

B - L - C - M
BSLCM

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

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO
DE *Tetraselmis chuii* EM DIFERENTES
MEIOS DE CULTURA

AGUSTIN ARTURO GONZALEZ WILSON

Dissertação apresentada 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

1989.2

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)

W719a Wilson, Agustin Arturo Gonzalez.

Análise comparativa do desenvolvimento de *Tetraselmis chuii* em diferentes meios de cultura / Agustin Arturo Gonzalez Wilson. – 1989.

32 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 1989.

Orientação: Profa. Vera Lúcia Mota Klein.

1. Alga marinha - Análise comparativa. I. Título.

CDD 639.2

ERRATA

- Na 6ª linha do 4º parágrafo nos agradecimentos, onde se lê da, leia-se de.
- Na 2ª linha do 5º parágrafo nos agradecimentos, onde se lê napes_{soa}, leia-se na pessoa
- Na 3ª linha do parágrafo anterior, onde se lê análsies, leia-se análises
- Na 2ª linha do 2º parágrafo da pág 03, onde se lê bivalbos, leia-se bivalvos.
- Na 3ª linha do 2º parágrafo da pág 05, onde se lê Erd-schreiber, leia-se Erd-Schreiber.
- Na 1ª coluna da Tabela I, onde se lê $\text{Na H}_2 \text{PO}_4 \text{H}_2\text{O}$, leia-se $\text{Na}_2 \text{H PO}_4 \text{H}_2\text{O}$

ERRATA

- Na 2ª linha do 7º parágrafo nos agradecimentos, onde se lê Alexandre, leia-se Alexandra.
- Na 7ª linha do 1º parágrafo da página 03, onde se lê chlorophycea, leia-se chlorophyceae.
- Na 9ª linha do parágrafo anteriormente citado onde se lê Platmonas, leia-se Platymonas.
- Na 4ª linha do 2º parágrafo da página 03, onde se lê Murcphy, leia-se Murphy.
- Na 4ª linha do 2º parágrafo da página 06, onde se lê sobrenatan_{te}, leia-se sobrenadante.
- Na 4ª linha do 2º parágrafo da página 09, onde se lê correspon_{dem}, leia-se correspondeu.
- Na 6ª linha do 1º parágrafo da página 12, onde se lê fatos, sín_{tese}, leia-se fotossíntese.
- Na 4ª linha do 3º parágrafo da mesma página, onde se lê $8,5 \pm 1$, (Oliveira, 1986), leia-se $7,6 \pm 0,1$ (Gomes, 1986).
- Na 1ª linha do 6º parágrafo da página 13, onde se lê estatisti_{cos}, leia-se estatísticas.
- Na 2ª coluna da Tabela I, onde se lê Erd-Schreider, leia-se Erd-Schreiber.

Profª Adj. 4 VERA LÚCIA MOTA KLEIN

- Professor Orientador -

Comissão Examinadora:

Prof. Adj. 3 TEREZA CRISTINA VASCONCELOS GESTEIRA

PROFª Adj. 4 FRANCISCA PINHEIRO JOVENTINO

VISTO:

Prof. Adj. 4 VERA LÚCIA MOTA KLEIN

- Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca -

Prof. Adj. 4 JOSÉ RAIMUNDO BASTOS

- Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca -

AGRADECIMENTOS

À Profª Adj. Vera Lucia Mota Klein pela orientação, amizade e compreensão em todo momento.

À Profª Dilma Bezerra da EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte), pela colaboração e disposição no auxílio deste trabalho.

À Profª Tereza Cristina V. Gesteira, pela assistência tanto profissional como humana.

Aos Drs. Newton do Carmo Borges e Paulo Roberto Leite, Diretor Industrial e Diretor Técnico do Frigorífico Industrial de Fortaleza, respectivamente e aos Drs. Everardo Ferreira Telles e José Cunha, Diretor Industrial e Diretor Técnico da Ypióca Agroindustrial S.A., pela colaboração na coleta da parte do material em estudo.

À Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará, na pessoa do seu Diretor Geral Dr. Renato Aragão, e todo o seu pessoal por algumas análises químicas realizadas neste estudo.

À Sra. Odete Pompeu Linhares Lima pelos trabalhos datilográficos.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE *Tetraselmis chuii* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA.

AGUSTIN ARTURO GONZALEZ WILSON

I - INTRODUÇÃO

A larvicultura é parte essencial para o sucesso de um cultivo de qualquer espécie aquática, seja esta extensivo, semi-extensivo, intensivo ou super-intensivo, e de maneira mais acentuada nestes dois últimos tipos que visam fundamentalmente uma comercialização posterior; tal é o caso da carcinicultura cuja fase de larvicultura atinge 10% ou mais dos custos totais já que esta etapa é desenvolvida "a priori" em laboratórios, cujas despesas com energia, equipamento de aeração, e outros materiais fazem com que esta etapa seja mais onerosa e mais complexa do que quando é feita a partir de "larvã selvagem".

Os fatores acima mencionados trazem como consequência que o produto final sofra um encarecimento e o deixa em situação pouco vantajosa para concorrer no mercado internacional com produtos de menores custos de produção.

Um dos itens que mais encarece a larvicultura é a

alimentação, fornecida às larvas durante os seus diversos es
tágios de vida, devido a que já desde o final de nauplius,
estas são alimentadas com microalgas ou fitoflagelados, cujos
meios de cultura são elaborados a base de produtos químicos
tais como sais de sódio, fosfato, etc., que vão fornecer os
nutrientes necessários para o desenvolvimento das microalgas.
Porém quando este processo adquire proporções maiores encon
tra-se o inconveniente dos altos custos das ditas substâncias
no mercado nacional já que muitas delas são importadas pelos
laboratórios nacionais com as conseqüências já citadas.

Uma alternativa é a utilização de fertilizantes
agrícolas tais como a uréia, sulfato de amônia, superfosfato
triplo ou adubo foliar que forneceu resultados bastante satis
fatórios quando testados por Yamashita & Magalhães (1984), mas
de qualquer maneira representam despesas na compra deste mate
rial.

Descobriu-se há algum tempo atrás que substâncias
residuais como a água de matadouro (proveniente da lavagem do
estômago do boi), o vinhoto (resíduo do processamento da cana
de açúcar), o caldo de peixe (maceração de restos e vísceras
de peixes) e outros poderiam dar resultados tão satisfatórios
quanto os meios convencionais, apresentando como vantagem, o
fato de serem de fácil aquisição, sem representar maiores gas
tos.

Neste trabalho tentamos estabelecer uma análise

comparativa entre os meios residuais anteriormente citados tendo como meio de controle o de Erd Schreiber que é um meio convencional, de fácil preparação, com poucos componentes e que tem dado resultados bastante promissores quando testado em laboratório. A microalga objeto do nosso estudo foi a Tetraselmis chuii que antigamente era classificado como sendo da classe chlorophyceae, mas recentemente, alguns sistematas a incluem dentro da classe prasinophyceae devido à forma côncava da célula e dentro do gênero Tetraselmis (anteriormente Platmonas).

Esta espécie é uma importante fonte de alimentação para alguns organismos aquáticos, tais como os bivalbos (Walne, 1970) e alguns crustáceos incluindo peneídeos (Hudinaga, 1942, Cook e Murphy, 1966, Mock e Murcphy, 1970) que os requerem em seus primeiros estágios larvais; outros autores indicam as microalgas como um suplemento alimentar do homem devido aos altos teores nutritivos das mesmas e para outros animais também como confirmado por Vieira (1977).

II - MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados cepas do Tetraselmis chuii gentilmente cedidos pela Dra. Dilma Bezerra, pesquisadora da EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte). As mesmas chegaram em tubos de ensaio de 10ml estando em meio NH_{15} , que é o meio de cultura utilizado pela EMPARN para a manutenção de pequenos volumes em laboratórios. As cepas foram deixadas por dois dias a uma temperatura de $24 \pm 1^{\circ}C$ e sob a iluminação de uma lâmpada fluorescente de 40 Watts a uma distância de 15cm. Vale salientar que estas mesmas condições de temperatura e luminosidade foram mantidas durante toda a experiência podendo ter havido alguma variação em função da falta de energia elétrica de maneira eventual.

Após o período de adaptação, fizemos a repicagem para (10) tubos de ensaio de 10ml contendo meio Erd - Schreiber cuja composição consta na Tabela I, sendo 8ml do meio e 2 ml de inóculo.

Mantivemos os tubos sob a iluminação constante, sendo periodicamente agitados a fim de promover o arejamento da água; 6 dias depois, foram inoculados em 150ml do meio Erd - Schreiber em (4) erlenmeyers de 250ml, correspondendo 2 tubos de 10ml cada erlenmayer e após 5 dias foram inoculados para

(4) erlenmeyers de 1.000ml, contendo cada um deles o meio citado anteriormente; deixamos dois tubos de ensaio de reserva para serem utilizados em caso do insucesso das primeiras repicagens.

A partir de 1.000ml, é que realmente passamos a testar as diversas concentrações de cada uma das substâncias residuais, tendo como meio de controle o meio Erd - schreiber , que pode ser considerado um meio convencional, de elaboração simples e rápida.

A matéria prima utilizada como fertilizante em cada um dos meios de cultura testados, foram os seguintes:

- Água de matadouro: coletada das instalações do Frigorífico Industrial de Fortaleza (Frifort), quando se faz o beneficiamento das vísceras de gado bovino e mais especificamente, durante a lavagem do estômago do boi, ao se remover o sólido semi-digerido com água potável. Ocorre o escorrimento daquela água de cor esverdeada e utilizada como fonte de nutrientes. Experiência similar foi realizada por Bartolomeu et alli (1989), com a diferença de que a água residual que serviu como matéria-prima era proveniente da lavagem da carcaça do boi.

Deixamos que a água coletada decantasse e procedemos a uma filtragem simples, utilizando papel filtro. O material filtrado foi submetido a autoclave e depois adicionado na concentração de 50, 100 e 150 ml do mesmo para cada litro

de água do mar filtrada e autoclavada.

- Vinhoto: resíduo da destilação da cana de açúcar isento de álcool e que foi coletado a partir das piscinas de repouso, formados pelo acúmulo do vinhoto das instalações da Ypióca Agroindustrial em Maranguape - CE. De igual maneira o material foi submetido a decantação e posterior esterilização em autoclave para depois ser adicionado nas concentrações de 5, 10 e 20ml para cada litro de água do mar filtrada e autoclavada.

- Caldo de peixe: preparado misturando-se 500g de peixe, (vísceras ou resíduos do mesmo), com 2 litros de água estuarina e autoclavadas para depois retirar-se o líquido sobrenatante e ser adicionado na proporção de 5ml por litro de água do mar filtrada e autoclavada, sendo esta a concentração ideal já testada pela EMPARN desde 1983. (Barbosa, comunicação pessoal)

Na Tabela II podemos observar os teores de nutrientes presentes nos diferentes meios de cultura utilizados.

Para a elaboração do extrato do solo mencionado na composição química do meio Erd - Schreiber, o procedimento é coletar 1kg de substrato do mangue fresco, misturar com 1 l de água destilada e autoclavar, deixar em repouso por 3 dias e mais 4 dias sob refrigeração para ajudar na sedimentação das partículas.

Os bioensaios tiveram uma forte e constante aeração a partir do volume de 1.000ml por meio de pedras porosas ligadas a aeradores elétricos.

As contagens das células, foram realizadas 6 vezes por semana, no período de 09:00 às 12:00 horas, sendo as amostras fixadas com formol a 4% e utilizando a câmara de Neubauer.

De um modo geral, para cada experimento utilizamos pelo menos uma repetição, entretanto com aqueles que apresentaram melhores performances, fizemos uma segunda repetição, a fim de que descobríssemos a concentração ideal de cada componente.

Finalmente foram feitas as análises estatísticas entre os melhores resultados de cada meio de cultura para verificar se existiam diferenças significativas entre as mesmas. O teste utilizado foi o teste "t" ou teste de student, com $n - 1$ graus de liberdade e uma probabilidade de 0,95.

III - RESULTADOS E DISCUSSÕES

O meio Erd - Schreiber é um meio de cultura de uso muito difundido, principalmente quando utilizado em volumes limitados, ou seja, em escala de laboratório. Neste trabalho o utilizamos como meio padrão, tendo o mesmo apresentado desenvolvimento homogêneo em todo o período do experimento, sendo a maior densidade alcançada da ordem de 172×10^4 cel/ml, atingida no 14º dia de cultivo, em um volume total de 4.000ml, confirmando as afirmações de Griffith et alli (1973), que dizem ser possível a obtenção de mais de 100×10^4 cel/ml utilizando meio artificial.

O caldo de peixe que é considerado um meio de cultura com fertilização orgânica, deu ótimos resultados como era de se esperar, pois é por esta razão que ele vem sendo utilizado desde 1983 pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) para culturas em grandes volumes; o seu grande problema é o alto índice de contaminação por protozoários ciliados embora neste trabalho não tenhamos verificado dita contaminação.

O melhor resultado com caldo de peixe foi de 297×10^4 cel/ml logrado no 2º dia após a repicagem, para volume de 1.000ml a partir de um volume de 500ml do mesmo meio, sendo o meio de cultura que apresenta o pico máximo no mesmo

intervalo de tempo, ao redor do 3º ou 4º dia após o inóculo; resultado bastante superior àquele obtido por Oliveira & Koenig (1984) em diluição de 2,5 e 1,25 ppm de caldo de peixe com performance de 40,38 e 18,88 X 10⁴ cel/ml respectivamente (Tabela gráficos 3 e 4).

A maior densidade alcançada em meio fertilizado or ganicamente com água de matadouro, foi na diluição de 50 ppm, isto é, a de menor concentração das três que foram testadas e sua melhor performance correspondem a 130 X 10⁴ cel/ml alcançada no 4º dia de cultivo num volume total de 1.000ml (gráfico 6).

Em relação às duas outras concentrações de água de matadouro, (100 e 150 ppm) foram de resultados inferiores à a quella com 50 ppm, de maneira especial a mais concentrada (150 ppm), cujo melhor rendimento foi de 25 X 10⁴ cel/ml, no 5º dia de cultivo em um volume de 1.000ml, além disto parece que esta elevada concentração de água fertilizante (água de lava gem), dificulta o desenvolvimento da cultura, ao impedir uma correta realização da fotossíntese, por escurecer a água do cultivo, não permitindo a passagem de luz e por a apresentar também sedimentação de partículas da água de lavagem, o que promove o crescimento de outros microorganismos alheios à cul tura que são fonte de contaminação para a mesma (Tabela III, gráficos 1 e 2).

Entretanto não deixou de haver crescimento, ou pelo menos, manutenção de cultura; a coloração escura foi desaparecendo progressivamente após alguns dias, mas isto não repre senta vantagem se analisarmos que em um cultivo de escala co

mercial nos interessa alcançar a maior densidade celular no menor intervalo de tempo possível para que o estado da célula seja bom, o que geralmente se alcança na fase log (crescimento logarítmico), fase esta não identificada nitidamente neste experimento por não apresentar grandes picos de crescimento.

A segunda concentração, ou seja, aquele de 100 ppm apresentou um rendimento ligeiramente superior à concentração anterior; o melhor resultado desta diluição foi de 76×10^4 cel/ml alcançada no 6º dia de cultivo com um volume total de 1.000ml, isto no primeiro bioensaio com esta diluição, já que no segundo não alcançou um desempenho tão bom e sendo que sua melhor densidade foi de 30×10^4 cel/ml, um dia após o inóculo depois do qual começou a decrescer e se manteve em níveis bastante baixos até o final; enquanto a sua coloração foi bastante escura, o que deve ter dificultado o fenômeno da fotossíntese e comprometido o crescimento da cultura.

Vale ressaltar que esta água de matadouro é uma matéria-prima cuja concentração vai variar muito, dependendo da ocasião da coleta, às vezes, vem bastante diluída, outras, muito concentrada, e é por isso que em ocasiões dá um melhor resultado a 50 ppm e outras vezes com 5 ppm, como já se deu em experiências anteriores; enquanto mais diluída a água for facilitará muito seu processo de filtração (Tabela V e gráfico 3).

No meio fertilizado com vinhoto, o melhor desempenho foi da ordem do 142×10^4 cel/ml atingida no 7º dia de

cultivo, num volume de 1.000ml, sendo um resultado bastante superior àquela alcançado por Padilha (1975), utilizando ex^otrato do solo a 0,5 ppm cuja concentração máxima, foi de 25×10^4 cel/ml e àquela assinalada por Griffith et alli (op. cit.) que afirmam a possibilidade de produzir até 45×10^4 cel/ml de Tetraselmis chuii usando meio natural (Tabela VI e gráfico 5).

Ao respeito do vinhoto, e maior diluição revelou-se (5 ppm) como sendo a mais indicada entre os três testados (5, 10 e 20 ppm), sendo que o resultado mais satisfatório cor^orespondeu a 152×10^4 cel/ml atingido no 5^o dia, isto no pri^omeiro bioensaio, já que no segundo a maior densidade foi de 58×10^4 cel/ml no oitavo dia em 1.000ml, não repetindo es^ota eficiência na repicagem posterior. Acreditamos que tal de^ocréscimo na densidade, deveu-se a uma contaminação verificada pela presença e crescimento de outros flagelados, que ao pare^ocer assimilam os nutrientes de maneira mais efetiva do que a Tetraselmis Sp. pois observamos que esta encontrava-se em uma quantidade bastante inferior em relação a estes flagelados. No terceiro bioensaio, atingiu um crescimento máximo do 43×10^4 ml no 4^o dia de cultivo, verificando-se também uma contami^onação pelos mesmos flagelados (Tabela IV e gráfico 4).

As outras duas diluições de 10 e 20 ppm alcançaram resultados bastante baixos, verificando-se um decréscimo do número de células após o inóculo, e praticamente não havendo crescimento, mantendo-se apenas a densidade celular o que em

parte talvez tenha ocorrido pela presença de elevados teores de fosfato, não foram determinados os teores de nitrato de vinhoto, por este conter muito material sólido em suspensão. Além disto a coloração apresentou-se bastante escura na maior concentração, o que deve ter influenciado negativamente dificultando a fatos, síntese, conforme explicamos anteriormente.

Acreditamos que o pouco sucesso obtido no segundo e no terceiro bioensaios com vinhoto a 5 ppm, tenha sua explicação em alguma alteração das qualidades físico-químicos do mesmo produto, pelo prolongado tempo de armazenamento ao que esteve submetido sob refrigeração, devido à impossibilidade de realizar coletas mais freqüentes que permitiriam trabalhar com um material mais fresco, pois as unidades de processamento encontram-se afastados da cidade e ainda mais, o fechamento dos mesmos por ocasião da estação chuvosa.

Acreditamos também que o baixo valor do pH do vinho to como consta na Tabela II, influenciou para que este meio de cultura não atingisse o valor de pH ideal, que para microalgas marinhas está na faixa de $8,5 \pm 1$ (Oliveira, 1986).

IV - CONCLUSÕES

1. O melhor resultado foi obtido com caldo de peixe sendo a sua concentração considerada ideal 5 ppm, no 2º dia de cultivo, com uma densidade celular de 297×10^4 cel/ml, este meio de cultura alcançou o seu pico de crescimento no menor intervalo de tempo; não foi verificada contaminação por ciliados neste meio.

2. A água de matadouro na sua menor concentração (50 ppm) apresentou uma densidade máxima de 122×10^4 cel/ml.

3. Nas concentrações de 100 e 150 ppm a água de matadouro não apresentou crescimento tão satisfatório e inclusive provocou uma turvação do meio de cultura o que deve ter contribuído negativamente para o desenvolvimento da cultura.

4. Das concentrações testadas com vinhoto, como fertilizante dos meios da cultura, a que apresentou melhor resultado foi a do 5 ppm.

Quando utilizamos concentrações superiores a esta, os resultados não foram tão satisfatórios, reduzindo-se a densidade celular por cultivo, à medida que esta aumentava.

5. De acordo com as análises estatísticas, aplicando-se o teste de student (teste t), os resultados foram os seguintes:

V - SUMÁRIO

O presente trabalho tem como objetivo fornecer algumas informações necessárias ao cultivo das microalga Tetraselmis chuii, utilizando meios de cultura residuais e comparar seu desempenho em relação a um meio de uso freqüente como o Erd - Schreiber.

A espécie em estudo é amplamente cultivada tanto em centros de pesquisas oceânicos quanto em cultivos comerciais de camarão e outras espécies marinhas, usada na alimentação nos primeiros estágios de vida de crustáceos, peixes e moluscos.

Utilizamos para este estudo, água de lavagem de vísceras do boi, obtida no Frigorífico Industrial de Fortaleza; vinhoto, também conhecido como tiborna recoletada das estações destiladoras de Maranguape e Aquiraz; caldo de peixe elaborado a base de resíduos do mesmo, e meio Erd -Schreiber contendo sais minerais e extrato do solo como fonte de nutrientes.

Os bons resultados alcançados em diversas concentrações consideradas ideais para cada um dos meios em estudo, revelam a possibilidade de serem utilizados a nível comercial substituindo parcial ou totalmente os meios de cultura convencionais, reduzindo assim os custos da produção do organismo cultivado.

BIBLIOGRAFIA

- BARBOSA, A.C.A. - Comunicação pessoal.
- BARTOLOMEU, C.C. et alli - 1989 - Emprego de água residual de matadouro no cultivo da microalga Tetraselmis tetrathele. Resumo da 41ª reunião anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Cap. Oceanografia.
- COOK, H. L. and MURPHY, 1966 Rearing Penaeid Shrimp from eggs to postlarvae - Proceedings 19th Annual conference South eastern Association Game and Fish Commissioners 19: 283-288. In: YAMASHITA, C & MAGALHÃES, P. M. S. da - 1984 Método simples para o cultivo de Tetraselmis chuii, Bol. de pesq. Nº 08 Natal, EMPARN. 21p.
- FOGG, G. E. 1965 - Algal cultures and phytoplankton ecology. The University of Wisconsin Press Madison and Milwaukee.
- GOMES, L. A. de OLIVEIRA - 1986 - Cultivo de crustáceos e moluscos / São Paulo: Nobel, 226p.
- GRIFFITH, G. W. et alli - 1973 - A mass culture method for Tetraselmis sp. A promising food for larval crustaceans. In: OLIVEIRA, A. A. G de & KOENING, M. L - 1984 Crescimento exponencial de Tetraselmis chuii com fertilizantes orgânicos. Arq. Biol. Tecnol da UFPe 293-298.

- HUDINAGA, M, 1942 - Reproduction, development, and rearing of Penaeus japonicus: Bate. Japanese Journal of Zoology 10 (2): 305-393. In: YAMASHITA, C. & MAGALHÃES, P.M.S. da - 1984 - Método simples para o cultivo de Tetráselmis chuii, Bol. de pesq. Nº08, Natal, EMPARN, 21p.
- KLEIN, V. L. M. & COSTA, F. A. P. - 1982 - Estudios preliminares sobre el cultivo de microalgas en condiciones de laboratorio. Memorias del VI Congresso Latino americano de Acuicultura, Panamá, Cap. V, 22p.
- LARA, M. D. B. G. - 1984 - Cultivo artificial de algas microscópicas em laboratório, CEPLAC, 28p.
- MOCK, C. R. e M. A. MURPHY 1970 - Techniques for raising penaeid shrimp from the egg to postlarvae. Proceedings 1st Annual Workshop World Mariculture Society 1: 143-158 In: YAMASHITA, C. & MAGALHÃES, P. M. S. da - 1984 - Método simples para o cultivo de Tetraselmis chuii, Bol. de pesq. Nº 08, Natal, EMPARN. 21p.
- NETO, G. L. S da; CRUZ, J. F. da; BARBOSA, A. C. A.;- 1982 - Processo produtivo de Pós-larvas de camarões penaeídeos. Bol. Técnico Nº 11, Natal, EMPARN, 85p.
- OLIVEIRA, A. A. G. de & KOENING, M. L. - 1984 - Crescimento exponencial de Tetraselmis chuii com fertilizantes orgânicos. Arq. Biol. Tecnol. 27(3) Depto. de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco. 293-298.

- PADILLA, M. G. (1975) - Crescimento poblacional de Tetraselmis suecica (Chlorophyceae) em ambiente controlado. Revista de Biologia Marina, 15 (3). 287-296. In: OLIVEIRA, A. A. G. de & KOENING, M. L. - 1984 - Crescimento exponencial de Tetraselmis chuii com fertilizantes orgânicos. Arq. Biol. Tecnol. 27(3) Depto. de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco. 293-298.
- TRIANI, L. et alli - 1986 - Extrato de lixo urbano para culturas externas com larga escala de Tetraselmis chuii, Butcher. Comunicado Técnico 168, Rio de Janeiro, PESAGRO.
- VIEIRA, A. A. H. - 1977 - Alguns meios de cultura para fitoplâncton marinho. Bolm. Inst. Oceanogr., São Paulo, 26: 303-338.
- WALNE, R. R. 1970 - Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera Ostrea, Crassostrea, Mercenaria and Mytilus. Fishery Investigations, series II vol 31 Nº 5 Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Her Majesty's Stationary Office, London. In: YAMASHITA, C & MAGALHÃES, P. M. S. da - 1984 - Método simples para o cultivo de Tetraselmis chuii, Bol. de pesq. Nº 08 Natal, EMPARN, 21p.
- YAMASHITA, C & MAGALHÃES, P. M. S. da - 1984 - Método simples para o cultivo de Tetraselmis chuii, Bol de pesq. Nº 08 Natal, EMPARN, 21p.

TABELA I - Composição dos meios de cultura utilizados no cultivo de Tetraselmis chuii.

COMPONENTE BÁSICO	MEIO E-S (Erd Schreider)	MEIO C-P (Caldo de Peixe)	MEIO A-M (Água de Matadouro)	MEIO COM VINHOTO
NaNo ₃	100mg	--	--	--
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	20mg	--	--	--
Água do Mar	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml
Extrato do Solo	50ml	--	--	--
Extrato de Peixe	--	5ml	--	--
Água de lavagem de vísceras	--	--	50ml	--
Vinhoto	--	--	--	5ml

+

TABELA II - Análise de nutrientes dos meios de cultura residuais utilizados nos experimentos

NUTRIENTES (mg/l)	MEIO C-P (1)	A-M (2)	COM VINHOTO (2)
NO ₃	0,48	70	--
NO ₂	10,60	0,01	6,60
PO ₄	48,2	100	250
PH	--	--	3,40

(1) Segundo Koenig & Oliveira (1984)

(2) Segundo a Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará (SEMACE) (1989)

TABELA III - Densidade celular de Tetraselmis chuii em meios Erd-Schreiber e água de matadouro em diferentes concentrações

DIA DE CULTIVO	E S		50ppm		100ppm		150ppm	
		Rep		Rep		Rep		Rep
Inóculo	18	36	14	41	15	22	18	61
1º dia	--	12	--	10	--	30	--	22
2º dia	35	12	39	33	23	12	12	11
3º dia	43	92	112	17	13	7	4	32
4º dia	86	27	130	--	68	5	6	21
5º dia	88	26	122	22	75	18	25	20
6º dia	41	120	103	18	76	11	17	25
7º dia	24	--	33	15	28	--	--	--
8º dia	30	15	22	24	6	12	--	--
9º dia	52	126	51	7	4	5	--	--
10º dia	54	84	22	--	3	7	--	--
11º dia	79	50	54	82	3	4	--	--
12º dia	68	82	35	65	3	8	--	--
13º dia	109	57	27	21	5	7	--	--
14º dia	172	56	23	21	3	6	--	--

TABELA IV - Densidade celular de Tetraselmis chyii em meios caldo de peixe e vinhoto em diferentes concentrações.

DIAS DE CULTIVO	M E I O S D E C U L T U R A							
	Caldo de Peixe(rep)		VINHOTO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES					
			20 ppm (rep)		10 ppm (rep)		5 ppm (rep)	
Inóculo	87	56	47	7	48	7	51	7
1º dia	297	90	32	3	45	4	38	3
2º dia	--	98	8	--	5	--	12	--
3º dia	39	60	22	5	7	9	11	16
4º dia	--	156	13	10	20	10	57	8
5º dia	109	144	36	8	18	14	93	24
6º dia	102	70	36	24	17	22	77	11
7º dia	177	63	22	--	22	--	152	--
8º dia	--	--	8	12	12	20	20	58
9º dia	58	2	2	1	3	3	6	1
0º dia	--	--	--	--	--	--	--	--
1º dia	201	6	2	1	10	2	16	2
2º dia	108	2	5	0	5	7	38	4
3º dia	85	2	47	3	18	11	21	2
4º dia	172	0	10	0	21	--	89	6

TABELA V - Densidade celular de Tetraselmis chuii, obtida nos bioensaios onde foi utilizada água de matadouro a 50 ppm como meio de cultura.

DIAS DE CULTIVO	NÚMERO DE CÉLULAS/ml X 10 ⁴		
	1º BIOENSAIO	2º BIOENSAIO	3º BIOENSAIO
Inóculo	14	41	61
1º dia	--	10	52
2º dia	38	33	12
3º dia	112	17	7
4º dia	130	--	10
5º dia	122	22	9
6º dia	103	18	8
7º dia	33	15	--
8º dia	22	24	13
9º dia	51	7	26
10º dia	22	--	36
11º dia	54	82	18
12º dia	35	65	20
13º dia	24	21	38
14º dia	23	21	9

ABELA VI - Densidade celular de Tetraselmis chuii obtida nos bioensaios onde foi utilizado vinhoto a 5 ppm como meio de cultura.

DIAS DE CULTIVO	NÚMERO DE CÉLULAS / ml X 10 ⁴		
	1º BIOENSAIO	2º BIOENSAIO	3º BIOENSAIO
Inóculo	51	7	1
1º dia	38	3	3
2º dia	12	--	10
3º dia	11	16	43
4º dia	57	8	2
5º dia	93	24	2
6º dia	77	11	--
7º dia	152	--	4
8º dia	20	58	6
9º dia	6	1	5
10º dia	--	0	--
11º dia	16	2	18
12º dia	38	4	10
13º dia	21	2	5
14º dia	89	6	2

+

cel/ml
($\times 10^4$)

GRÁFICO 1 - Desenvolvimento de Tetraselmis chuii em
3 concentrações de A-M e meio E-S (I)

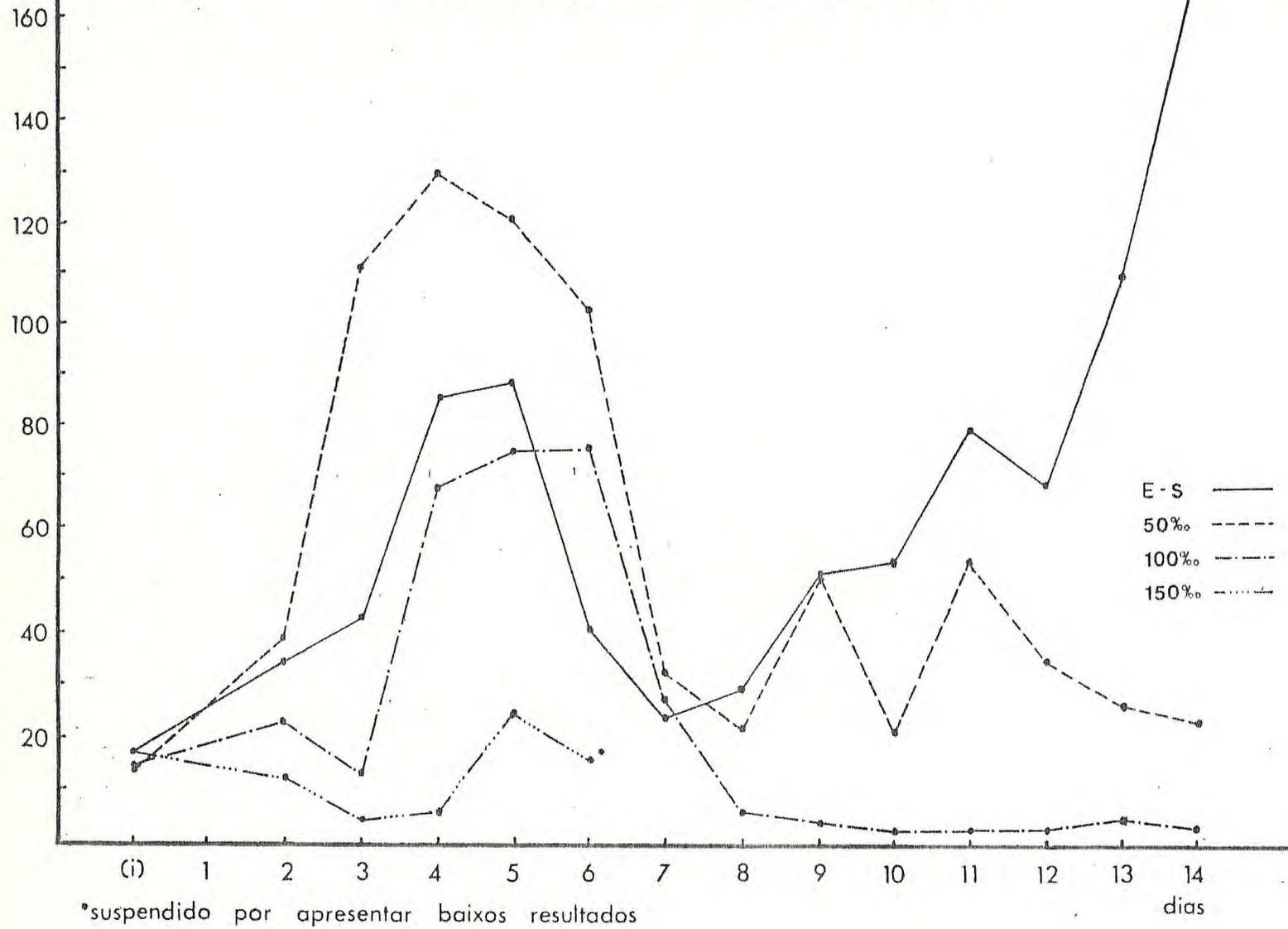


GRÁFICO 2 - Desenvolvimento de Tetraselmis chuii em
3 concentrações de A-M e meio E-S (II)

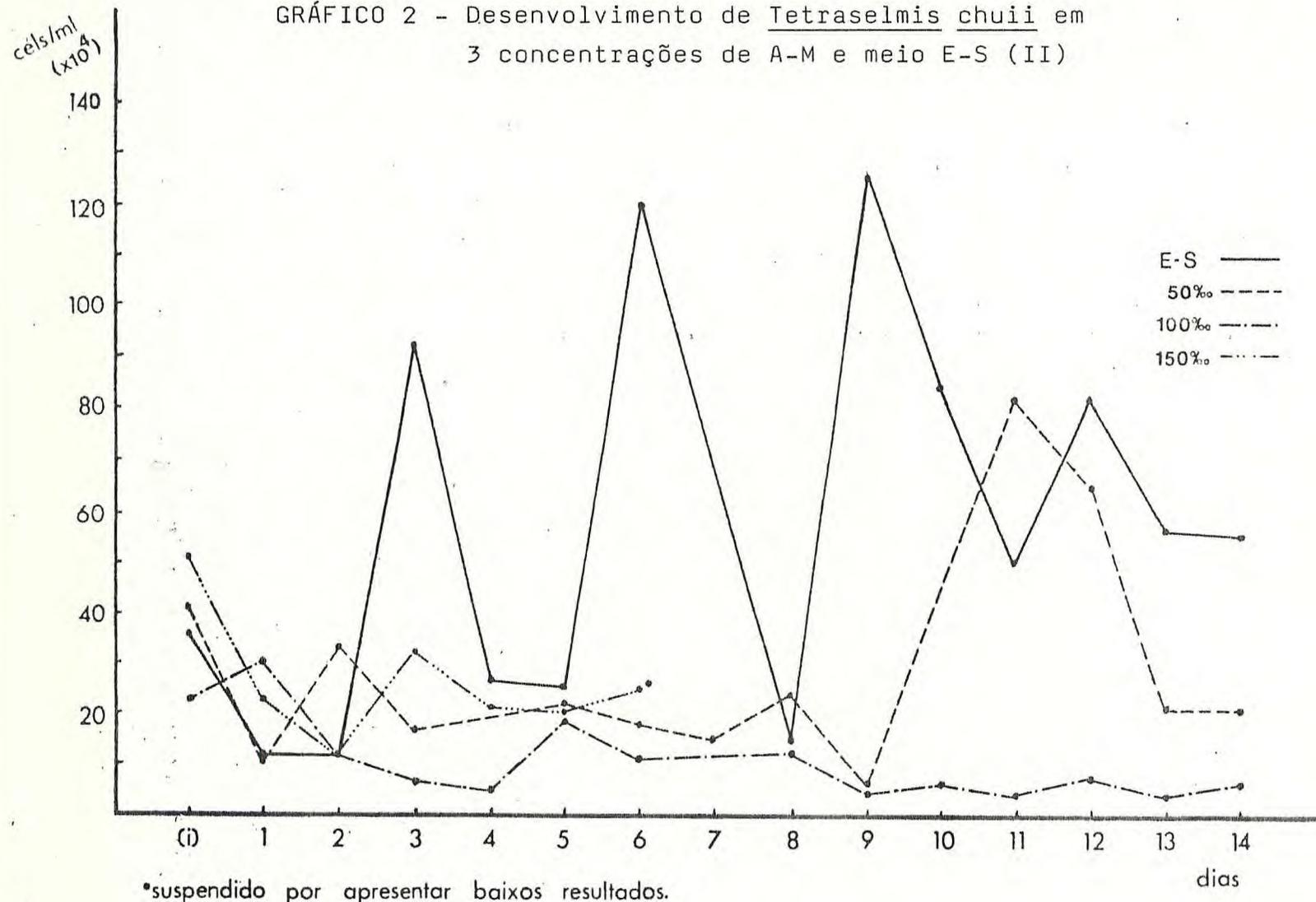
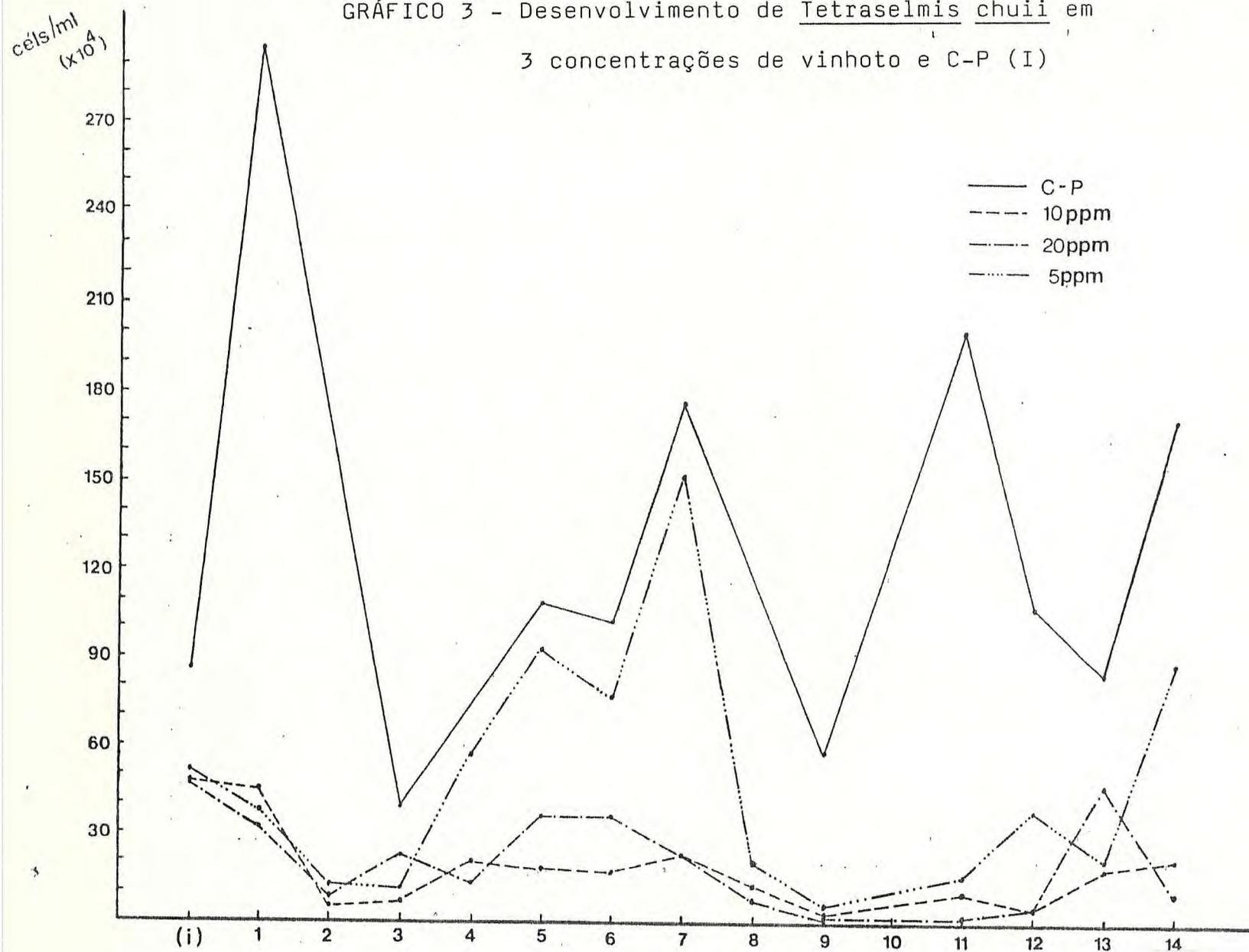
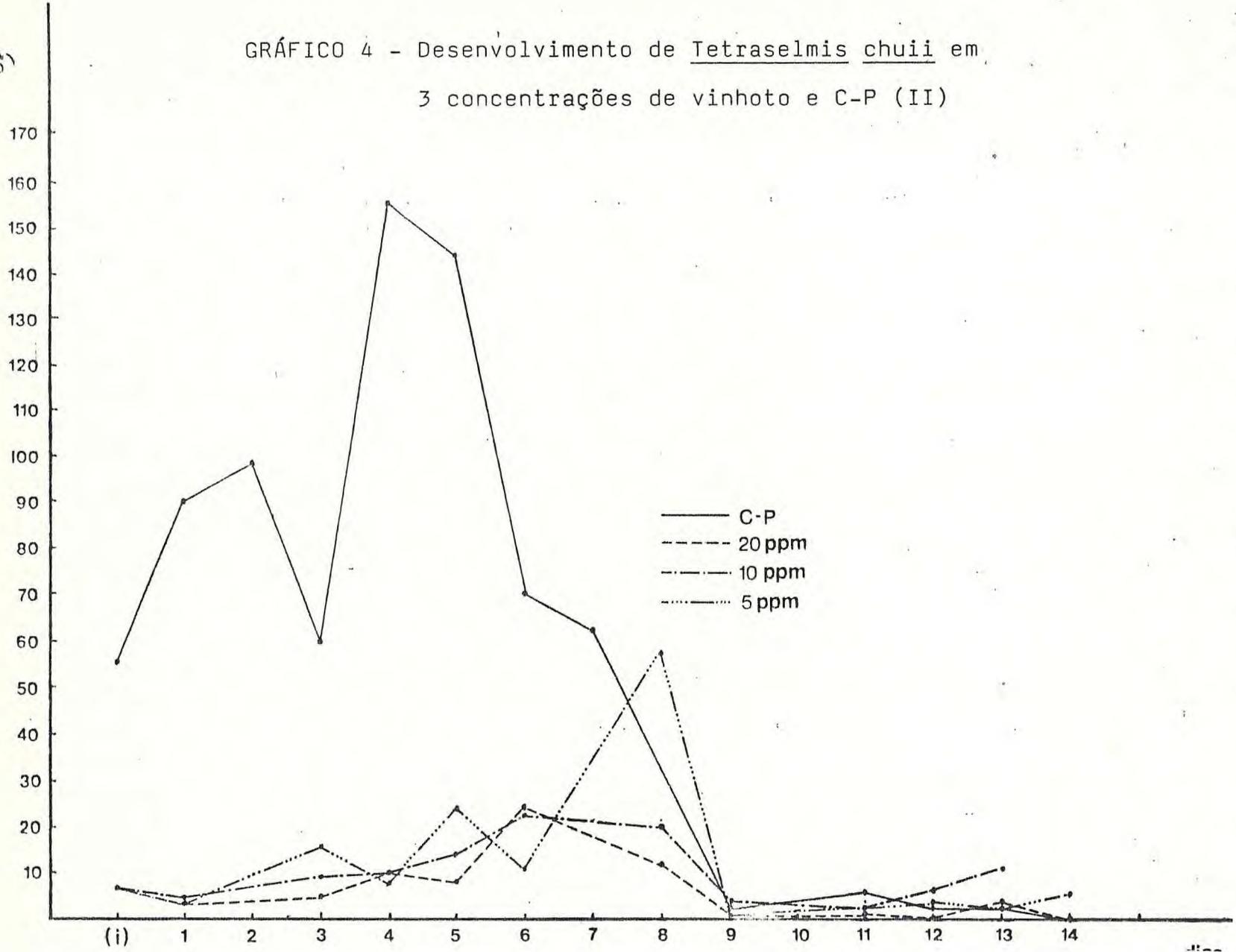


GRÁFICO 3 - Desenvolvimento de *Tetraselmis chuii* em
3 concentrações de vinhoto e C-P (I)



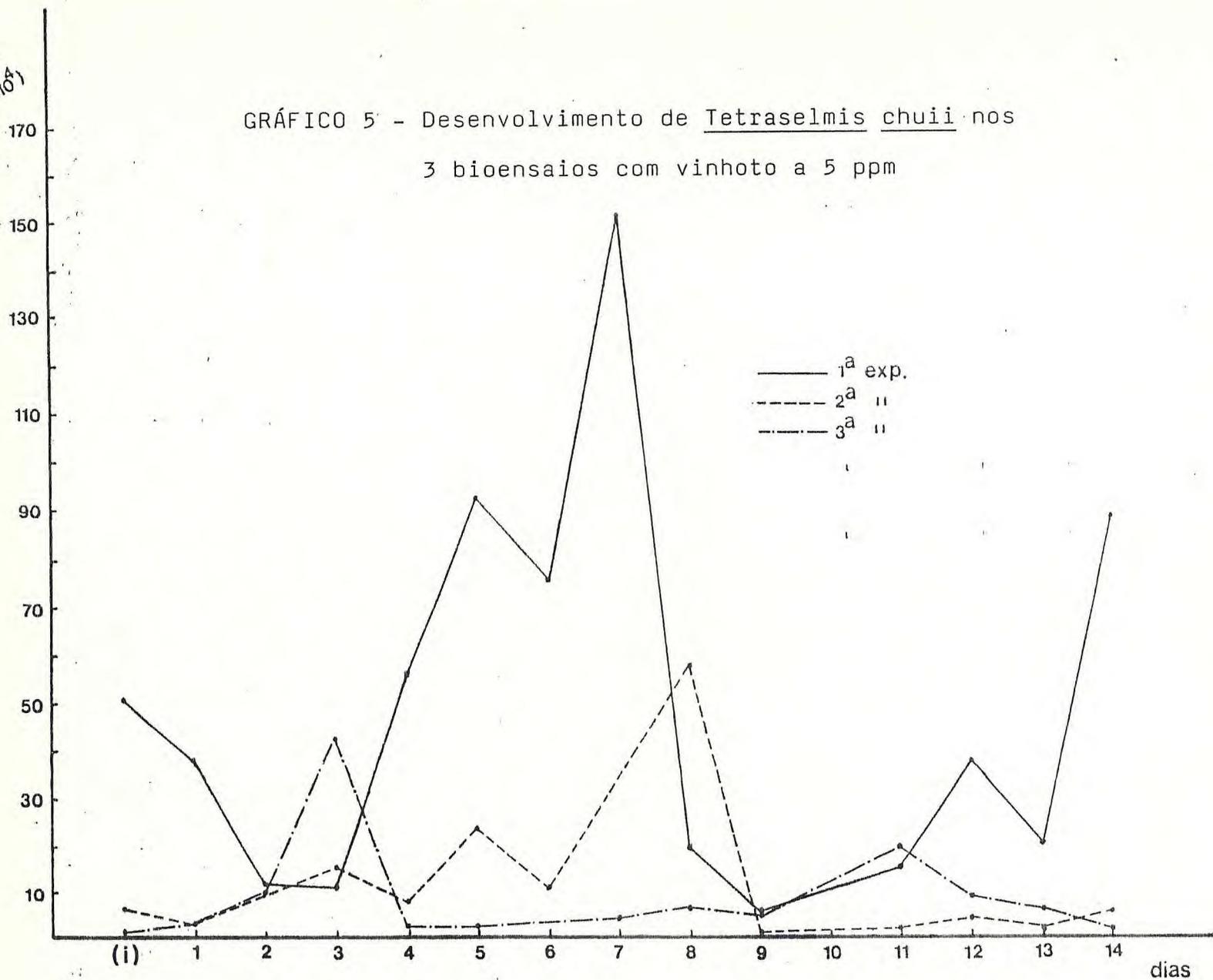
células/ml
(x10⁴)

GRÁFICO 4 - Desenvolvimento de Tetraselmis chuii em
3 concentrações de vinhoto e C-P (II)



céls/ml
(x10⁴)

GRÁFICO 5 - Desenvolvimento de Tetraselmis chuii nos
3 bioensaios com vinhoto a 5 ppm



céls/ml
($\times 10^4$)

GRÁFICO 6 - Desenvolvimento de Tetraselmis chuii nos
3 bioensaios com A-M a 50ppm

