos viveiros teste e de 141 dias nos viveiros controle, com um tempo médio diário de aeração artificial de 16 horas, em ambos os tratamentos.

Segundo Avnimelech (2003), o método comumente usado para determinar a capacidade de aeração requerida por um sistema de produção, é através de tentativas e erros, experimentando o mínimo necessário para manter um nível suficiente de oxigênio dissolvido, normalmente superior a 4 ppm. Boyd & Tucker (1998) afirmaram que, cada CV de potencia instalada suporta um aumento de produção de 500 quilogramas. McIntosh (1999, 2000) relata que no sistema de renovação nula, para cada 300 a 550 Kg x ha⁻¹ de camarão produzido, é necessário 1 CV de aeração. Maia *et al.* (2002), mostram que, uma relação média de 1 CV para cada 567 Kg x ha⁻¹ de camarão produzido foi adequada para a manutenção do oxigênio dissolvido monitorado às 05:00 horas, manter-se sempre superior a 3 ppm.

Neste estudo, uma relação média de 1 CV para cada 855 Kg x ha⁻¹ foi obtida, com uma disponibilidade média de oxigênio dissolvido (05:00 horas) de 2,84 ppm. Portanto, a capacidade instalada de aeração artificial (10 CV/ ha) foi insuficiente para garantir a demanda de oxigênio dissolvido, razão pela qual, a concentração desta variável manteve-se baixa, mesmo com o acionamento diuturno dos aeradores, no final do cultivo.

O crescimento médio semanal dos camarões nos viveiros teste variou de 0,49 a 0,64 g com uma média geral de $0,59 \pm 0,07$ g. Nos viveiros controle a média de crescimento foi de $0,54 \pm 0,05$ g semanais, variando de 0,48 a 0,56g. Em ambos os tratamentos, este crescimento foi decrescente com a duração dos ciclos, chegando a 0,26g na última semana (Figura 21).

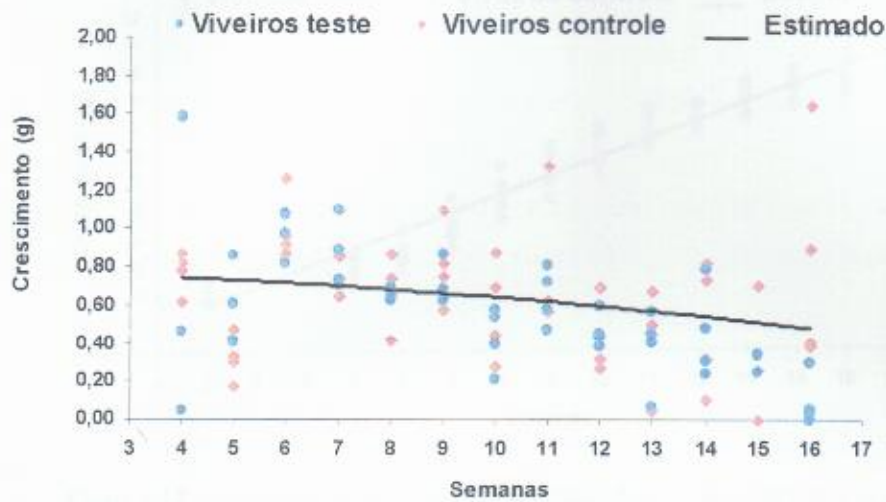


Figura 21 - Variação do crescimento em peso médio semanal do *L. vannamei* nos viveiros testes e controle.

Embora a intensificação do consumo individual da ração tenha ocorrido com o aumento progressivo do tamanho dos camarões, a taxa de crescimento semanal em peso decresceu com o aumento do peso médio e com o tempo de cultivo. Este declínio pode estar relacionado à própria ontogenia do animal ou correlacionado às condições ambientais temporais observadas, como a relativamente baixa disponibilidade de oxigênio dissolvido, a redução da temperatura, o incremento de salinidade e a prevalência de cianobactérias.

A variação do peso médio de *L. vannamei* nos dois tratamentos, constatada pelas biometrias semanais está expressa na (Figura 22).

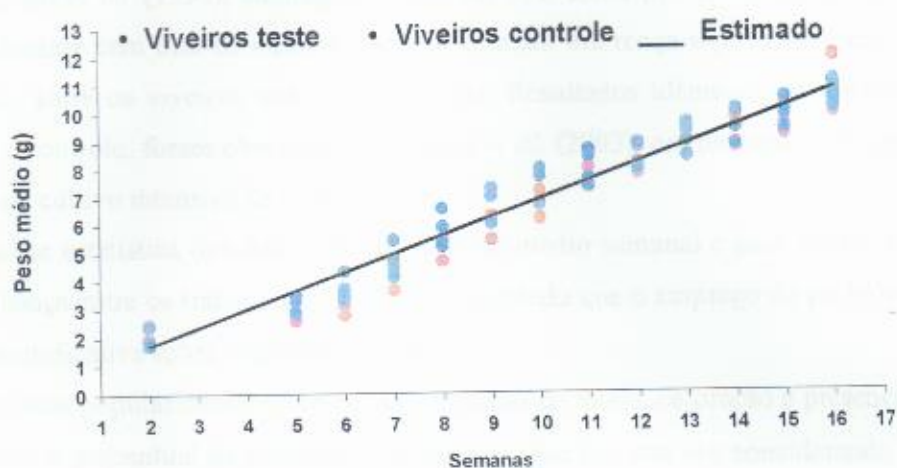


Figura 22 - Variação do peso médio semanal do *L. vannamei* nos viveiros teste e controle durante o experimento.

Os dados da Tabela 16 mostram, que nos viveiros teste, os animais atingiram num intervalo médio de $134 \pm 11,73$ dias, um peso médio de $11,28 \pm 0,75$ g, enquanto que nos viveiros controle, o peso médio final obtido após $141 \pm 9,06$ dias de cultivo foi de $10,69 \pm 0,33$ g.

As baixas taxas médias de crescimento em peso, observadas neste estudo, influenciaram diretamente o peso médio final obtido nos dois tratamentos. Este crescimento semanal médio (0,57 g) foi similar ao registrado por Maia (2003) para *L. vannamei* (0,62g) em condições idênticas de cultivo e muito inferior ao registrado por Maia *et al.* (2002), e ao citado por Martins (2003) para a mesma espécie (0,83 e 0,89g, respectivamente), cultivada em ambos os casos, numa densidade de 150 animais por m^2 .

Sandifer *et al.* (1988) constataram pouca diferença na taxa de crescimento de *L. vannamei* cultivado em densidades variáveis de 20 a 100 camarões por m^2 e Sandifer *et al.* (1991) mostraram que o crescimento em peso de 1 g por semana foi obtido para a mesma espécie estocada em viveiros, na razão de 200 animais por m^2 .

Os achados dos estudos supra citados, aliados aos dados do presente trabalho, possibilitam a afirmação de que o crescimento de *L. vannamei* em cativeiro está muito mais relacionado às

condições ambientais, ao manejo dos viveiros e a fatores climáticos, do que propriamente às densidades de estocagem.

Rengpipat *et al.* (1998), empregando *Bacillus S11* como probiótico na alimentação de *P. monodon*, durante cem dias de cultivo, não encontraram diferença significativa em crescimento nos animais, entre os viveiros teste e de controle. Resultados idênticos em crescimento entre tratamento e controle, foram observados por Maia *et al.* (2003), em um teste com um probiótico comercial, no cultivo intensivo de *L. vannamei*.

A análise estatística dos dados de crescimento médio semanal e peso médio final revelou uma semelhança entre os tratamentos ($P>0,01$), sugerindo que o emprego do probiótico não teve influência significativa sobre estes parâmetros.

As análises populacionais referentes às condições de muda, coloração e presença de necrose determinaram o percentual de perfeição dos animais, que por sua vez considerando um mínimo 80%, determinou a época de colheita. Os dados das avaliações efetuadas nas semanas 15, 16 e 17 revelaram para os viveiros teste, um percentual de perfeição médio, variável de 70,47 a 74,27% com uma média geral de $73,73 \pm 3,1\%$. Nos viveiros controle, a média do percentual de perfeição dos animais variou de 60,70 a 74,23% com uma média geral de $69,80 \pm 6,15\%$.

O percentual de perfeição dos animais nos viveiros teste, em valores médios nas últimas três semanas de cultivo, foi sempre superior aos viveiros controle (Figura 23).

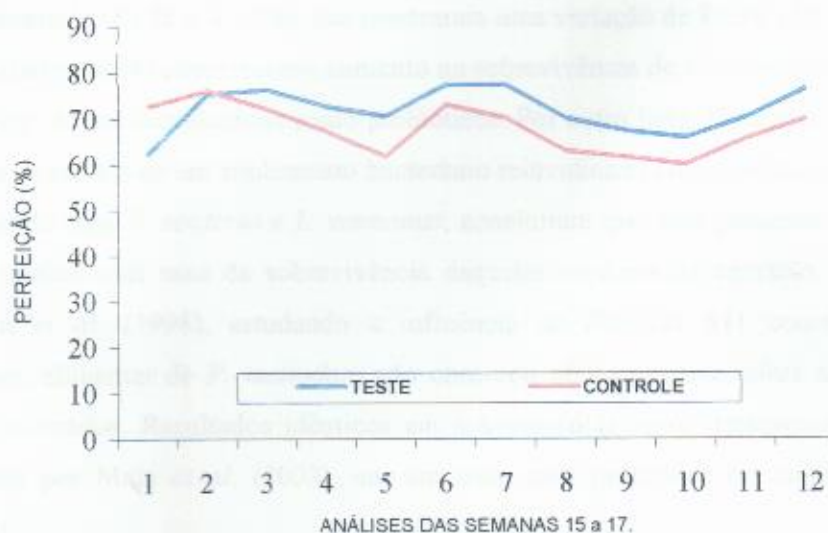


Figura 23 - Variação da média do percentual de perfeição de *L. vannamei* nos viveiros teste e controle.

A análise de perfeição, basicamente fundamentada nas avaliações de necrose e de deformações, sugere que o maior percentual de sanidade dos animais nos viveiros teste pode estar relacionado à presença menos representativa de vibrios em geral e em especial, de *Vibrio* spp. Sac^+ na água de superfície e Sac^- na água de fundo dos viveiros, ao final do experimento, indicando a influência relativamente positiva, do probiótico testado.

Achados semelhantes em sanidade, foram feitos por Rengpipat *et al.* (1998), que empregando exemplares de *Penaeus monodon* alimentados por cem dias com um probiótico (*Bacillus S11*), constataram num teste de patogenicidade com *Vibrio harveyi* por imersão durante dez dias, que os animais alimentados à base do probiótico estavam saudáveis e normais, enquanto que os animais controle apresentavam deformações na textura do hepatopâncreas e aparência externa de insanidade.

A exemplo dos resultados de Rengpipat *et al.* (1998), a análise estatística do resultado em percentual de perfeição não mostrou diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,01$), na presente pesquisa.

A sobrevivência de *L. vannamei* nos viveiros teste, variou de 62,90 a 87,10% com uma média de $75,05 \pm 9,91\%$ que por sua vez, foi inferior à média de sobrevivência constatada para os viveiros controle ($84,88 \pm 4,54\%$), que mostraram uma variação de 80,30 a 90,90% (Tabela 16).

Moriarty (1998) observou um aumento na sobrevivência de *P. monodon* nos viveiros, onde *Bacillus* spp. foram introduzidos como probióticos. Por outro lado, Horowitz & Horowitz (2000) avaliando os efeitos de um suplemento bacteriano reivindicado como redutor de matéria orgânica e trabalhando com *P. setiferus* e *L. vannamei*, concluíram que esse probiótico não proporcionou qualquer melhora na taxa de sobrevivência daquelas espécies de camarão. Do mesmo modo, Rengpipat *et al.* (1998), estudando a influência do *Bacillus* S11 como probiótico como suplemento alimentar de *P. monodon*, não observou efeito positivo sobre a sobrevivência dos animais cultivados. Resultados idênticos em sobrevivência entre tratamento e controle, foram observados por Maia *et al.* (2003), em um teste com probiótico no cultivo intensivo de *L. vannamei*.

As sobrevivências obtidas neste estudo nos dois tratamentos foram superiores às constatadas por Maia *et al.* (2002) para *L. vannamei* (50,1%) em cultura intensiva e às relatadas por Maia (2003) para o cultivo desta espécie (70,0%), em condições de cultivo similares. A pequena diferença observada entre os tratamentos deveu-se às mortalidades constatadas nos viveiros teste, principalmente nas semanas 7 e 15 e tais perdas, especialmente na semana 7, decorreram certamente, da intensificação das dosagens do probiótico nas semanas 5 e 6 e do conseqüente e provável incremento da taxa aeróbia de decomposição da matéria orgânica e da depleção de oxigênio dissolvido resultante. A ligeira inferioridade em sobrevivência dos animais nos viveiros teste contribuiu para a relativa redução da produção, da produtividade e para o sutil incremento do fator de conversão alimentar, no tratamento com o probiótico.

A produção média dos viveiros teste (21.391 ± 2.369 Kg) possibilitou o alcance de uma produtividade de 8.227 ± 911 Kg x hectare⁻¹, relativamente inferiores à produção (23.075 ± 1.597 Kg) e à produtividade (8.875 ± 614 Kg x hectare⁻¹) constatadas nos viveiros controle. Tais produções e produtividades foram superiores à média obtida por Maia (2003) em condições semelhantes de cultivo (6.360 Kg x ha⁻¹) e na mesma área. Porém, produtividades superiores foram relatadas por Maia *et al.* (2002), trabalhando com *L. vannamei* em densidade mais elevada (9.768 x ha⁻¹); por Maia *et al.* (2003) no teste com probiótico (18.270 Kg x ha⁻¹), por Martins (2003), em cultivos mais intensificados (20.186) de *L. vannamei* e por McIntosh & Carpenter

(2000), em sistema fechado ($11.231 \text{ Kg} \times \text{ha}^{-1}$). Estes resultados em produtividade estiveram diretamente relacionados às taxas de estocagem, ao crescimento, ao tempo de cultivo e à taxa de sobrevivência, registrados nos estudos supra relatados e evidentemente, às práticas de manejo e às condições ambientais sob as quais, tais experimentos foram realizados.

Rengnipat *et al.* (1998); Horowitz & Horowitz (2000), Devaraja *et al.* (2002) e Maia *et al.* (2003), em seus estudos relativos à influência de probióticos sobre a produção e a produtividade de camarões, mencionam uma semelhança entre os tratamentos teste e controle, ficando implícito que o emprego do probiótico não teve contribuição, positiva ou negativa, sobre a produção e a produtividade dos experimentos.

O consumo médio de ração nos viveiros controle, $34.983 \pm 4.789 \text{ Kg}$, foi ligeiramente superior ao constatado para os viveiros teste, cuja média foi de $32.629 \pm 4.794 \text{ Kg}$ (Tabela 16).

O alimento artificial consumido apresentou nos dois tratamentos, uma estreita relação com as biomassas finais obtidas, demonstrando-se dessa forma, que o mecanismo de aplicação centralizada nas bandejas fixas foi eficiente, especialmente em se considerando o fato de que, as mortalidades ocorridas nos viveiros teste, ao contrário do esperado, não contribuíram para a elevação significativa das taxas de conversão alimentar.

O fator de conversão alimentar – F.C.A, quilos de ração consumidos para a produção de 1 Kg de camarão, variou de 1,45 a 1,62 com média de $1,53 \pm 0,09$ nos viveiros teste, enquanto para os viveiros testemunha, variou de 1,39 a 1,60 com uma média de $1,51 \pm 0,11$ e, portanto, ligeiramente inferior à obtida para os viveiros teste (Tabela 16).

A biomassa de camarões nos viveiros aumenta normalmente com o tempo de cultivo, sendo uma função direta do incremento em peso médio individual desses animais e inversa às suas taxas de mortalidade. Assim, em condições normais, à medida que o tempo decorre, a biomassa aumenta e a pressão sobre a disponibilidade de alimentos naturais se intensifica. Hopkins *et al.* (1995) e Nunes (1995) afirmam que a disponibilidade de organismos presa para os camarões declina com o tempo de cultivo e de acordo com Jory (1995), Viacava (1995) e Nunes & Parsons (1999), com o declínio da concentração de presas, ocorre o incremento da demanda por alimento artificial. Dessa forma, pode-se presumir, que o tempo de cultivo tem grande influência sobre o fator de conversão alimentar da ração usada e, uma relação entre a duração dos ciclos em dias e o FCA, igual ou superior a “100” é sugerida como adequada.

Neste estudo, as taxas de conversão alimentar em valor, foram mais altas que as constatadas por Maia *et al.* (2002) para *L. vannamei* (1,26) e por Maia *et al.* (2003), para a mesma espécie (1,35), em teste com probiótico. Taxas de conversão superiores às deste experimento, foram obtidas por McIntosh & Carpenter (2000) e Maia (2003) em cultivos fechados de *L. vannamei*, com valores médios e respectivos de 2,2 e 1,81.

De outro modo, analisando-se a relação entre a duração dos ciclos e o FCA, observou-se que a relação mais alta e, portanto mais eficiente, foi constatada neste estudo (média de 90), seguida pelo quociente (89) obtido por Maia *et al.* (2002), da relação equivalente a 88, constatada por Maia (2003) e do quociente (73) alcançado por Maia *et al.* (2003). A mais baixa relação e supostamente a menos eficiente, (63) foi obtida por McIntosh & Carpenter (2000).

Rengpipat *et al.* (1998) e Horowitz & Horowitz (2000), em estudos com probióticos, ministrados no alimento e na água, observaram que em termos de conversão alimentar, os resultados dos tratamentos e controles foram semelhantes. No entanto, Devaraja *et al.* (2002) mencionam que obtiveram diferença significativa em FCA causada pelo uso de probióticos na água de cultivo de *P. monodon* em um dos dois tratamentos aplicados

A análise dos resultados deste estudo em sobrevivência, produção, produtividade e FCA revelam uma semelhança entre o tratamento com probiótico e o controle ($P>0,01$), sugerindo que o emprego do probiótico não influenciou significativamente tais parâmetros.

Tabela 16 - Dados gerais dos parâmetros de cultivo de *L. vannamei* nos viveiros teste e controle

Resultados Gerais	Viveiros teste				X ± Sd
	Ve 01	Ve 02	Ve 11	Ve 21	
Duração do ciclo (dias)	122,00	150,00	131,00	132,00	133,75 ± 11,73
Recirculação de água (%)	33,33	0,00	27,78	27,78	22,22 ± 15,04
Crescimento médio semanal (g)	0,61	0,49	0,64	0,63	0,59 ± 0,07
Média de perfeição (%)	72,43	70,47	77,75	74,27	73,73 ± 3,10
Taxa de sobrevivência (%)	76,00	87,10	62,90	74,20	75,05 ± 9,91
Peso médio final (g)	10,71	10,55	11,91	11,94	11,28 ± 0,75
Produção (Kg)	21.575	23.880	18.179	21.931	21.391 ± 2.369
Produtividade (Kg/há)	8.298	9.185	6.992	8.435	8.228 ± 911
Consumo de Ração (Kg)	34.795	37.561	26.366	31.794	32.629 ± 4.794
Fator de Conversão (F.C.A)	1,62	1,58	1,45	1,45	1,53 ± 0,09

Resultados Gerais	Viveiros Controle				X ± Sd
	Ve 03	Ve 17	Ve 23	Ve 24	
Duração do ciclo (dias)	144,00	152,00	131,00	137,00	141,00 ± 9,06
Recirculação de água (%)	20,00	22,00	23,00	15,00	20,00 ± 3,56
Crescimento médio semanal (g)	0,51	0,48	0,59	0,56	0,54 ± 0,05
Média de perfeição (%)	60,70	72,53	71,73	74,23	69,80 ± 6,15
Taxa de sobrevivência (%)	85,50	90,90	80,30	82,80	84,88 ± 4,54
Peso médio final (g)	10,42	10,40	11,05	10,90	10,69 ± 0,33
Produção (Kg)	23.174	25.297	21.983	21.847	23.075 ± 1.597
Produtividade (Kg/há)	8.913	9.730	8.455	8.403	8.875 ± 614
Consumo de Ração (Kg)	37.186	40.651	31.699	30.395	34.983 ± 4.789
Fator de Conversão (F.C.A)	1,60	1,60	1,44	1,39	1,51 ± 0,11

5.0 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A análise dos resultados obtidos possibilitou as seguintes conclusões e recomendações:

- O processo de preparação dos cultivos foi eficiente garantindo o suporte alimentar natural básico inicial e a inexistência de competição e predação entre os animais cultivados nos dois tratamentos.

- O emprego do probiótico contribuiu significativamente para a estabilidade do pH da água e para a manutenção do sistema autotrófico de produção, ao longo do estudo, sugerindo que as bactérias autótrofas ministradas sobreviveram e prevaleceram em tais ambientes.

- A potência instalada de aeração artificial não foi suficiente para atender a demanda de oxigênio dissolvido do sistema de produção estudado, sugerindo que a eficiência do probiótico bio-regulador, em sistemas fechados com recirculação, pode ser comprometida pelas baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

- A aplicação do probiótico não afetou negativamente a flora bacteriana natural e aparentemente contribuiu para o aumento da população de bactérias autotróficas nitrificantes de amônia e de nitrito nos viveiros teste.

- O probiótico ministrado influenciou positivamente, porém de modo não estatisticamente significativo, a sanidade e a perfeição dos animais cultivados, contribuindo para a redução relativa do tempo de cultivo nos viveiros teste.

- Mais estudos sobre probióticos em viveiros de carcinicultura serão necessários e a adoção de um desenho experimental com maior frequência amostral e maior número de unidades experimentais por tratamento, permitirá uma melhor avaliação da eficiência desses compostos sobre as variáveis ambientais e os resultados zootécnicos.

- Ao mesmo tempo, será também importante a geração de conhecimentos sobre a seleção de linhagens bacterianas autóctones e suas concentrações requeridas para o melhoramento das condições ecológicas dos viveiros e de sua produtividade.

- Estudos específicos sobre o estímulo ao desenvolvimento da microbiota bacteriana natural dos viveiros de carcinicultura, mediante o emprego de substratos como o melão e outros, são também sugeridos como importantes.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. I.; Lacerda, L. D. & Marins, R. V. Emissões de nitrogênio e fósforo para o Estuário do Rio Jaguaribe, (CE). *Revista da ABCC*. Ano 5, n. 4, p. 76-80, 2003.
- Acleto, C. O. & Zuniga, R. A. *Introducción a las algas*. Editora Escuela Nueva S.A., 383 p., Lima, 1998.
- Allan, G. L. & Maguire, C. B. 1993. The effects of water exchange on production of *Metapenaeus macleayi* and water quality in experimental pools. *J. World Aquacult. Soc.*, Baton Rouge, v. 24, p. 321-328, 1993.
- American Public Health Association. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19^a ed., Washington, 1995.
- Anônimo. Disease control in the hatchery by microbiological techniques. *Asian Shrimp News*, v. 8, n. 4, 1991.
- Austin, B & Day, J. G. Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp. by a commercial spray-dried preparation of *Tetraselmis succica*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 90, p. 389-392, 1990.
- Austin, B.; Baudet, E. & Stobie, M. B. C. Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. *J. Fish Dis.*, v. 15, p.55-61, 1992.
- Austin, B.; Stuckey, L. F. & Robertson, P. A. W. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *J. Fish. Dis.*, v. 18, p. 93-96, 1995.
- Avnimelech, Y. & Ritvo, G. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*, v. 220, n. 1-4, p. 549-567, 2003.

Avnimelech, Y. Aeration and aerator deployment in shrimp ponds, p. 207-215, in Jory, D. E. (ed.), *Responsible aquaculture for a secure future: proceedings of the special session on shrimp farming*. The World Aquaculture Society, 300 p., Baton Rouge, 2003.

Azam, F.; Fenchel, T.; Field, J. G.; J. S. Grey; Meyer-Reil, L. A. & Thingstad, F. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, v. 10, p. 257-263, 1983.

Azam, F.; Haskell, S. & Rohwer, F. The microbial loop in aquaculture. Honolulu, Hawaii, p. 87-98. in LEE, C. S. & O'BRYEN, P. (eds.), *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, 190 p., Baton Rouge, 2002.

Bamabé, G. *Aquaculture*, Ellis Horwood, vols. 1 and 2, 528 p., New York, 1990.

Berger, C. Aportes de la bio-tecnología a la alimentación y a la imuno-estimulación de camarones peneidos. pp. 19-22, Cruz-Suárez, L. E.; Rique-Marie, D.; Tapia-Salazar, M. A & Civera-Cercedo, R. (eds.). *Avances en nutrición acuícola. Memores del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Yucatán. 2000.

Binh, C. T.; Phillips, M. J. & Demanine, H. Integrated shrimp-mangrove farming system in the Mekong delta of Vietnam. *Aquacult. Res.*, v. 28, p. 599-610, 1977.

Boyd, C. E. *Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming*. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, n. 2, 83 p., Alabama, 1989.

Boyd, C. E. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Agricultural Experiment Station. Auburn University, 482 p., Alabama, 1990.

- Boyd, A. E. & Musing, Y. Shrimp pond effluents: observations of the nature or the problem on commercial farms. p. 195-197, *in* Charmberlain, G. W & Villalón, J. & Wyban, J. (eds.), *Proceedings of the special session on shrimp farming*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1992.
- Boyd, C. E. Environmental and economic benefits of sustainable aquaculture. pp. 31-54, *in* *Anais do IV Simpósio Brasileiro sobre o Cultivo de Camarão*, João Pessoa, 1993.
- Boyd, C. E. & Tucker, C. S. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publ., Boston, 1998.
- Boyd, C. E. Environmental codes of practice in aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*, v. 2, p. 17-18, 1999.
- Boyd, C. E. Water and bottom soil quality management in freshwater aquaculture ponds. pp. 303-312, *in* *Anais do Aquicultura Brasil '98*, v.1, 447 p., Recife, 1998.
- Boyd, C. E & Massaut, L. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. Amsterdam. *Aquacult. Eng.*, v. 20, n. 2, p.113-132, 1999.
- Boyd, C. E. Farm effluent during draining for harvest. *Global Aquaculture Advocate*, v. 3, p. 26-27, 2000.
- Boyd, C. E. Water quality standards: total suspended solids. *Global Aquaculture Advocate*, v. 4, p. 70-71, 2001.
- Boyd, C. E. Parâmetros de qualidade de água: nitrogênio de amônia total. *Revista da ABCC*. Ano 4, n. 1, p. 20-23/66-69, 2002.

Boyd, C. E. Uso de probióticos e qualidade da água e solo. *Revista da ABCC*. Ano 6, n. 2, p. 67-69, 2004.

Bray, W.A. Lawrence, A. L. & Leung-Trujillo, J. R. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei* with observations in the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture*, v. 122, p.137-146, 1994.

Bratvold, D. & Browdy, C. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMatsTM) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, v. 195, p. 81-84, 2001.

Brock, J.A. & Bullis, R. Disease prevention and control for gametes and embryos of fish and marine shrimp. *Aquaculture*, v. 197, p. 137-159, 2001.

Brown, J. H. Antibiotics: their use and abuse in aquaculture. *World Aquaculture*, v. 20, p. 34-42, 1989.

Browdy, C. L.; Holloway, J. D.; King, C. O.; Stokes, A. D.; Hopkins, J. S. & Sandifer, P. A. IHHN virus and intensive culture of *Penaeus vannamei*: Effects of stocking density and water exchange rates. *J. Crust. Biol.*, v. 13, p. 87-94, 1993.

Browdy, C. L.; Bratvold, D.; Stokes, A. D. & McIntosh, R. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. p. 20-34, in Browdy, C. L. & Darry, E. J.(eds.),*The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp farming*. The World Aquaculture Society, 375 p., Baton Rouge, 2001.

Calvo, L. *Comedores: su uso como herramienta exclusive de alimentacion en el cultivo de camarones en el Peru*, Mimco. 1993.

Carol, D. A. & Goldman, J. C. Dybanics of protistan carbon and nutrient cycling. *J. Protozool.*, v. 35, p. 247-249, 1988.

Chiu, Y. N. Water quality management for intensive prawn ponds. p. 102-128. in Chiu, Y. N.; Santos, L. M. & Juliano, R. O. (eds.), *Technical considerations for the management and operation of intensive prawn farms*. Aquaculture Society, Iloilo City, 1988.

Chua, T. E.; Paw, J. N. & Gaurin, F. Y. The environmental impact of aquaculture and the effects of pollution on coastal aquaculture development in Southeast Asia. *Mar. Poll. Bull.*, v. 20, p. 335-343, 1989.

Clifford, H. C. Marine shrimp pond management: A review. p. 110-137. in Chamberlain, G. W.; Villalón, J. & Wyban, J. (eds.), *Proceedings of the special session on shrimp farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1992.

Cortés-Altamirano, R. Microalgas dañinas en estanques de cultivo de camarón. p. 219-230, in Paéz-Osuna, F.; Hendrickx-Reners, M. E. & Cortés-Altamirano, R. (eds.), *Efecto de la calidad del agua y composición biológica sobre la producción en granjas camaronícolas*. 1994.

Cruz, P. S. Shrimp feed management: Principles and practices. Kabukiran Enterprises, Inc. Davao City, 57 p., 1991.

Csavas, I. Important factors in the success of shrimp farming. *World Aquaculture*, Baton Rouge, v. 25, p. 34-56, 1994.

Daniels, H. V. Disease control in shrimp ponds and hatcheries in Ecuador, pp.174-184, in *Anais do IV Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão*, João Pessoa, 1993.

Davis, D. A. & Arnold, C. R. The design, management and production of a recirculating raceway system for the production of marine shrimp. *Aquacult. Eng.*, v. 17, n. 3, p.193-211, 1998.

Decamp, O.; Conquest, L.; Forster, I. & Tacon, A. G. J. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: role of eukaryotic microorganisms, p. 79-86, in Lee, C. S. & O'Bryen, P. (eds.), *Microbial approaches to aquatic*

nutrition within environmentally sound aquaculture production systems. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 2002.

DNMET. "Normas Climatológicas (1961/1990)". Governo Federal, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Secretaria Nacional de Irrigação, Departamento Nacional de Meteorologia, 84 p., Brasília, 1992.

Devajara, T. N.; Yusoff, F. & Shariff, M. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products. Amsterdam. *Aquaculture*, v. 206, n.3-4, p. 254-256, 2002.

Douillet, P. A. & Langdon, C. J. Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostea gigas* (Thunberg) larvae. *Biol. Bull.*, v. 184, p. 36- 51, 1993.

Douillet, P. A. & Langdon, C. J. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster *Crassostea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*., v. 119, p. 25- 40, 1994.

DPA. MAPA & ABCC. *Plataforma tecnológica do camarão marinho cultivado*, 276 p, Brasília, 2001.

Ducklow, H. W.; Purdie, D. A.; Williams, P. J. L. & Davies, J. M. Bacterioplankton: a sink for carbon in a coastal marine plankton community. *Science*, v. 232, p. 865- 867, 1986.

Elliot, E. L.; Kaysner, C. A.; Jackson, L. & Tamplin, M.L. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* sp. In: U.S. Food and Drug Administration-FDA. In: *Bacteriological Analytical Manual on line*. Disponível em: < [http// www. cfsan. fda. gov/~bam/bam 3.html](http://www.cfsan.fda.gov/~bam/bam3.html) > Acesso em: 2002.

Fábregas, J.; Otero, A.; Morales, E.; Cordero, B. & Patiño, M. *Tetraselmis suecica* cultured in different nutrient concentrations varies in nutritional value to *Ariëmia* sp. *Aquaculture*, v. 143, p. 197-213, 1996.

Fast, A.W. & Menasveta, P. Some recent issues and innovations in marine shrimp pond culture. *Rev. Fish Sci.*, v. 8, p. 151-233. 2000.

Fuller, R. Probiotics in man and animals, a review. Washington, *J. Appl. Bacter.*, v. 66, p. 365-378, 1989.

Fuller, R. History and development of probiotics. p.1-8, in Fuller, R. (ed.), *Probiotics: the scientific basis*, R. Chapman & Hall, New York, 1992.

FUNCEME. *Mapeamento, levantamento e caracterização de áreas potenciais para implantação de projetos de carcinicultura no Norte e Nordeste do Brasil*. Governo do Estado do Ceará, Secretaria de Recursos Hídricos, Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos, 192p., Fortaleza, 1989.

Garrigues, D. & Wyban, J. Up to date advances on *Penaeus vannamei* maturation, nauplii and postlarvae production, pp. 217-235, in *Anais do IV Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão*. João Pessoa, 1993.

Garrigues, D. & Arevalo, G. An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus vannamei* postlarvae in Ecuador, p. 53-59, in Browdy, C. L. & Hopkins, J. S.(eds.), *Swimming through troubled water*. The World Aquaculture Society, Rouge Baton, 1995.

Gatesoupe, F. J. Further advances in the nutritional and antibacterial treatments of rotifers as food for turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L, p. 721-730, in Pawn, N. (ed.), *Aquaculture - a biotechnology in progress*, European Aquaculture Society. Bredene, 1989.

Gatesoupe, F. J. The continuous feeding of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, and control of the bacterial environment of rotifers. *Aquaculture*, v. 148, n. 89, p. 139-148, 1990.

Gatesoupe, F. J. The effect the three strains of lactic bacteria on the production rate of rotifers, *Brachionus plicatilis*, and their dietary value for larval turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture*, v. 96, p. 335- 342, 1991a.

Gatesoupe, F. J. *Bacillus* sp. spores: a new tool against early bacterial infection in turbot larvae. p. 409-411, in Lavens, P.; Jaspers, E. & Roelands, I. (eds.), *Larvi'91 Fish and Crustacean Larvicultura Symposium*, European Aquaculture Society, Special Publication, v. 24, Gent, 1991b.

Gatesoupe, F. J. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, v. 180, n.1- 2, p.147-165, 1999.

Gesteira, T. C. V.; Marques, L.C.; Martins, P.C.C. & Nunes, A. J. P. Situação atual da carcinicultura marinha no estado do Ceará. pp.1-9, in Anais do 1º "Workshop" do Estado do Ceará sobre Cultivo de Camarão Marinho, 198 p, v.1., 1996.

Gibson, L. F.; Woodworth, J. & George, A. M. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture*, v. 169, n. 1- 2, p. 111- 120, 1998.

Gildberg, A.; Johansen, A. & Bogwald, J. Growth and survival of Atlantic cod (*Salmosalar*) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, v. 138, p. 23- 34, 1995.

Gildberg, A., Mikkelsen, H, Sandeker, E. & Ringo, E. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hidrobiologia*, v. 352, p. 279- 285, 1997.

Goldburf, R. & Triplett, T. *Murky waters: environmental effects of the aquaculture in the United States*. The Environmental Defense Fund, EDF Publications. 196 p., Washington, 1997.

- Gómez-Gil, B. *Evaluation of potential probionts for use in penaeid shrimp larval culture*. Ph. D Thesis. University of Stirling, 269 p., Stirling, Scotland, 1998.
- Gómez-Gil, B.; Roque, A. & Turbull, J. F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, v. 191, n.1-3, p. 259-270, 2000.
- Gram, L.; Melchiorsen, J.; Spanggard, B.; Huber, I. & Nielsen, T. F. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible treatment of fish. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 65, n. 3, p. 969-973, 1999.
- Griffith, D. R. W. Microbiology and the role of probiotics in Ecuadorian shrimp hatcheries, p. 478, in Lavens, P.; Jaspers, E. & Roelands, I. (eds.), *Larvi'95 Fish and Shellfish Larvicultura Symposium*. European Aquaculture Society, Special Publication, Gent, v. 24, 1995.
- Hansen, G. J. & Olafsen, J. A. Bacterial colonization of cod (*Gadus morhua* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 55, p. 1435-1446, 1989.
- Hansen, G. J. & Olafsen, J. A. Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. *Microb. Ecol.*, v. 38, p. 1-26, 1999.
- Harzevili, A. R.; Vanduffel, H.; Dhert, P.; Swings, J. & Sorgeloos, P. Use of a potencial probiotic *Lactococcus lactis* AR21 strain for the enhancement of growth in the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller). *Aquaculture Res.*, v. 29, p. 411-417, 1998.
- Hargreaves, J. & Tucker, C. S. Evidence for control of water quality in channel catfish *Ictalurus punctatus* ponds by phytoplankton biomass and sediment oxygenation. *J. World Aquacult. Soc.*, v. 27, n. 1, p. 21-29, 1996.

Henriksen, K. & Kemp, W. M. Nitrification in estuarine and coastal marine sediments, p. 207-249, in Blackburn, T. H. & Sorensen, J. (eds.), *Nitrogen cycling in coastal marine environments*, New York, 1988.

Hepher, B. On the dynamics of phosphorus added to fishponds in Israel. *Limnol. Oceanogr.*, v. 3, p. 84-100, 1958.

Hevia, E. S.; Andújar & Fenoy, C. Uso de lecitinas florescentes para la identificación de microalgas marinas. *Revista Biol. Mar. Oceanogr.*, v. 32, n. 1, p. 67-75, 1999.

Hirasawa, Y. Economics of shrimp culture in Asia, p. 131-150, in Taki, Y.; Primavera, J. H. & Liobrera, J. A. (eds.), *Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawn/Shrimp*, Iloilo City, 1985.

Hopkins, J. S.; Sandifer, P. A.; Stokes, A. D. & Browdy, C. L. The effect of minimal water exchange on the water quality and production of intensive marine shrimp ponds, p. 33, in *Book of abstracts, aquaculture '91*, The World Aquaculture Society, Baton Rouge 1991.

Hopkins, J. S.; Hamilton, R.D.; Sandifer, P. A.; Stokes, A. D. & Browdy, C. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, Baton Rouge, v. 24, p. 304- 320, 1993.

Hopkins, J. S.; Sandifer, P. A. & Browdy, C. L. A review of water management regimes which abate the environmental impacts of shrimp farming, p. 157-166, in Browdy, C. L. & Hopkins, J. S. (eds.), *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1995a.

Hopkins, J. S.; Sandifer, P. A.; Browdy, C. L. & Holloway, J. D. Comparison of exchange and no-exchange water management for the intensive culture of marine shrimp. *J. Shellfish Res.*, v. 13, p. 441-445, 1996.

- Horowitz, A.; Horowitz, S. Sludge - An obstacle to shrimp health. *Global Aquaculture Advocate*, v. 2, n. 6, p. 27- 28, 2000a.
- Horowitz, A.; Horowitz, S. Microbial intervention in Aquaculture, p. 119- 131, in Lee, C. S. & O'Bryen, P. (eds.), *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 190 p., 2002.
- Huei-Meci, S.; I-Chui, L. & Young-Men, C. Mass mortality of prawn caused by *Alexandrium tamarense* blooming in a culture pond in Southern Taiwan, p. 329-333, in Smayda, T. J. & Shimizu, Y. (eds.), *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier Science Publications, New York, 1993.
- Intriago, P.; Krauss, E. & Barniol, R. The use of yeast and fungi as probiotics in *Penaeus vannamei* larviculture, p. 263, in *Aquaculture '98*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1998.
- Irianto, A. & Austin, B. Probiotics in Aquaculture. *J. Fish Dis.*, v. 25, n. 11, p. 633- 642, 2002a.
- Jakob, G. S.; Pruder, G. D. & Wang, J. K. Growth trial with the american oyster *Crassostea virginica* using shrimp pond water as feed. *J. World Aquacult. Soc.*, Baton Rouge, v. 24, p. 344-351, 1993.
- Jiasheng, X.; Mingyan, Z. & Bianchang, L. The formation and environmental characteristics of the largest red tide in North China, p. 257-262, in Smayda, T. J. & Shimizu, Y. (eds.), *Toxic phytoplankton blooms in the sea*, Elsevier Science Publications, New York, 1993.
- Jory, D. E. Feed management practices for a healthy pond environment, p. 118-143, in Browdy, C. L. & Hopkins, J. S. (eds.), *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1995.

Jory, D. E. Use of probiotics in penaeid shrimp growout. *Aquaculture Magazine*, v. 24, n.1, p.62-67, Jan- Feb. 1998. Disponível em: <<http://www.dec.ctu.edu.vn/sardi/probiotics/crustacean.htm/>>. Acesso em: 08/05/ 2002.

Karunasagar, I.; Pai, R.; Malathi, G. R. & Karunasagar, I. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. Amsterdam. *Aquaculture*, v. 128, p. 203- 209, 1994.

Kennish, M. J. *Ecology of estuaries: anthropogenic effects*. CRC Press, Boca Raton, 1992.

Kennedy, S. B.; Tucker, J. W.; Thoresen, M. & Sennett, D. G. Current methodology for the use of probiotic bacteria in the culture of marine fish larvae, p.286, in *Aquaculture '98*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1998a.

Kormas, K. A.; Kapisiris, K.; Thessalou-Lagaki, M. & Nicolaidou, A. Qualitative relationship between phytoplankton, bacteria and probiotics in an Aegean semi-enclosed embayment (Maliakos Gulf, Greece). *Aquatic Microbial Ecology*, v. 15, p. 255- 264, 2000.

Kozava, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. *Microbiol. Aliment. Nutr.*, v. 4, p. 121- 135, 1986.

Larson, J.; Folke, C. & Kautsky, N. Ecological limitations and appropriation of ecosystems support by shrimp farming in Colombja. *J. Env. Mgt.*, 1993.

Lightner, D. V. Diseases of cultured penaeid shrimp, p. 289-320, in Mcvey, J. D. (ed.), *CRC Handbook of mariculture*. CRC Press, Boca Raton, 1983.

Lightner, D.V. Diseases of cultured penaeid shrimps, p. 393-486, in Mcvey, J. D. (ed.), *CRC Handbook of mariculture*, CRC Press, Boca Raton, 1993.

Lightner, D.V. & Redman, R.M. Penaeid virus disease of the shrimp culture industry of the Americas, p. 569-588, in Fast, A. W. & Lester, J. (ed.), *Culture of marine shrimp: principles and practices*, Chap. 26, Amsterdam, 1992.

Machado, W. L. Avaliação do potencial salineiro para o cultivo de *Artêmia*, no Estado do Ceará (Brasil). *Bol. Ciên. Mar.*, v.39, 23 p. 1984.

Maclean, J. L. Indo-Pacific red tides, 1985-1988. *Marine Poll. Bull.*, v. 20, n. 7, p. 304-310, 1989.

Maeda, M. & Liao, I. C. Effect of bacterial population on the growth of a prawn larvae, *Penaeus monodon*. Kyoto, *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.*, v. 21, p. 25-29, 1992.

Maeda, M. Biocontrol of the larval rearing biotipe in aquaculture. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.*, (Supplement 1), p. 71-74, 1994.

Maeda, M.; Nogami, K.; Kanematsu, M. & Hirayama, K. The concept of biological control methods in aquaculture. *Hidrobiologia*, v. 358, p. 285- 290, 1997.

Maeda, M. Microbial processes in Aquaculture. Biocreate Press, Tsukuba, Japan and Derby, UK.1999.

Maeda, M. Microbial communities and their use in aquaculture, p. 61-78, in Lec, C. S. & O'Bryen, P. (eds.), *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, 190 p., Baton Rouge, 2002.

Maia, E. P. Progresso e perspectivas da carcinicultura marinha no Brasil, pp. 185-196, in *Anais do IV Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão*, João Pessoa, 1993.

Maia, E. P. & Rocha, I. P. *Cultivo de camarões marinhos no Brasil: realidades e perspectivas*. MCR Aquacultura Ltda, 50 p., João Pessoa, 1995.

Maia, E.P. Correntes técnicas de manejo da carcinicultura marinha brasileira. *Revista da ABCC*, Recife, v. 1, n. 1, p. 21-23, 1999.

Maia, E. P.; Bologna, A. S.; Olivera, A. & Cooreia, E. S. Preliminary studies on the super intensive culture of *Litopenaeus vannamei*. *Book of Abstracts of the World Aquaculture (WAS)*, Beijing, n. 1, 2002.

Maia, E. P.; Gesteira, T. C. V.; Rocha, C. A. S. & Fonteles-Filho, A. A. Preliminary analysis of a commercial probiotic in the intensive culture of *Litopenaeus vannamei* in northeastern Brazil, in Jory, D. E. (eds.), *Book of abstracts, responsible aquaculture, for a secure future (WAS)*, Salvador, n. 1, 2003a.

Maia, P. M.; Correia, E. S.; Bologna, A. S. & Olivera, A. Two years nutrients evaluation of a recirculating semi-intensive marine shrimp farming in Brazil, in Jory, D. E. (ed.), *Book of abstracts, responsible aquaculture, for a secure future (WAS)*. Salvador, n. 1, 2003b.

Maia, E. P.; Leal, A.; Correia, E. S; Pereira, A. L. & Olivera, A. Caracterização planctônica do cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei*. *Revista da ABCC.*, p. 60-62, 2003c.

Maia, E. P. Mass production of marine shrimp under full recirculation and zero water exchange conditions in the Northeastern region of Brazil, in Jory, D. E.(ed.), *Book of abstracts, responsible aquaculture, for a secure future (WAS)*, Salvador, n. 1, 2003.

Martins, M. L. R. Mapeamento, levantamento e caracterização de áreas prioritárias para a implantação de projetos de carcinicultura marinha no Norte e Nordeste do Brasil, pp.22-27, in

Anais do 1º "Workshop" do Estado do Ceará sobre Cultivo de Camarão Marinho. Fortaleza, 1996.

Martins, P. C. C. *Influência das condições ambientais e técnicas de produção sobre a incidência de enfermidades no cultivo de camarão marinho, Litopenaeus vannamei, no Estado do Ceará*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 117 p., São Carlos, 2003.

Masuda, K & Boyd, C. E. Chemistry of sediment pore water in aquaculture ponds built on clayey, Ultisoils at Auburn, Alabama. *J. World Aquacult. Soc.*, v. 25, p. 396-404, 1994a.

Masuda, K & Boyd, C. E. Phosphorus fractions in soil and water of aquaculture ponds built on clayey, Ultisoils at Auburn, Alabama. *J. World Aquacult. Soc.*, v. 25, p. 379-395, 1994b.

Maturin, L. J. & Peler, J. T. Aerobic Plate Count. in *Bacteriological analytical manual on line*. Food and Drugs Administration/Center for Food Safety and Applied Nutrition-CFSAN. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~bam/bam-3.html>. 2002.

Mcvey, J. P. *CRC Handbook of mariculture, Crustacean Aquaculture*, CRC Press, 2ª ed., v. 1., Boca Raton. 1993.

Mcintosh, R. P. Mudando paradigmas na carcinicultura: I - Descrição Geral. *Revista da ABCC*. Ano 1, n. 2, p. 30-34, 1999.

Mcintosh, R. P. Changing paradigms in shrimp farming. III - Pond design and operation considerations. *Global Aquaculture Advocate*, v. 3, n. 1, p. 42-45, 2000a.

Mcintosh, R. P. & Carpenter, N. Mudando paradigmas na carcinicultura: I e II. *Revista da ABCC*. Ano 2, n. 1, p. 36, 2000.

Mcintosh, R. P. & Avnimelech, Y. Global Shrimp OP: 2001 - Preliminary Report: New Production Technologies. *Global Aquaculture Advocate*, v. 4, n. 4, p. 54-56, 2001.

Meijer, L. E. & Avnimelech, Y. On the use of micro-electrodes in fish ponds sediments. *Aquacult. Eng.*, v. 21, p. 71-83, 1999

Mingyuan, Z. & Jiansheng, X. Red tide in shrimp ponds along the Bohai Sea, p. 363-367. in Smayda, T. J. & Shimizu, Y. (eds.), *Toxic phytoplankton blooms in the sea*, Elsevier Science Publications, New York, 1993.

Montgomery, D. C. *Designs and analysis of experiments*, 649 p., Ed. 3, John Wiley, New York, 1991.

Moriarty, D. J. W. Methodology for determining biomass and productivity of microorganisms in detrital food webs, p. 4-31, in Moriarty, D. J. W. & Pullin, R. S. V. (eds.), *Detritus and microbial ecology in aquaculture*, International Center for Living. Manila, 1987.

Moriarty, D. J. W. Control of luminous *Vibrio* species in penacid aquaculture ponds. *Aquaculture*, v. 164, p.351- 358, 1998.

Moriarty, D. J. W. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria, in *Anais do 8^o International Symposium on Microbial Ecology*, Queensland, 2000. Disponível em: <http://www.plato.acadiau.ca/isme/Symposium08/>. Acesso em: 27 Julho 2002.

Moss, S. M.; Steve, A. S.; Argue, B. J.; Otoshi, A. C.; Calderon, F. R. O. & Tacon, A. G. J. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture, p.1-

19, in Browdy, C. L. & Jory, D. E. (eds.), *The new wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp farming*, The World Aquaculture Society, 375 p., Baton Rouge, 2001.

- Moss, S. M. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture, p.1-18, in Lee, C. S. & O'Brien, P. (eds.), *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, 190 p., Baton Rouge, 2002.
- Munro, P. D.; Barbour, A. & Birkbeck, T. H. Comparison of the gut bacterial flora of start-feeding larval turbot reared under different conditions. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 77, p.560-566, 1994.
- Nogami, K. & Maeda, M. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v. 49, p. 2373-2376, 1992.
- Nunes, A. J. P. *Feeding dynamics of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea, Penaeidae) under semi-intensive culture in NE Brazil*, Master's Thesis, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canadá, 1995.
- Nunes, A. J. P. & Parsons, G. J. Feeding levels of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* in response to food dispersal, *J. World Aquacult. Soc.*, Baton Rouge, v. 30, n. 3, p. 331-348, 1999.
- Nunes, A. J. P. & Parsons, G. J. Effects of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*, predation and artificial feeding on the population dynamics of benthic polychaetes in tropical pond enclosures. *Aquaculture*, v. 183, p. 125-147, 2000.
- Olsson, J. C.; Westerdahl, A. Conway, P. L. & Kjelleberg, S. Intestinal colonization potencial of turbot (*Scophthalmus maximus*) and dab (*Limanda limada*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 58, p. 551-556, 1992.
- Olivera, A. Os moluscos bivalves e a biorremediação dos impactos da carcinicultura. *Panorama na Aqüicultura*, p. 37-39, 2001.
- Olivera, A. Valor nutricional das microalgas. *Revista da ABCC*. Ano 4, n. 2, p. 63-69. 2002.

Olivera, A.; Vinatea, L.; Seiffert, W.; Lima, M.; Marinho, M. & Bouvy, M. Caracterização preliminar da qualidade da água nos canais de abastecimento e drenagem de fazendas de cultivo de *Litopenaeus vannamei* com sistemas de recirculação de água. *Revista da ABCC*. Ano 5, n. 2, p. 83-87. 2003.

Paez-Osuna, F.; Guerrero-Galvan, S. R.; Ruiz-Fernandez, A. C. & Espinoza-Angulo, R. Fluxes and mass balances of nutrients in a semi-intensive shrimp farm in North-Western Mexico. *Marine Poll. Bull.*, v. 34, n. 5, p. 290-297, 1997.

Paez-Osuna, F.; Guerrero-Galvan, S. R. & Ruiz-Fernandez, A. C. The environmental impact of shrimp aquaculture and the coastal pollution in Mexico. *Marine Poll. Bull.*, v. 36, n. 1, p. 65- 75, 1998.

Paez-Osuna, F.; Guerrero-Galvan, S. R. & Ruiz-Fernandez, A. C. Discharge of nutrients from shrimp farming to coastal waters of the Gulf of California. *Marine Poll. Bull.*, v. 38, n. 7, p. 65-75, 1999.

Paerl, H. W. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (*Cyanobacteria*), p. 261-315, in Sandgren, C. D. (ed.), *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, 1988.

Paerl, H. & Tucker, C. S. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, v. 26, n. 2, p. 109-131, 1995.

Parker, R. B. Probiotics, the other half of the antimicrobial story. *Anim. Nutr. Health*, v. 29, p. 4-8, 1974.

Primavera, J. H. Intensive prawn farming in the Philippines: ecological, social and economic implications. Stockholm, *Ambio*, v. 20, n. 1, p. 28-33, 1991.

Primavera, J. H.; Lea Master, B. R. & Moss, S. M. Environmental induction of *Vibrio harveyi* serum agglutinins in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, in *Abstracts of the 8th Congress of the International Society of Developmental and Comparative Immunology*, Developmental and Comparative Immunology, v. 24, (Suplement 1). 2000.

Pruder, G. D. Marine shrimp pond effluent: characterization and environmental impact. *The World Aquaculture Society*, p. 187-189, Baton Rouge, 1992.

Rengpipat, S.; Phianphak, W.; Piyatiratitivorakul, S. & Menasveta, P. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, v. 167, n.3-4, p. 301- 313, 1998.

Rengpipat, S.; Rukpratanporn, S.; Piyatiratitivorakul, S. & Menasveta, P. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiotic bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, v. 191, n. 4, p. 271-288, 2000.

Riquelme, C.; Araya, R.; Vergara, N.; Rojas, A.; Guaita, M. & Candia, M. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Amsterdam. *Aquaculture*, v. 154, n.1, p. 17-26, 1997.

Riquelme, C.; Araya, R. & Escribano, R. Selective incorporation of bacteria by *Argopecten purpuratus* larvae implications for the use of probiotics in culturing systems of the Chilean scallop. *Aquaculture*, v.181, n. 1-2, p. 25-36, 2000.

Ringo, E.; Strom, E. & Tabacheck, J. A. Intestinal microflora of salmonids: A review. *Aquacult. Res.*, v. 26, p.773-789,1995.

Ripl, W. Biochemical oxidation of polluted lake sediments with nitrate: a new lake restation method. *Ambio*, v. 5, p. 132-135. 1976.

- Ritvo, G.; Speed, M. F.; Neill, W. H. Dixon, J. B.; Lawrence, A. L. & Samocha, T. M. Regression analysis of soil chemical composition for two shrimp farms in Texas. *J. Aquacult. Soc.*, v.30, n. 1, p. 26-35, 1999
- Rivas, J. F. El uso de comedores (charolas de alimentación) en lagunas de cultivo de camarón en una finca de Honduras, pp. 194-195, in Alston, D. E.; Green, B. W. & Clifford, H. C. (eds.), *Memórias do V Simpósio Centroamericano de Acuicultura*, Asociación Nacional de Acuicultores de Honduras, Tegucigalpa, 1997.
- Rocha, I. P. & Maia, E. P. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento da carcinicultura marinha, pp.213-236, in *Anais do Aquicultura Brasil '98*, v.1, Recife, 1998.
- Rocha, I. P. The Brazilian Shrimp Farming Industry, p. 19-30, in Jory, D, E. (ed.), *Responsible aquaculture for a secure future: proceedings of the special session on shrimp farming*. The World Aquaculture Society, 300 p., Baton Rouge, 2003.
- Rocha, I. P., Rodrigues, J. & Amorim, L. A Carcinicultura Brasileira em 2003. *Revista da ABCC*, Recife, n.1, p. 30-36, 2004.
- Rosenthal, H. & Black, E. A. Recirculation systems in aquaculture, p. 284-294, in Wang, J. K. (ed.), *Proceedings of an Aquacultural Engineering Conference*, American Society of Agricultural Engineering, St. Joseph, 1993.
- Ruiz-Ponte, C.; Samain, J. F.; Sanchez, J. L. & Nicolas, J. L. The benefit of a *Roseobacter* species on the survival of scallop larvae. *Mar. Biotechnol.*, v. 1, p.52-59, 1999.
- Saarela, M.; Mogensen, G.; Fonden, R.; Matto, J. & Mattila-Sandholm, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *J. Biotechnol.*, Amsterdam, v. 84, n.3, p.197-215, 2000.

Salame, M. Feeding trays in penacid shrimp ponds. *Aquaculture Magazine*, Baton Rouge, v. 19, p. 59-63, 1993.

Samocha, M. T.; Lawrence, A. L.; Collins, C. R.; Emberson, C. R.; Harvin, J. L. & Wyk, P. M. Van. Development of integrated, environmentally sound, inland shrimp production technologies for *Litopenaeus vannamei*, p. 64-75, in Browdy, C. L. & Jory, D. E. (eds), *The New wave, proceedings of the special session on sustainable shrimp farming*, World Aquaculture Society, 375 p., Baton Rouge, 2001.

Samocha, M. T.; Gady, R.; McMahon, D. Z.; Mogollon, M.; Smiley, R. A.; Blacher, T. S.; Wind, A. Figueras, E. & Valasco, M. The role of shrimp nursery systems to improve production efficiency of shrimp farms, p.179-196, in Jory, D, E.(ed.), *Responsible aquaculture for a secure future: proceedings of the special session on shrimp farming*. The World Aquaculture Society, 300 p., Baton Rouge, 2003.

Sandifer, P.A.; Hopkins, J. S. & Stokes, A. D. Intensification of shrimp culture in earthen ponds in South Carolina: Progress and prospects. *J. World Aquacult. Soc.*, v.19, p. 218-226, 1988.

Sandifer, P.A.; Stokes, A. D.; Hopkins, J. S.; & Smiley, R. A. Further intensification of pond shrimp culture in South Carolina, p. 84-95, in Sandifer, P. A. (ed.), *Shrimp culture in North America and the Caribbean*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1991.

Santos, M. C. F. Vaz. Diagnóstico Ambiental para a Carcinocultura. in *Zoneamento costeiro do estado do Maranhão. FSADU*, n. 1., Maranhão, 2003.

Scholz, U.; Garcia, D. G.; Rique, D.; Cruz Suarez, L. E.; Vargas, Albores, F. & Latchford, J. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 176, n. 3-4, p. 271- 283, 1999.

Sivakami, S. Observations on the effect of fertilizer and feed applications on the growth of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Indian J. Fish.*, v. 35, p. 18-25, 1988.

Smith, V. H. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*, v. 221, p. 669-671, 1983.

Smith, D. W. Mechanistic simulation modeling of phytoplankton-oxygen dynamics in aquaculture ponds, p. 436-459, in Brune, D. E. & Tomasso, J. R. (eds.), *Aquaculture and water quality*, *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, 1991.

Stapomvanit, K. *The environmental impacts of shrimp farm effluent*, Master's Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok, 1993.

Stanford, C. *A guide to phytoplankton of aquaculture ponds. collection, analysis and identification*, Department of Primary Resources, 59 p., Queensland, 1999.

Stem, M. M. Aquacultura in Bahia: Opportunity for investments, p. 47-53, in Jory, D. E. (ed.), *Responsible aquaculture for a secure future: proceedings of the special session on shrimp farming*. The World Aquaculture Society, 300 p., Baton Rouge, 2003.

Sung, H. H.; Hsu, H. C.; Tsai, F. M.; Ting, Y. Y. & Chao, W. L. Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Amsterdam. Aquaculture*, v. 192, p. 101-110, 2001.

Sung, H. H.; Lin, S. C.; Chen, W. L.; Ting, Y. Y. & Chao, W. L. Influence of TimsenTM on *Vibrio* populations of culture pond water and hepatopancreas and on the hemocytic activity of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, v. 219, p. 123-133, 2003.

Tacon, A. G. J. Feed formulation and on-farm feed management, p. 61-74, in New, M. B.; Tacon, A. G. J. & Casas, I. (eds.), *Farm-made aquafeeds, proceedings of the FAO/AADCP regional expert consultation on farm-made aquafeeds*. FAO-RAPA/AADCP, Bangkok, 1993.

Takahashi, Y.; Itami, T.; Maeda, M. & Kondo, M. Bacterial and viral diseases of Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) in Japan. *Fish Pathol.*, v. 33, p. 357-364, 1998.

Tannock, G. W. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents, and probiotics, p. 434-465, in Mackie, R. I.; Withe, B. A.; Isaacson, R. E. (eds.), *Gastrointestinal microbiology. v. 2. gastrointestinal microbes and host interactions*. Chapman and Hall Microbiology Series, International Thomson Publishing, New York, 1997.

Teichert-Coddington, D. Characterization of shrimp farm effluents in Honduras and chemical budget of selected nutrients, pp. 130-146, in *Simposio Centroamericano sobre Camaron Cultivado. "Desarrollo en Armonia con el Medio Ambiente" III*, Tegucigalpa, 1995.

Thompson, F. L.; Abreu, P. C.; Cavalli, R. The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. *Aquaculture*, v. 174, p. 139-153, 1999.

Timmermans, L. P. M. Early development and differentiation in fish. *Sarsia*, v. 72, p. 331-339, 1987.

Torgon, L. C. Floração de algas: composição, causas e conseqüências. *Insula*, v. 19, p. 15-34, 1989.

Towner, K. J. The genetics of resistance, p. 159-167, in Greenwood, D. (ed.), *Antimicrobial chemotherapy*. Univ. Press, Oxford, 1995.

- Vadstein, O. The use of immunostimulation in marine larviculture: possibilities and challenges. *Aquaculture*, v. 155, p. 401-407, 1997.
- Viacava, M. Feeder trays for commercial shrimp farming in Peru. *World Aquacult.*, v. 26, p. 11-17, 1995.
- Vieira, R. H. S. F.; Gesteira, T.C.V.; Marques, L.C.; Martins, P.C.C.; Monteiro, C.M. & Carvalho, R.L. *Vibrio* spp. e suas implicações sobre larviculturas de camarões marinhos. *Arq. Ciênc. Mar.* v. 33, p. 107-112, 2000.
- Vinatea, L.A. *Princípios químicos de qualidade de água*. Editora da UFSC, 166 p., Florianópolis, 1997.
- Vinatea, L.; Olivera, A.; Sciffert, W.; Lima, M.; Marinho, M. & Bouvy, M. Characterization of *Litopenaeus vannamei* farm effluents in Brazil northeast area, in Jory, D, E. (ed.), *Book of abstracts, responsible aquaculture, for a secure future*, World Aquaculture Society (WAS), n. 1, Salvador, 2003.
- Von Sperling, M. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. DESA-UFMG, 2 ed, 243 p., Belo Horizonte, 1996.
- Wainberg, A. A. & Câmara, M.R. Carcinicultura no Litoral Oriental do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil: Interações ambientais e alternativas mitigadoras, pp. 527-544, in *Anais do Aquicultura Brasil'98*, v. 2, Recife, 1998.
- Wang, J. K. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. *Aquacult. Eng.*, v. 9, p. 61-93, 1990.
- Weston, D. P. The effects of aquaculture on indigenous biota, p. 534-567, in Brune, D. E. & Tomasso, J. R. (eds.), *Aquaculture and Water Quality*, *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, 1991.

Weston, D.P. Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in Aquaculture, p. 140-165, in Baird, D.; Beveridge, M. V. M.; Kelly, L.A. & Muir, J. F. (eds.), *Aquaculture and water resource management*. Blackwell, Oxford, 1996.

Winer, B. J. *Statistical principles in experimental design*. McGraw-Hill, Ed. 4, 907 p., New York, 1971.

Zherdmant, M. T.; San Miguel, L.; Serrano, J.; Danoso, E. & Miahle, E. Estudio y utilización de probióticos en el Ecuador. *Panorama Acuicola*, v. 2, n. 28, 1997.