



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**ACOMPANHAMENTO DAS ATIVIDADES NO SETOR DE MICROALGAS DO
LABORATÓRIO DE LARVICULTURA DE CAMARÃO *Litopenaeus*
vannamei SEA LIFE LTDA, EM CAJUEIRO DA PRAIA, PIAUÍ**

VERA LÚCIA DE ASSIS BEZERRA

**Relatório de Estágio Supervisionado apresentado ao
Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará,
como parte das exigências para a obtenção do título de
Engenheiro de Pesca.**

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
DEZEMBRO/2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B469a Bezerra, Vera Lúcia de Assis.

Acompanhamento das atividades no setor de microalgas do laboratório de larvicultura de Camarão Litopenaeus vannamei Sea Life Ltda., em Cajueiro da Praia, Piauí / Vera Lúcia de Assis Bezerra. – 2008.

30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2008.

Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.

Orientador Técnico: Prof. Me. Jaime Quesada.

1. Camarões - Criação. 2. Microalga - Brasil, Nordeste. 3. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Silvana Saker Sampaio, Ph.D.
Orientadora

Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias, D.Sc.
Membro

Eng. de Pesca Marcelo Carneiro de Freitas, M.Sc.
Membro

ORIENTADOR TÉCNICO

Biólogo Jaime Quesada, M.Sc.
Diretor Administrativo do Laboratório Sea Life

VISTO

Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc.
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, D.Sc.
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Federal do Ceará - UFC, ao Centro de Ciências Agrárias - CCA, ao Departamento de Engenharia de Pesca.

À professora e orientadora Silvana Saker Sampaio pela orientação, compreensão e apoio nos momentos de dificuldades quando da elaboração deste trabalho, sendo não só uma orientadora, mas uma amiga.

Ao orientador técnico, Biólogo Jaime Quesada, gerente de produção do Laboratório Sea Life Ltda., por toda ajuda e incentivo.

Ao diretor administrativo do laboratório Sea Life, senhor Cláudio Henrique Coelho Carvalho, por ter aceito o pedido de estágio que possibilitou este trabalho.

A todos os funcionários do Laboratório Sea Life Ltda., pela troca de conhecimento no período do estágio, especialmente, a Ivana Damasceno Manuel Damasceno e a Ana Clarine Damasceno.

Ao professor Francisco Hiran Farias Costa, que me indicou para o estágio e me deu sugestões valiosas.

À banca examinadora, pelas essenciais sugestões.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação.

A todos os amigos, que conheci no decorrer do curso e que contribuíram na minha formação acadêmica e pessoal. Especialmente, a Andréa França, Patrícia Mara, Patrícia Raquel, Carla Luciana, Fernanda Silva, Maria Isonilde, Vilânia Maria, Ítalo Jefferson, Francisco Hermes, Robson Nogueira, Valmir Barros e Alex Miller.

Ao meu esposo, Washington Moura Bezerra, que foi o meu maior incentivador e me apoiou durante todo o curso, por seu amor e paciência.

Aos meus filhos Ana Beatriz, Maria Clara e Emmanuel Levi pelo imenso amor e compreensão nos momentos em que estiveram privados de minha presença.

A todos os meus parentes, pai, tia, irmãs, primas e cunhada, os quais me ajudaram, cuidando dos meus filhos nos momentos em que estive ausente.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	iii
SUMÁRIO	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE TRABALHO	6
2.1 Sistema de captação, distribuição e tratamento de água	7
2.2 Unidade de reprodução	7
2.3 Larvicultura	8
2.4 Berçário	8
2.5 Setor de microalgas	8
3 CULTIVO DE MICROALGAS	10
3.1 Preparação do meio de cultura	10
3.2 Cepário	11
3.3 Cultivo massivo interno	14
3.4 Cultivo externo em caixas e cilindros	15
3.4.1 Limpeza e preparação dos cilindros	17
3.4.2 Limpeza e preparação das caixas	18
3.5 Determinação da densidade celular	18
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
5 REFERÊNCIAS	23

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Diatomácea <i>Chaetoceros gracilis</i> . Fonte: INSTANT ALGAE (2008)	3
Figura 2 - Curva de crescimento de microalgas em sistema fechado.	4
Figura 3 - Localização do Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	6
Figura 4 - Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	7
Figura 5 - Setor de produção de microalgas no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	9
Figura 6 - Cepário no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	12
Figura 7 - Sala do cepário preparada para o procedimento de inoculação da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> , no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	13
Figura 8 - Esquema de inoculação da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> realizado no cepário do Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	14
Figura 9 - Cultivo massivo interno da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	15
Figura 10 - Caixas e cilindros utilizados no cultivo externo da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	16

- Figura 11 - Esquema da contagem da microalga *Chaetoceros gracilis* no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.a, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí. 20
- Figura 12 - Modelo do formulário Residual/Adição de Microalgas, Renovação de Água, utilizado para o cálculo da densidade celular Sea Life - Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei*, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí. 21

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Ingredientes e quantidades utilizados no preparo das soluções estoques usadas no meio de Guillard f/2 para cultivo de <i>Chaetoceros gracilis</i> , no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	11
Tabela 2 - Enriquecimento das bolsas plásticas utilizadas no cultivo da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> , no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	15
Tabela 3 - Enriquecimento dos cilindros e das caixas, no cultivo da microalga <i>Chaetoceros gracilis</i> , no Laboratório de Larvicultura de Camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.	17

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo descrever as atividades acompanhadas no Setor de Microalgas do Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí, com ênfase na contribuição do cultivo de microalgas para o setor de larvicultura. A espécie de microalga marinha *Chaetoceros gracilis* foi cultivada como alimento natural para as larvas de camarão *Litopenaeus vannamei* em duas fases de cultivo, um interno e o outro externo. A fase de cultivo interno foi desenvolvida em ambiente controlado com temperatura de 20 a 22°C e iluminação constante, e o meio de cultura utilizado foi autoclavado a 121°C. As microalgas foram replicadas a partir de tubos de ensaio até bolsas plásticas de 15 litros. Já o cultivo externo ocorreu em cilindros de fibra de vidro transparentes de 600 e 800 litros, que após três dias foram usados para inocular caixas de fibra de vidro de 1.800 litros, onde permaneciam por mais três dias para então serem destinadas ao setor de larvicultura para servir de alimento para as larvas de camarão *L. vannamei*. Durante este Estágio Supervisionado foi possível observar a importância do manejo correto no cultivo de microalgas, através do conhecimento de técnicas adequadas e do uso de instalações especialmente destinadas a este fim. Uma oportunidade dessa natureza possibilita a integração entre os conhecimentos teóricos e práticos, que se reveste de grande importância tanto para uma formação acadêmica plena e eficaz, quanto para uma atuação profissional adequada.

**ACOMPANHAMENTO DAS ATIVIDADES DO SETOR DE MICROALGAS NO
LABORATÓRIO DE LARVICULTURA DE CAMARÃO *Litopenaeus*
vannamei SEA LIFE LTDA, EM CAJUEIRO DA PRAIA, PIAUÍ**

VERA LÚCIA DE ASSIS BEZERRA

1 INTRODUÇÃO

A aqüicultura é uma atividade que vem apresentando um desenvolvimento econômico e social crescente nos últimos anos, comparado com a produção oriunda da pesca ou com qualquer outro sistema de produção de alimento de origem animal em fazendas terrestres. Dessa maneira, a aqüicultura contribui cada vez mais significativamente para o comércio mundial de pescado e se supõe que continuará a crescer, devido ao declínio do suprimento obtido através da pesca extrativa, o qual vem se acentuando desde a década de 90, que foi marcada pela redução em volume dos produtos provenientes do extrativismo pesqueiro. Em contraposição a esse quadro, a aqüicultura mundial tem crescido a uma taxa média anual de 8,8% de 1970 a 2004, e de um modo geral, a América Latina e a região do Caribe vêm apresentando as mais elevadas taxas de crescimento, da ordem de 21,3%. A produção da aqüicultura e o comércio de produtos aqüícolas continuam a crescer em ritmo acelerado respondendo à crescente demanda global por peixes, camarões e moluscos. Os países em desenvolvimento dominam a produção e o comércio da aqüicultura, contribuindo com mais de 80% da produção e 50% do valor de produtos aquáticos negociados internacionalmente. Em 2004, a produção mundial de organismos aquáticos, incluindo as algas, atingiu 59,4 milhões de toneladas, gerando divisas no valor de 70,3 bilhões de dólares (FAO, 2007).

Dentro da aqüicultura, a carcinicultura tem se destacado no Brasil, principalmente a partir da introdução da espécie *Litopenaeus vannamei*, importada da costa do Pacífico. Essa espécie se adaptou às condições

tropicais com bastante sucesso (ROCHA, 2004). Apesar dos problemas enfrentados pelo segmento com relação ao surgimento de doenças, "antidumping", desvalorização da moeda e outros, a atividade representa uma alternativa para o atendimento da crescente demanda mundial por camarão.

Assim, a carcinicultura é uma atividade socioeconômica importante, com reflexos positivos que têm favorecido muitas regiões. O sucesso da carcinicultura no Nordeste brasileiro tem sido atribuído à elevada rentabilidade, crescente demanda por produtos marinhos de alto valor econômico no mercado internacional, limitações e flutuações da produção proveniente da pesca extrativa, capacidade para gerar divisas e emprego, melhoria de qualidade da ração utilizada e surgimento de laboratórios comerciais de larvicultura (LISBOA-FILHO; CARLINI-JUNIOR, 2004).

O êxito de um laboratório comercial de produção de pós-larvas de camarão depende da obtenção e da produção em larga escala de espécies de microalgas que satisfaçam os requerimentos nutricionais desses animais, uma vez que em suas primeiras etapas de vida, as microalgas marinhas constituem sua principal fonte de alimento (MORALES; VELLOTTI, s.d.).

As microalgas consistem em fontes de macronutrientes (proteínas, lipídios e carboidratos) e de micronutrientes (vitaminas e minerais), sendo utilizadas diretamente na alimentação de camarões a partir do estágio larval zoea. Além disso, as microalgas também servem de alimento para outros organismos utilizados na larvicultura de camarão como é o caso de rotíferos e artêmias, funcionam como recicladores de compostos nitrogenados eliminados pelas larvas e também seqüestram ou quelam alguns metais presentes na coluna d'água, que servem de alimento para as bactérias (BARBIERI JR; OSTRENSKI-NETO, 2001).

A diatomácea *Chaetoceros gracilis* (Figura 1), pertencente à classe Bacillariophyceae, é a mais utilizada em larviculturas de crustáceos, devido a vantagens como facilidade de produção, crescimento rápido e elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados. Morfologicamente, elas apresentam forma retangular sendo dotadas de setas rígidas, com tamanho variando entre 2,0 e 13,0 μm (BARBIERI JR; OSTRENSKI-NETO, 2001).



Figura 1 - Diatomácea *Chaetoceros gracilis*.
Fonte: INSTANT ALGAE (2008)

De acordo com Tobias-Quinitio e Villegas (1982), a diatomácea *C. gracilis* apresenta 23,94% de proteína, 8,69% de lipídios e 19,01% de carboidratos.

Moura-Júnior et al. (2006) cultivaram *C. gracilis* de forma semi-intensivo com temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminação constante (24 h) e determinaram sua composição química. Os seguintes resultados foram encontrados: $0,03 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de proteína solúvel, $2,87 \pm 0,31 \text{ mg L}^{-1}$ de aminoácidos totais livres e $0,06 \pm 0,001 \text{ mg L}^{-1}$ de carboidrato solúvel. Os teores médios dos sais analisados foram: nitrato ($0,05 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$), sódio ($5,18 \text{ mg L}^{-1}$), potássio ($0,55 \text{ mg L}^{-1}$), fósforo ($0,13 \text{ mg L}^{-1}$), magnésio ($2,13 \pm 0,10 \text{ mg L}^{-1}$) e enxofre ($0,38 \pm 0,13 \text{ mg L}^{-1}$). Como os extratos foram preparados com 1 g da microalga seca em 10 mL de água destilada, os resultados de proteína solúvel, aminoácidos totais livres e carboidrato solúvel, expressos em micrograma (μg) por grama (g) de microalga seca, foram $0,3 \pm 0,1$; $28,7 \pm 3,1$ e $0,6 \pm 0,01$, respectivamente.

As fases de crescimento de microalgas em um sistema fechado estão mostradas na Figura 2. No cultivo estacionário, o termo crescimento refere-se às mudanças pelas quais a cultura passa e é composto por fases distintas, que diferem não só no número de células presentes na cultura, mas também na sua

eficiência como alimento dos estádios larvais de camarões (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001).

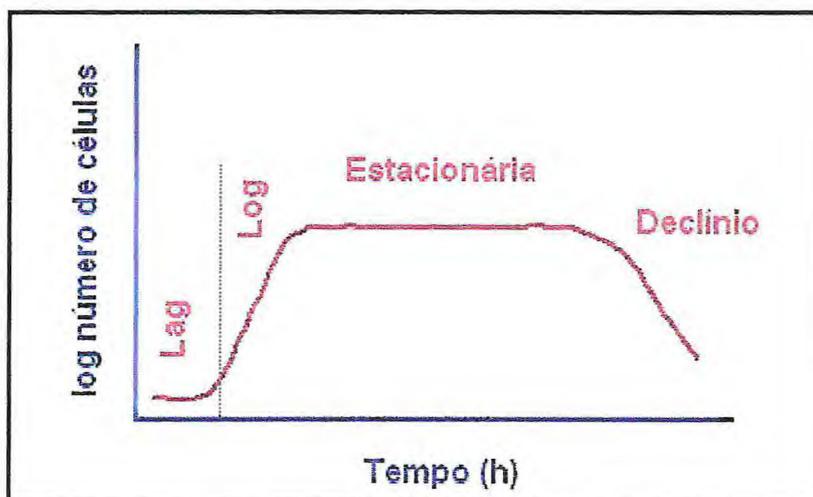


Figura 2. Curva de crescimento de microalgas em sistema fechado.

Na fase de indução ou lag, a maioria das células é viável, mas não está em condições de se dividir imediatamente, talvez porque as enzimas tenham diminuído e atingido concentrações insuficientes para permitir a divisão celular. Nesse período, há necessidade do equilíbrio do ácido glicólico no meio para que os produtos da fixação do carbono se tornem disponíveis ao crescimento. Na fase exponencial ou log, as células começam a se dividir regularmente a uma taxa constante. A taxa de crescimento é máxima nessa fase e varia conforme a espécie algal. Na fase de redução do crescimento, o tempo requerido para a duplicação celular aumenta, reduzindo assim a taxa de crescimento. Isso pode ocorrer devido à diminuição na disponibilidade de nutrientes no meio, aumento da concentração de metabólitos no meio ou alterações em diversos fatores ambientais, como pH, temperatura, entre outros, que podem reduzir a atividade fotossintética. Essa redução no crescimento pode ainda ser decorrente da elevação da densidade populacional e da conseqüente diminuição da disponibilidade de luz por unidade celular (auto-sombreamento). Na fase estacionária, a população não aumenta em virtude de a taxa de crescimento ser compensada pela taxa de mortalidade. Vários fatores influenciam como a exaustão de nutrientes (nitrato, fosfato e ferro), diminuição

do CO₂ ou do O₂ no meio e alterações do pH. Finalmente, na fase senescente ou de declínio, a taxa de mortalidade das células é maior que a taxa de multiplicação e formação de novas células. O número de células viáveis decresce geometricamente (BARBIERI JR; OSTRENSKI-NETO, 2001).

Este Estágio Supervisionado teve como objetivo acompanhar o processo de produção de microalgas no Laboratório Sea Life, por ser de fundamental importância o conhecimento das técnicas de produção de alimento vivo em uma larvicultura para o desenvolvimento da produção de camarões.

unidade, dezenove tanques circulares de alvenaria com capacidade de 10 mil litros eram usados para quarentena (três), maturação (doze) e desova (quatro).

2.3 Unidade de larvicultura

A unidade de larvicultura contava com dois galpões de alvenaria. No galpão I existiam vinte tanques retangulares de alvenaria com capacidade para 10 mil litros cada um, e no galpão II, doze tanques retangulares de alvenaria com capacidade para 15 mil litros cada um. Ainda, faziam parte dessa unidade, dois setores: o setor de microscopia e o setor de produção de artêmia, os quais estavam interligados ao galpão II. No setor de artêmia existiam quinze “carboys” com capacidade de 400 litros cada.

Os camarões provenientes do setor de reprodução, desde a fase náuplio até pós-larva (Pl₅) foram estocados nessa unidade.

2.4 Berçário

O berçário estava localizado em uma área aberta, com dez tanques retangulares de alvenaria com capacidade 55 mil litros e volume útil de 35 mil litros cada um. Esse setor recebia Pl₆ até Pl₁₅, as quais eram encaminhadas para comercialização.

2.5 Setor de produção de microalgas

O setor de produção de microalgas era constituído de duas áreas distintas: uma aberta e a outra fechada (Figura 5).

A área aberta possuía dez cilindros de 600 L, oito de 800 L e 36 caixas de fibra de vidro de 1.800 L, os quais eram dotados de aeração constante produzida por dois sopradores com potência de 7.5 cv. A água utilizada nesses recipientes apresentava uma salinidade de 35‰.

A área fechada era composta por quatro salas, denominadas: sala de químicos, sala de autoclavagem, sala do cepário e sala dos massivos.

A entrada da área fechada permitia o acesso à sala de químicos, onde eram preparadas as soluções de vitaminas, silicatos, traços de metais, nitratos

e fosfatos, utilizadas no meio de cultura. Nesse local também se realizava a lavagem da vidraria. Essa área estava interligada a sala de autoclavagem, onde as vidrarias e o meio de cultura eram esterilizados, e a sala do cepário, onde ficava a cultura pura distribuída em tubos de ensaio e em erlenmeyers de 250 mL e 1.000 mL. Nesses recipientes de maior volume, a cultura era permanentemente aerada. A sala do cepário era refrigerada para manter a temperatura em torno de 20°C e iluminada por lâmpadas fluorescentes 40 Watts que permaneciam acessas 24 horas.

Na sala dos massivos estavam armazenadas as bolsas plásticas de 15 litros, contendo os inóculos de microalgas. Essa área recebia iluminação e aeração continuamente, além da refrigeração constante para manter a temperatura em torno de 24°C.



Figura 5 - Setor de produção de microalgas no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

3. CULTIVO DE MICROALGAS

No setor de produção de microalgas do Laboratório Sea Life, a espécie *Chaetoceros gracilis* foi cultivada em larga escala e utilizada como alimento vivo durante as primeiras fases larvais (zoea e mysis) do camarão *Litopenaeus vannamei*.

3.1 Meio de cultura

Para promover o crescimento e a reprodução das microalgas são usados meios de cultura. Em condições de cultivo, as microalgas absorveriam rapidamente os nutrientes presentes naturalmente na água do mar e logo atingiriam a fase de declínio. Assim, os meios de cultura possibilitam a manutenção de densidades algais em concentrações muito superiores aquelas normalmente encontradas na natureza. Além dos nutrientes, principalmente nitrogênio, fósforo e dióxido de carbono, que elas absorvem diretamente da água através de suas membranas celulares para obterem átomos de carbono e se multiplicarem, elas também precisam de luz para realizar a fotossíntese. Apenas a título de exemplificação, as concentrações de nitrogênio em um meio de cultura de microalgas podem ser de cem a mil vezes superiores a da água do mar (BARBIERI JR; OSTRENSKI-NETO, 2001).

O meio de cultura utilizado no Laboratório Sea Life foi o meio de Guillard *f/2* modificado. Esse meio foi preparado a partir das soluções estoques de vitaminas e minerais, sendo ideal para o crescimento da microalga *C. gracilis*. A Tabela 1 apresenta a relação de ingredientes e quantidades utilizados no preparo das soluções estoques usadas no meio de Guillard *f/2* para o cultivo de *C. gracilis*.

Tabela 1 - Ingredientes e quantidades utilizados no preparo das soluções estoques usadas no meio de Guillard f/2 para cultivo de *Chaetoceros gracilis*, no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

Ingredientes	Quantidade
Nitrato e Fosfato	
Nitrato de sódio (g)	300,0
Fosfato de sódio monobásico (g)	20,0
Água mineral (L)	1,0
Traços de metais	
EDTA dissódico (g)	19,25
Cloreto de ferro (g)	12,50
Sulfato de cobre (g)	0,04
Sulfato de zinco (g)	0,08
Cloreto de cobalto (g)	0,04
Cloreto de manganês (g)	0,71
Molibdato de sódio (g)	0,06
Água mineral (L)	1,0
Vitaminas	
Tiamina (g)	0,04
Biotina (g)	0,01
Cianocobalamina (B ₁₂) (g)	0,01
Água mineral (L)	1,0
Solução de silicatos	
Metasilicato (g)	32,5
Água mineral (L)	1,0
Tampão Tris	
Tri-(hidroximetil)-aminometano	250,0
Água mineral (L)	1,0

3.2 Cepário

O cepário consistia em uma sala pequena, dotada de ar condicionado independente, com temperatura ambiente mantida entre 20 e 22°C. A iluminação era fornecida ininterruptamente por lâmpadas fluorescentes de 40 Watts, fixadas nas paredes poucos centímetros acima das prateleiras de vidro onde as cepas eram mantidas (Figura 6).



Figura 6 - Cepário no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

O Laboratório Sea Life adotava medidas para garantir condições adequadas de manutenção das cepas como por exemplo restringir a entrada de pessoas na sala do cepário.

Neste setor a cepa da diatomácea *C. gracilis* foi mantida, e a partir dos inóculos de menor volume, os cultivos em massa foram iniciados.

As cepas foram mantidas em placas de Petri contendo o meio Guillard f/2 com adição de ágar (sólido) e em tubos de ensaio contendo o mesmo meio, mas sem a adição de agar (líquido). No meio sólido as cepas foram mantidas por um período de 20 a 30 dias, enquanto que no meio líquido elas foram mantidas por 5 dias. Decorrido os tempos supracitados, as culturas foram renovadas para evitar seu envelhecimento.

Os tubos de ensaio foram acondicionados em suportes, mantidos na posição vertical. Cada tubo foi tampado com papel alumínio e, duas vezes ao dia (manhã e tarde), os tubos foram agitados para suspender parte das células que se depositaram no fundo do tubo.

No início do processo de inoculação, a sala do cepário foi preparada (Figura 7), e alguns procedimentos foram obedecidos, como: lavar as mãos com álcool; colocar os utensílios a serem utilizados na bancada; e flambar as

bordas dos frascos erlenmeyers e dos tubos de ensaio antes de proceder à transferência dos inóculos.



Figura 7 - Sala do cepário preparada para o procedimento de inoculação da microalga *Chaetoceros gracilis*, no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

A repicagem foi feita transferindo-se 5 mL do cultivo para um novo tubo de ensaio contendo 20 mL de meio de cultura. Dois tubos de ensaio com 25 mL cada foram utilizados para inocular um frasco erlenmeyer contendo 150 mL de meio de cultura. Na inoculação de dois erlenmeyers de 2.000 mL contendo 1.500 mL de meio de cultura cada foram utilizados os conteúdos de três erlenmeyers de 250 mL. O esquema de inoculação está ilustrado na Figura 8.

Todos os tubos de ensaio e os erlenmeyers contendo os inóculos foram tampados com papel alumínio, porém os erlenmeyers receberam aeração através de entrada individual de ar por meio de mangueiras de silicone unidas a varetas de vidro. Na entrada do ar existia um filtro tipo CUNO (Modelo Big Blue), com elemento filtrante de 1 μ . Os inóculos permaneceram três dias em cada frasco. O meio de cultura utilizado foi autoclavado a 121°C.

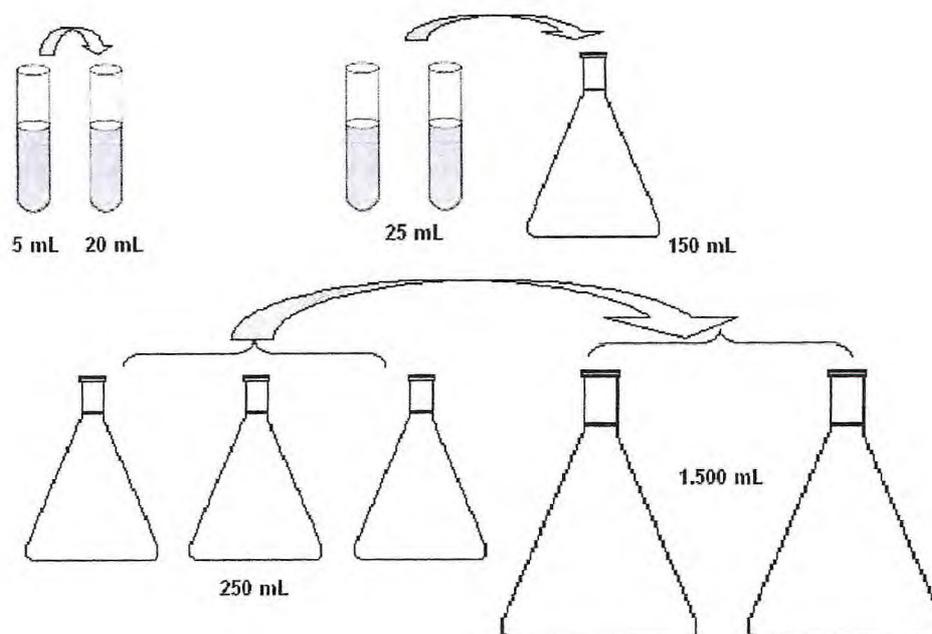


Figura 8 - Esquema de inoculação da microalga *Chaetoceros gracilis* realizado no cepário do Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

3.3 Cultivo massivo interno

Diariamente, no setor de cultivo massivo interno foram preparadas, em média, de 25 a 30 bolsas contendo 15 L de cultura cada uma (Figura 9). Essas bolsas foram presas por um suporte de PVC a uma prateleira de madeira branca e foram cheias com água salina de 34‰. Em cada bolsa foram colocados 10 L da água salina previamente tratada no reservatório. Ao chegar ao setor de cultivo massivo, essa água passou ainda por um filtro tipo de cartucho de 1 μ antes de ser colocada nas bolsas.

Depois de cheias, as bolsas receberam aeração constante e permaneceram nesse setor por algumas horas até atingirem temperatura de aproximadamente 24°C. Em seguida, elas foram fertilizadas de acordo com a Tabela 2.

Por último, as bolsas passaram pelo processo de inoculação. Para tanto, foram utilizadas outras bolsas previamente inoculadas há pelo menos três dias, as quais foram divididas em duas partes. Uma parte foi distribuída em uma proporção de 5 L por bolsa a ser inoculada, proporção essa que podia

variar de acordo com a concentração. A outra parte dessas bolsas foi levada para os cilindros externos.



Figura 9 - Cultivo massivo interno da microalga *Chaetoceros gracilis* no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

Tabela 2 - Enriquecimento das bolsas plásticas utilizadas no cultivo da microalga *Chaetoceros gracilis*, no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

Soluções estoques	Volume usado para cada bolsa plástica
Nitratos e fosfatos (mL)	10,0
Traços de metais (mL)	3,0
Vitaminas (mL)	3,0
Silicatos (mL)	10,0
Água marinha (L)	10,0

3.4 Cultivo externo em cilindros e caixas

O cultivo na parte externa (Figura 10) ocorreu em duas etapas. Na primeira, ocorreu a inoculação nos cilindros de 600 L e 800 L utilizando quatro

bolsas para os cilindros de 600 L e de cinco a seis bolsas para os de 800 L. No dia da inoculação, esses cilindros foram fertilizados com 300 mL de silicato, 300 mL de uréia e 150 mL de traços de metais. A segunda etapa consistiu na inoculação das microalgas nas caixas de 1.800 L.

O conteúdo de um cilindro de 800 L foi utilizado para três caixas. No primeiro dia, cada caixa foi fertilizada com 300 mL de silicato, 300 mL de uréia e 200 mL de traços de metais. Somente após o terceiro dia da fertilização e inoculação, as microalgas foram bombeadas para o setor de larvicultura para alimentar os camarões.

Para garantir um crescimento satisfatório, a densidade celular foi determinada em amostras que foram coletadas e levadas ao laboratório de microscopia do Sea Life para a contagem de células na câmara de Neubauer. Concentrações entre 800.000 e 1.200.000 células mL⁻¹ são consideradas normais nestes sistemas de cultivo .

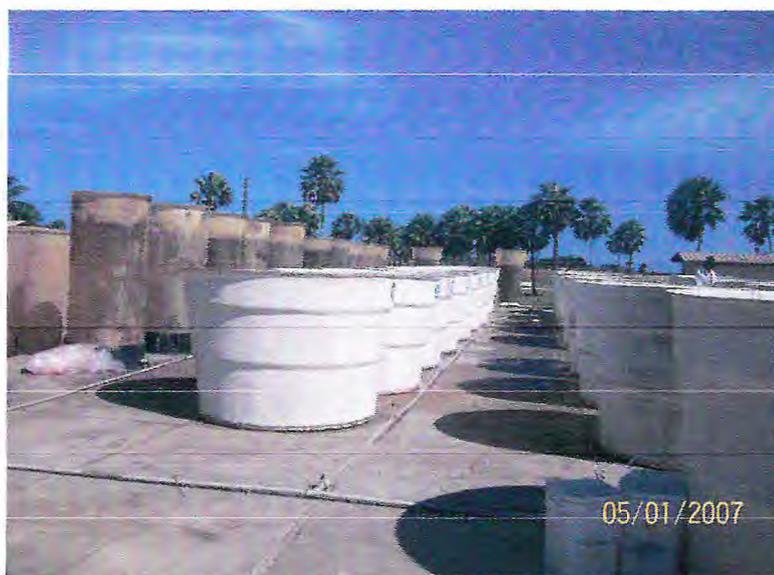


Figura 10 - Caixas e cilindros utilizados no cultivo externo da microalga *Chaetoceros gracilis* no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

Tabela 3 - Enriquecimento dos cilindros e das caixas, no cultivo da microalga *Chaetoceros gracilis*, no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

Soluções	Quantidades
Solução de uréia e fosfato	
Uréia (g)	6.400,0
Fosfato de sódio monobásico P.A (g)	200,0
Água doce (L)	20,0
Solução de silicato	
Silicato de sódio neutro comercial (mL)	2.000,0
Água doce (L)	20,0
Solução de traços de metais	
EDTA dissódico (g)	385,0
Cloreto de ferro (g)	250,0
Sulfato de cobre (g)	0,8
Sulfato de zinco (g)	1,6
Cloreto de cobalto (g)	0,8
Cloreto de manganês (g)	14,2
Molibdato de sódio (g)	1,0
Água doce (L)	20,0

3.4.1 Limpeza e preparação dos cilindros

A limpeza dos cilindros é necessária e foi procedida regularmente a cada ciclo de cultivo, para deixá-los preparados para o cultivo da microalga *C. gracilis*.

Inicialmente, as paredes dos cilindros foram lavadas com 100 mL de ácido muriático comercial, com auxílio de uma vassoura. Depois de lavados, os cilindros foram enxaguados com água doce.

Em seguida, uma solução de hipoclorito de cálcio, preparada pela adição de 15 g de hipoclorito de cálcio em 15 L de água, foi utilizada para a lavagem dos dezoito cilindros. Esta solução desinfetante foi enxaguada com água doce em abundância, e os cilindros vazios foram deixados para secar ao sol.

Finalmente, iniciou-se o processo de enchimento dos cilindros com água salgada tratada.

Cada cilindro recebeu 500 mL de uma solução preparada com 33,75 g de hipoclorito de cálcio em 1,5 L de água. Este volume foi suficiente para clorar

uma bateria de três cilindros. Os cilindros permaneceram tampados, tendo sido colocadas duas mangueiras de aeração com pedras porosas.

Aproximadamente 10 horas após a cloração, procedeu-se a neutralização do residual de cloro ativo com auxílio de 500 mL de solução de tiosulfato de sódio. Esta solução neutralizadora foi preparada colocando 28,33 g de tiosulfato de sódio comercial em 1,5 L de água, e esse volume foi usado para neutralizar a água de uma bateria de três cilindros.

3.4.2. Limpeza e preparação das caixas

De maneira semelhante à limpeza dos cilindros, as paredes das caixas de 1.800 L foram lavadas com 100 mL de ácido muriático comercial e enxaguadas com água doce.

Em seguida, 1.600 mL da solução, preparada pela dissolução de 15 g de hipoclorito de cálcio em 15 L de água, foram usadas em cada caixa. Com este volume foi lavada uma bateria de nove caixas. O enxágüe foi procedido com água doce em abundância, e as caixas foram deixadas ao sol para secar.

As caixas foram então cheias com 1.600 L de água salgada tratada. Cada caixa recebeu 1.000 mL de uma solução preparada com 202,5 g de hipoclorito de cálcio em 9 L de água. Este volume foi usado para a cloração de uma bateria de nove caixas.

As caixas foram tampadas sendo colocadas duas mangueiras de aeração com pedras porosas.

Cerca de 10 horas depois, o residual de cloro ativo foi neutralizado pela adição de 1.000 mL de uma solução preparada com 170 g de tiosulfato de sódio comercial em 9 L de água. Essa solução foi usada para a neutralização da água de uma bateria de nove caixas.

3.5 Determinação da densidade celular e contagem de microalgas

Quando o fitoplâncton é utilizado para alimentar larvas de peixes, crustáceos e moluscos, a concentração desse alimento é um fator determinante na sobrevivência dos organismos em cultivo (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001).

Em um sistema fechado de produção de microalgas, a morte do cultivo é natural, tendo em vista as fases distintas de crescimento desses organismos. Entretanto, quando o cultivo é realizado sob condições controladas e com monitoramento constante, como ocorre no Laboratório Sea Life, as fases de redução do crescimento e de morte são evitadas. As repicagens são feitas, utilizando-se sempre inóculos na fase exponencial de crescimento.

O crescimento de uma população microalgal pode ser estimado pelo emprego de parâmetros, como densidade celular, tempo de cultivo e velocidade de crescimento. Segundo Oliveira (1993), a densidade celular máxima se refere ao maior valor obtido em número de células por mililitros, e o tempo de cultivo se refere ao período transcorrido entre o início da cultura (inóculo) e o momento no qual a cultura alcançou a densidade celular máxima.

Para a determinação da densidade celular o método mais utilizado é a contagem na câmara de Neubauer, utilizada originalmente nas contagens de glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas do sangue (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001).

No Laboratório Sea Life, os procedimentos adotados para a realização das contagens das células da microalga *C. gracilis* foram os seguintes. Primeiramente, os recipientes plásticos de 50 mL foram rotulados com a identificação do tanque de larvas. Amostras de água de aproximadamente 30 mL foram coletadas sobre a aeração e levadas ao laboratório.

A câmara de Neubauer e a lamínula de vidro foram limpas com auxílio de uma pisseta contendo álcool etílico comercial e secas com papel absorvente de boa qualidade para não deixar resíduos. Em seguida, a lamínula de vidro foi colocada sobre a área de contagem da câmara.

Antes das contagens, as amostras foram homogeneizadas, coletadas por capilaridade com uma pipeta Pasteur e colocadas no espaço entre a câmara de Neubauer e a lamínula de vidro, inclinando a pipeta em um ângulo de 45° para permitir a distribuição da amostra por toda área de contagem.

A câmara foi deixada em repouso por alguns minutos para sedimentar as células de microalgas. Em seguida, foi levada ao microscópio óptico e focalizada no aumento de 4x, depois para o aumento de 10x e finalmente para o aumento de 40x, quando a contagem de microalgas foi procedida, com o auxílio de um contômetro manual.

A contagem das microalgas foi feita em cada quadrante externo constituído de dezesseis subquadrantes, iniciando-se pelo quadrante superior esquerdo e continuando no subquadrante seguinte lado direito (Figura 11). A ocorrência de outro tipo de microalgas e/ou organismo foi também registrada.

Os resultados das contagens de microalgas de cada quadrante foram anotados no Formulário de residual/adição de microalgas, renovação de água, nos campos destinados para amostras de 1 ao 4. Neste formulário também constavam informações sobre data, hora, técnico, lote de larvas, tanque, estágio e volume do tanque de larvicultura (Figura 12).

A média aritmética das quatro amostras foi calculada e multiplicada por 10^4 para obter a concentração real de células. Por exemplo: se as contagens das amostras foram: 8, 9, 10 e 12, a média aritmética foi 9,75, este valor foi multiplicado por 10^4 para obter a densidade celular do tanque a qual foi igual a $9,75 \times 10^4 = 97.500$ células.

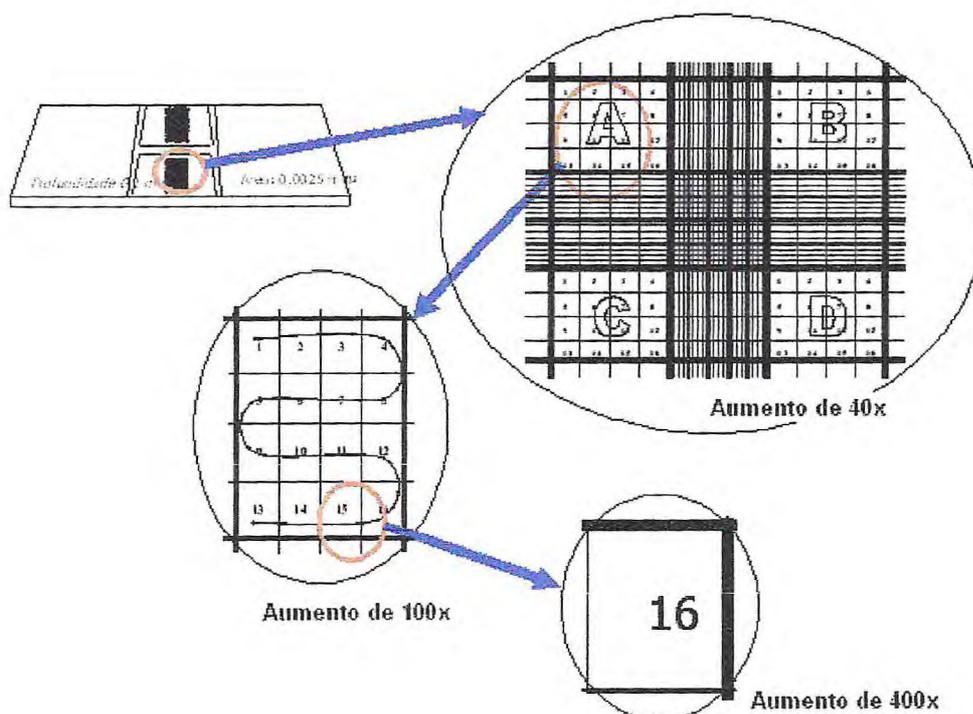


Figura 11 - Esquema da contagem da microalga *Chaetoceros gracilis* no Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei* Sea Life Ltda, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

RESIDUAL/ADIÇÃO DE MICROALGAS, RENOVAÇÃO DE ÁGUA

Data: 21/11/08
 Hora: 14:00
 Técnico: J. J. J. J.

Foto	FO	Estádio	Amostras				Total (x10 ³)	Vol (ton)	Água (ton)	Algas (g/l)
			1	2	3	4				
28	21/11	2	410	410	310	410	1540	2.0	11.0	200
29	21	2	210	410	1010	610	1330	2.2	13.0	200
30	21	2	810	610	1010	1010	3440	2.2	15.0	200
31	21/11	2	1110	310	410	410	2240	2.2	13.0	200
32	21	2	310	310	310	610	1540	2.2	12.0	200
33	21	2	310	310	410	310	1340	2.2	9.5	200
34	21	2	210	410	310	210	1140	2.2	9.0	200
35	21	2	410	610	610	210	1840	2.2	9.0	200
36	21	2	210	610	410	610	1840	2.2	6.5	200
37	21	2	410	610	210	310	1540	2.2	6.5	200
38	21	2	1210	1810	1510	1410	5940			
39	21	2	2610	1010	2010	2110	7740			
40	21	2	2710	2510	2110	2410	9740			
41	21	2	2410	2310	2110	2610	9440			
42	21	2	4010	3910	4110	3210	15340			
43	21	2	310	310	510	310	1440	3.5	4.0	200
44	21	2	210	110	210	210	740	1.7	13.0	200
45	21	2	210	210	310	210	940	2.0	14.0	200
46	21	2	110	110	210	110	540	1.2	12.0	200
47	21	2	410	310	210	210	1140	2.5	8.0	200
48	21	2	110	210	110	210	640	1.5	8.5	200
49	21	2	210	210	410	210	1040	1.5	8.8	200
50	21	2	210	110	210	210	740	1.5	7.0	200
51	21	2	310	210	310	010	840	1.5	7.0	200
52	21	2	ES	ES	ES	ES	00	0.0	6.0	200
53	21	2	ES	ES	ES	ES	00	0.0	6.0	200
54	21	2	ES	ES	ES	ES	00	0.0	6.0	200
55	21	2	3110	3510	3810	3110	13840	35.5		
56	21	2	2010	2810	2310	2510	9640	16.0		

02/11/08
 07:00
 J. J. J. J.

Figura 12 - Modelo do formulário Residual/Adição de Microalgas, Renovação de Água, utilizado para o cálculo da densidade celular Sea Life - Laboratório de Larvicultura de Camarão *Litopenaeus vannamei*, em Sardim, município de Cajueiro da Praia, Piauí.

De acordo com Laboratório Sea Life, a produção média mensal de pós-larvas de camarão *L. vannamei* é de 50 milhões de unidades. Ainda segundo o Laboratório, para a produção de 1 milhão de pós-larvas são utilizadas 20 toneladas de microalgas em sua alimentação. Desse modo, no período em que o Estágio foi realizado, a produção mensal de microalgas foi de mil toneladas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acompanhamento das atividades no Setor de Produção de Microalgas no Laboratório Sea Life foi muito proveitoso para revelar a importância da obtenção do alimento vivo para camarões, principalmente, nos seus primeiros estágios de vida. O manejo de alimentação para organismos cultivados consiste na base do sucesso em termos de crescimento e sobrevivência das larvas. Animais cultivados só podem satisfazer seus requerimentos nutricionais se a dieta que lhes é fornecida atender todas as suas necessidades.

Além disso, revelou também a importância do manejo correto no cultivo de microalgas, através do conhecimento de técnicas adequadas para um bom desenvolvimento desse manejo, a necessidade de pessoas treinadas e de instalações especiais destinadas a esse propósito.

Os laboratórios poderiam investir em pesquisas para aprimorar ainda mais as técnicas já existentes, pois isso os conduziria a aumentos na produtividade, o que geraria mais lucros e, conseqüentemente, mais distribuição de renda.

Finalmente, o estágio no Laboratório Sea Life possibilitou uma maior interação entre os conhecimentos teóricos e práticos, o que vem a ser de fundamental importância tanto para uma formação acadêmica plena e eficaz quanto para uma atuação profissional adequada.

5 REFERÊNCIAS

BARBIERI JR, R. C.; OSTRENSKI-NETO, A. **Camarões Marinhos**. Viçosa: Aprenda Fácil. 2001.

BORBA, A. G. Estudo preliminar do ciclo nictemeral de parâmetros físico-químicos da água nos viveiros de camarão. **Revista da ABCC**, ano 2, n. 1, p 43, abr. 2000.

FAO. Fisheries Department. El estado mundial de la pesca y la acuicultura – 2006 (SOFIA). 2007. 176 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/009/a0699s/A0699S04.htm#4.1.3>> Acesso em: 19 out 2008.

INSTANT ALGAE. Disponível em: <<http://www.reed-mariculture.com/microalgae/chgra.jpg>> Acesso em: 05 nov 2008.

KUBITZA, F. Qualidade de água no cultivo de peixes e camarões. 1 ed. Jundiaí, SP-Brasil. 229 p. 2003.

LISBOA-FILHO, W. ;CARLINI-JUNIOR, R. J. A carcinicultura na região Nordeste: Uma promissora alternativa de diversificação econômica. **Cadernos da FACECA**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 65-78, jan./jun. 2004.

MORALES; VELLOTTI, A. Temas de aqüicultura: Fitoplâncton Pradepesca. República do Panamá, p. 26, s.d.

MOURA-JUNIOR, A. M.; BEZERRA-NETO, E.; KOENING, M. L.; LEÇA, E. E. Composição química de microalgas em cultivo semi-intensivo: *Chaetoceros gracilis* Schutt, *Isochrysis galbana* Parke e *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G. Fryxell & Hasle. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p. 142-148, 2006.

OLIVEIRA, A. **Crescimento das diatomáceas Bacillariophyceae *Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* e *Thalassiosira fluviatilis* em diferentes meios de cultivo e em condições controladas de temperatura e salinidade**. 1993. 204 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1993.

ROCHA, I. P. O agronegócio do camarão marinho no Brasil. **Anais da Zootec.** 110 p. 2004.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos.** 1 ed. São Paulo: Rima. 106 p. 2001.

TOBIAS-QUINITIO, E.; VILLEGAS, C. T. Growth, survival and macronutrient composition of *Penaeus monodon* Fabricius larvae fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis chunii*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 29, n. 3-4, p. 253-260, Sept. 1982.