

## TOXICIDADE DO NITRITO PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* CULTIVADO EM SISTEMAS DE ÁGUA CLARA E BIOFLOCOS

Fabiana Penalva de MELO<sup>1</sup>; Maria Gabriela Padilha FERREIRA<sup>1</sup>; Ítalo Felipe Mascena BRAGA<sup>1</sup>; Eudes de Souza CORREIA<sup>1</sup>

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do nitrito sobre o crescimento, sobrevivência e quantidade de hemócitos totais na hemolinfa de juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei* (1,60±0,06 g) submetidos a diferentes concentrações de N-nitrito e dois sistemas de cultivo. Os camarões foram distribuídos em 24 unidades experimentais (área de 0,20 m<sup>2</sup> e volume útil de 30 L), numa densidade de 75 camarões m<sup>-2</sup>, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, com quatro concentrações de N-nitrito (0-Controle, 10, 20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) e dois sistemas de cultivo (água clara e bioflocos). Os juvenis de *L. vannamei* foram alimentados com ração comercial (35% proteína bruta). As concentrações de N-NO<sub>2</sub> influenciaram significativamente (P<0,05) o peso final (1,71 a 3,36 g), a sobrevivência (40,7 a 96,3 %) e a taxa de crescimento específico (0,15 a 2,42% dia<sup>-1</sup>). A interação entre as concentrações de N-nitrito e os sistemas de cultivo não influenciaram significativamente (P≥0,05) a quantidade total de hemócitos. Desta forma, é possível cultivar o camarão *L. vannamei* em concentrações de até 20 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> por um período de 30 dias sem comprometer o crescimento e a sobrevivência.

**Palavras-chave:** toxicidade subcrônica; hemócito total; crescimento; sobrevivência; hemolinfa

## TOXICITY OF NITRITE ON SHRIMP *Litopenaeus vannamei* REARED IN CLEAR WATER AND BIOFLOC SYSTEMS

### ABSTRACT

This work aimed to evaluate the toxicity of N-nitrite on growth, survival and the amount of total hemocytes in the hemolymph of the shrimp juveniles *Litopenaeus vannamei* (1.60±0.06 g) reared in different concentrations of N-nitrite and two culture systems. The shrimps were distributed into 24 experimental units (area of 0.20 m<sup>2</sup> and useful volume of 30 L) at a density of 75 shrimp m<sup>-2</sup> in a completely randomized design with 2x2 factorial scheme, using four nitrite-N concentrations (0-Control, 10, 20 and 40 mg NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>) and two culture systems (clear water and biofloc). Juveniles of *L. vannamei* were fed with commercial feed (35% crude protein). The NO<sub>2</sub>-N concentrations influenced significantly (P<0.05) body weight (1.71 to 3.36 g), survival (40.7 to 96.3%) and specific growth rate (0.15 to 2.42% day<sup>-1</sup>). The interaction between the N-nitrite concentrations and culture systems did not affect significantly (P≥0.05) the total amount of hemocytes. Thus, it is possible to culture the *L. vannamei* shrimp at concentrations of 10 and 20 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> for a period of 30 days without compromising growth and survival.

**Key words:** toxicity subchronic; total hemocyte; growth; survival; hemolymph

---

**Artigo Científico: Recebido em 09/03/2016 – Aprovado em 20/10/2016**

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAQ), 52171-900, Recife, PE, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O acúmulo de substâncias tóxicas inorgânicas, como amônia e nitrito, é um dos principais problemas de qualidade da água em sistemas aquícolas intensivos (COLT e ARMSTRONG, 1981; TIMMONS e EBELING, 2010; BARBIERI *et al.*, 2014). O nitrito é um importante produto intermediário no processo de nitrificação ou desnitrificação do nitrato no ciclo do nitrogênio (JENSEN, 2003; KROUPOVA *et al.*, 2005). Dependendo das concentrações e do estágio de desenvolvimento do organismo aquático cultivado, pode vir a ser bastante tóxico, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo (BROWNELL, 1980; BARBIERI, 2010).

Entre os principais efeitos tóxicos do nitrito, destacam-se aqueles que têm relação direta com o transporte de oxigênio, a oxidação de importantes compostos e a possibilidade de ocasionar danos aos tecidos (FRIAS-ESPERICUETA e PAÉZ-OSUNA, 2001). O mecanismo tóxico do nitrito atua sobre o transporte de oxigênio, no qual o nitrito se liga à hemocianina, ocupando o lugar do oxigênio, transformando-a em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos. Dessa forma, ocorre uma redução na quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (TAHON *et al.*, 1988), podendo ocorrer hipóxia e, conseqüentemente, morte dos organismos cultivados (CHEN *et al.*, 1986).

A tecnologia de bioflocos (BFT - *Biofloc Technology*) se apresenta como uma alternativa para resolver problemas nutricionais e de biossegurança, uma vez que esse sistema tem como base a manipulação da comunidade microbiana, através da adição de fontes de carbono que promovem o crescimento de bactérias heterotróficas (CRAB *et al.*, 2007; CRAB *et al.*, 2009). O desenvolvimento das bactérias heterotróficas em cultivos intensivos e semi-intensivos resultam na conversão de compostos nitrogenados inorgânicos em células microbianas ricas em proteína (ASADUZZAMAN *et al.*, 2008). O nitrogênio inorgânico é absorvido e degradado pelas bactérias quando os substratos orgânicos têm uma alta relação C/N (AZIM *et al.*, 2008; CHAMBERLAIN *et al.*, 2001).

Em sistemas de cultivo com tecnologia de bioflocos (BFT), as bactérias heterotróficas e as

bactérias autotróficas nitrificantes possuem maior eficiência na remoção do nitrogênio da amônia (EBELING *et al.*, 2006; HARGREAVES, 2006). Entretanto, pode ocorrer aumento nas concentrações de amônia, caso as bactérias quimioautotróficas não estejam presentes na fase inicial do cultivo, havendo uma tendência de acúmulo inicial desse composto. Além disso, se a via autotrófica chegar a dominar o sistema, a amônia pode ser oxidada a nitrito, pelas Bactérias Oxidantes da Amônia - BOA (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio*). Porém, as bactérias que oxidam o nitrito a nitrato (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina*) possuem um crescimento mais demorado do que as BOA, levando a um acúmulo ainda maior de nitrito no sistema (VAN LOOSDRECHT e JETTEN, 1998; HAGOPIAN e RILEY, 1998).

CHENG e CHEN (1999) verificaram que a presença do nitrito na hemolinfa do camarão *Penaeus monodon* provocou um aumento da pressão parcial do oxigênio ( $pO_2$ ), sugerindo um decréscimo da oxihemocianina (hemocianina ligada ao oxigênio). CHEN e CHENG (1995) observaram que os níveis de oxihemocianina e da proteína na hemolinfa de *P. japonicus* reduziram, após a exposição ao nitrito. Isto sugere que o nitrito acumulado na hemolinfa perturba o metabolismo normal do nitrogênio e do sistema respiratório. Os autores concluíram ainda que, em camarões peneídeos expostos ao nitrito, a hemocianina simplesmente não é oxigenada nas brânquias. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade subcrônica do nitrito em sistema de água clara e bioflocos sobre o crescimento, sobrevivência e quantidade de hemócitos totais na hemolinfa de juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistemas de água clara e bioflocos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Local e condições experimentais*

O experimento foi realizado na Estação de Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil. O estudo foi desenvolvido em 24 tanques de polietileno com área de 0,20 m<sup>2</sup> e volume útil de 30 L cada,

providos de sistema de aeração individual e contínuo, mantidos por meio de um compressor radial de 2 CV.

### **Desenho experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 4 x 2, e aplicado para avaliar as concentrações de nitrito (0 - Controle, 10, 20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) e os sistemas de cultivo - água clara e bioflocos, constando de três repetições para cada tratamento. Para avaliar o efeito tóxico do nitrito, foram utilizados juvenis de *L. vannamei* com peso médio de 1,60±0,06 g, estocados aleatoriamente nas unidades experimentais, numa densidade de 75 camarões m<sup>-2</sup> (15 camarões tanque<sup>-1</sup>), e criados em um período de 30 dias. Os tratamentos com água clara foram denominados de 'A-0', 'A-10', 'A-20' e 'A-40', enquanto os tratamentos com bioflocos, referidos como 'B-0', 'B-10', 'B-20' e 'B-40'.

### **Solução teste e manejo dos tanques**

As concentrações experimentais foram obtidas por meio de solução estoque de N-nitrito, preparada a partir da dissolução de 49,24 g nitrito de sódio P.A. em 1 L de água destilada, para se obter uma concentração de 10.000 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (CHAND e SAHOO, 2006). Para manter as concentrações experimentais de nitrogênio do nitrito, o volume útil dos tanques (100%) foi renovado a cada três dias, e as soluções de N-nitrito adicionadas novamente para a manutenção das concentrações experimentais. Diariamente, realizou-se o sifonamento das sobras de alimento e outros resíduos orgânicos nos tanques experimentais.

No tratamento com bioflocos, os tanques foram abastecidos com uma mistura de 50% água clara e 50% água de bioflocos, oriunda de um cultivo de camarões com tecnologia de bioflocos (BFT) em desenvolvimento na Estação de Aquicultura da UFRPE. Durante o período experimental, não foi necessário o uso de melado de cana-de-açúcar como fonte de carbono orgânico, já que os níveis de nitrogênio da amônia total estavam abaixo de 1 mg NAT L<sup>-1</sup>.

Os animais foram alimentados com ração comercial peletizada contendo 35% proteína bruta (Camanutri, 35% PB, Presence®), fornecida em

bandejas uma vez ao dia (9:00 horas) durante 30 dias de cultivo. A taxa de alimentação foi inicialmente estabelecida de acordo com JORY *et al.* (2001).

Semanalmente, realizaram-se biometrias com amostras equivalentes a 40% da população de cada parcela experimental. O desempenho zootécnico dos camarões foi acompanhado através do peso inicial (g), peso final (g), taxa de crescimento específico (% dia<sup>-1</sup>) e, ao final do cultivo, avaliou-se a sobrevivência (S%) dos camarões.

### **Contagem total de hemócitos**

Durante o período experimental, um camarão de cada unidade experimental foi coletado para contagem total de hemócitos (CTH), a cada cinco dias a contar da estocagem até o final do experimento. A hemolinfa foi retirada da região ventral do hemocelo, no início do primeiro segmento abdominal de cada animal. Para determinar a CTH, a hemolinfa de cada camarão foi coletada utilizando de 1 mL diretamente de uma solução anticoagulante na proporção de 1:4 (solução de Alsever modificado: citrato de sódio 27 mM, 336 mM cloreto de sódio, glucose 115 mM, EDTA a 9 mM, pH 7,0) (MAGGIONI *et al.*, 2004). O material foi colocado individualmente em microtubos e mantido sob refrigeração (HENNIG *et al.*, 1998). A contagem total de hemócitos foi determinada individualmente, utilizando-se uma câmara de Neubauer e um microscópio óptico binocular (Coleman N-120-T, 10x ampliação), seguindo o método utilizado na contagem de células sanguíneas humanas (COSTA e MARTINS, 2009).

### **Parâmetros de qualidade da água**

Durante o período experimental, a temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade da água foram verificados em cada tanque, duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 h), com a utilização de multiparâmetro YSI 556 MPS (YSI Incorporation, Ohio, USA). A cada três dias, foram coletadas amostras de água de cada tanque para determinação das concentrações de nitrogênio da amônia total (TAN) e nitrogênio do nitrito (N-NO<sub>2</sub>). Previamente às análises, filtraram-se as amostras utilizando filtro analítico de 0,45 µm. Os

compostos nitrogenados foram mensurados utilizando os métodos HACH TNT 830 (método salicilato) e 8507 (método de diazotização) para TAN e N-NO<sub>2</sub>, respectivamente. As amostras foram lidas através de espectrofotômetro digital Hach DR 2800 (Hach Company, Colorado, USA).

### **Análise dos dados**

As variáveis de crescimento dos camarões (peso inicial, peso final, sobrevivência, taxa de crescimento específico), bem como a contagem de hemócitos e as variáveis de qualidade da água, foram analisadas utilizando-se a análise de variância (ANOVA) para determinar o efeito das concentrações de nitrito (0, 10, 20, 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) e sua interação com o sistema de cultivo, água clara x bioflocos, ao nível de significância de 5%. Os dados de sobrevivência foram transformados por meio da função  $\arcsen x^{0.5}$ . Os testes de normalidade de D'Agostino-Pearson e o homocedasticidade de Cochran foram efetuados antes das análises para verificar a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. Nos casos onde houve diferença significativa entre os tratamentos, aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias, ao nível de significância de 5% (ZAR, 1996).

### **RESULTADOS**

Os valores médios de temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH, salinidade, nitrogênio da amônia total (NAT) e nitrogênio do N-nitrito, monitorados durante o período experimental, estão apresentados na Tabela 1. Não foram encontradas diferenças significativas entre as variáveis de qualidade da água ( $P \geq 0,05$ ). Apenas na salinidade verificou-se diferença significativa entre os sistemas de cultivo, e na interação entre as concentrações de N-nitrito e os sistemas de cultivo ( $P < 0,05$ ).

Durante o período de cultivo, a temperatura média foi de 28,7°C, variando de 25,4 a 33,2°C. A

salinidade mínima (24,0 g L<sup>-1</sup>) e máxima (27,2 g L<sup>-1</sup>) indicou uma pequena variação, registrando uma média de 26,0 g L<sup>-1</sup>. O oxigênio dissolvido e o pH apresentaram concentrações médias de 5,64 mg L<sup>-1</sup> (4,52 a 6,80 mg L<sup>-1</sup>) e 8,09 (7,47 - 8,60), respectivamente.

Com relação às concentrações do nitrogênio da amônia, foram registradas diferenças significativas entre os sistemas de cultivo, com a menor média sendo registrada no tratamento com sistema de bioflocos (0,21±0,17 mg NAT L<sup>-1</sup>). Durante o período experimental, os níveis do NAT mantiveram-se inferiores a 1,0 mg NAT L<sup>-1</sup>, em todos os tratamentos, variando de 0,15 a 0,74 mg NAT L<sup>-1</sup>. Os dados do desempenho zootécnico dos camarões, após 30 dias de cultivo, em relação às concentrações de N-nitrito e os sistemas de cultivo, estão apresentados na Tabela 2. O peso inicial não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ( $P \geq 0,05$ ). O peso médio final registrado ao final do experimento foi de 2,75±0,56 g, resultando em um ganho de peso médio de 1,15 g. O peso final foi significativamente inferior no tratamento, com maior concentração de N-nitrito (40 mg L<sup>-1</sup>), quando comparado aos tratamentos com menores concentrações de N-nitrito (0-Controle, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>), os quais não diferiram entre eles. Observaram-se diferenças significativas nas interações entre os sistemas de cultivo e as diferentes concentrações de nitrito ( $P < 0,05$ ), com o sistema de água clara apresentando a menor média de peso final (2,46±0,57 g).

As taxas de crescimento específico (TCE) foram significativamente inferiores nos tratamentos com maiores concentrações de nitrito (20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), quando comparados aos tratamentos 0 (controle) e 10 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ( $P < 0,05$ ). O efeito dos sistemas de cultivo e suas interações com as concentrações de N-nitrito foram significativamente diferentes para este parâmetro ( $P < 0,05$ ), registrando-se a menor média no sistema de água clara (1,39 % dia<sup>-1</sup>).

**Tabela 1.** Médias e desvio-padrão das variáveis físico-químicas de qualidade da água durante o período experimental do camarão *Litopenaeus vannamei*, criado em sistema de água clara e bioflocos com diferentes concentrações de N-nitrito, por 30 dias.

Sistema de cultivo (SC)	Concentração nominal N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Temp (°C)	OD (mg L <sup>-1</sup> )	pH	Sal (g L <sup>-1</sup> )	NAT (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração real N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )
Água clara	0	28,58±1,48	5,69±0,34	8,0±0,10	26,18±1,07	0,60±0,46	0,11±0,11
	10	28,58±0,94	5,67±0,25	8,1±0,09	26,55±1,09	0,58±0,40	10,0±0,6
	20	28,51±1,23	5,71±0,29	8,07±0,25	26,22±0,96	0,58±0,37	21,6±1,0
	40	28,91±0,88	5,60±0,28	8,08±0,12	26,28±0,87	0,74±0,62	40,9±3,1
Bioflocos	0	28,67±1,06	5,66±0,29	8,12±0,17	25,60±0,44	0,15±0,13	0,32±0,09
	10	28,85±1,17	5,59±0,30	8,1±0,14	25,60±0,44	0,22±0,19	10,0±2,1
	20	28,95±1,22	5,67±0,26	8,11±0,17	25,54±0,57	0,23±0,20	22,0±1,8
	40	28,85±1,16	5,53±0,37	8,08±0,16	26,17±3,14	0,23±0,15	37,7±4,0
Efeito SC		NS	NS	NS	*	*	
Água clara		28,65±1,17	5,67±0,30	8,07±0,16	26,31±0,98 <sup>b</sup>	0,63±0,47 <sup>b</sup>	
Bioflocos		28,65±1,17	5,61±0,31	8,10±0,16	25,65±0,56 <sup>a</sup>	0,21±0,17 <sup>a</sup>	
Efeito N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS	NS	NS	NS	NS	NS
0		26,62±1,29	5,68±0,32	8,08±0,15	25,89±0,85	0,41±0,42	0,22±0,2
10		28,72±1,07	5,63±0,28	8,10±0,12	26,07±0,95	0,43±0,37	10,0±1,5
20		28,73±1,24	5,69±0,28	8,09±0,21	25,88±0,85	0,44±0,35	21,8±1,2
40		28,88±1,02	5,57±0,33	8,08±0,14	26,08±0,81	0,53±0,44	39,8±4,5
Interação SC Bioflocos x N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS	NS	NS	*	NS	

\*Valores apresentados como médias ± desvio padrão. AC - cultivo em água clara; BFT - cultivo com bioflocos; AC x BFT - interação das concentrações de N-NO<sub>2</sub> com o sistema de cultivo. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) NS = não significativo (P≥0,05). \*P<0,05. Temperatura da água (Temp); Oxigênio dissolvido (OD); Salinidade (Sal); Concentração de N-nitrito em mg L<sup>-1</sup> (N-NO<sub>2</sub>).

O efeito tóxico do nitrito aumentou com o tempo de exposição e o aumento das concentrações. Mortalidades foram observadas a partir do vigésimo dia de cultivo. A taxa de sobrevivência foi significativamente inferior no tratamento com maior concentração de N-NO<sub>2</sub> (40 mg L<sup>-1</sup>), quando comparado aos tratamentos com menores concentrações de N-NO<sub>2</sub> (0 - Controle, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>) (P<0,05). Já para a interação entre os sistemas de cultivo e as concentrações de N-nitrito, não houve diferença significativa (P≥0,05). As menores taxas de sobrevivência foram 85,2±12,8 e 40,7±23,1%, registradas nos

tratamentos A-20 e A-40, respectivamente. Ao final do cultivo, a sobrevivência média para os tratamentos água clara e bioflocos foi de 79,6 e 84,2%, respectivamente.

A contagem total de hemócitos para as concentrações de N-nitrito, sistemas de cultivo e suas interações está apresentada na Tabela 3 (P≥0,05). A CTH variou de 1,4 a 3,7 x 10<sup>3</sup> cel mm<sup>-3</sup> entre os tratamentos (P≥0,05). Não se observou diferença significativa na interação entre as concentrações de N-nitrito e os sistemas de cultivo, com relação à contagem total de hemócitos (P≥0,05).

**Tabela 2.** Variáveis de desempenho do camarão *Litopenaeus vannamei* criado por 30 dias em sistema de água clara e de bioflocos com diferentes concentrações de N-NO<sub>2</sub> (mg L<sup>-1</sup>). Peso inicial (Pi); Peso final (Pf); Sobrevivência (Sob); Taxa de crescimento específico (TCE).

Sistema de cultivo (SC)	N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Pi (g)	Pf (g)	Sob (%)	TCE (% dia <sup>-1</sup> )
Água clara	0	1,55±0,30	2,97±0,10	96,30±6,42	2,15±0,05
	10	1,59±0,13	2,87±0,43	96,30±6,42	1,95±0,54
	20	1,56±0,02	2,31±0,31	85,19±12,83	1,29±0,47
	40	1,63±0,06	1,71±0,07	40,74±23,13	0,15±0,22
Bioflocos	0	1,62±0,02	3,36±0,22	74,07±6,42	2,42±0,24
	10	1,60±0,09	3,06±0,52	85,19±6,42	2,14±0,64
	20	1,63±0,05	2,81±0,22	85,19±6,42	1,82±0,16
	40	1,61±0,06	2,90±0,41	92,59±12,83	1,93±0,33
Efeito SC		NS	*	NS	*
Água clara		1,58±0,07	2,46±0,57 <sup>a</sup>	79,63±26,73	1,39±0,88 <sup>a</sup>
Bioflocos		1,62±0,05	3,04±0,38 <sup>b</sup>	84,26±12,04	2,08±0,41 <sup>b</sup>
Efeito N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS	*	*	*
0		1,59±0,04	3,17±0,26 <sup>c</sup>	85,19±13,46	2,29±0,22 <sup>c</sup>
10		1,59±0,10	2,97±0,44 <sup>bc</sup>	90,74±12,99	2,04±0,54 <sup>bc</sup>
20		1,59±0,05	2,56±0,37 <sup>ab</sup>	85,19±9,07	1,56±0,43 <sup>ab</sup>
40		1,62±0,05	2,30±0,70 <sup>a</sup>	66,67±32,96	1,04±1,01 <sup>a</sup>
Interação SC Bioflocos x N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS	*	NS	NS

\*Valores apresentados como médias ± desvio padrão. AC - cultivo em água clara; BFT - cultivo com bioflocos; AC x BFT - interação das concentrações de N-NO<sub>2</sub> com o sistema de cultivo. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) NS = não significativo (P≥0,05). \* P<0,05. TCE - Taxa de crescimento específico = 100 x (ln Pf - ln Pi)/T; Pi - peso inicial, Pf - peso final.

**Tabela 3.** Contagem total de hemócitos (CTH) dos camarões submetidos a diferentes concentrações de nitrogênio do nitrito em dois sistemas de cultivo - água clara e bioflocos (média±desvio padrão).

Sistema de cultivo (SC)	N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	CTH (cel mm <sup>-3</sup> )
Água clara	0	3,6 x 10 <sup>3</sup> (±2,8)
	10	3,0 x 10 <sup>3</sup> (±3,5)
	20	2,2 x 10 <sup>3</sup> (±1,5)
	40	1,4 x 10 <sup>3</sup> (±1,1)
Bioflocos	0	2,9 x 10 <sup>3</sup> (±3,0)
	10	2,7 x 10 <sup>3</sup> (±2,9)
	20	4,3 x 10 <sup>3</sup> (±5,5)
	40	3,7 x 10 <sup>3</sup> (±4,6)
Efeito Sistema de cultivo		NS
Água clara		2,5 x 10 <sup>3</sup> (±2,5)
Bioflocos		3,4 x 10 <sup>3</sup> (±4,1)
Efeito N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS
0		3,2 x 10 <sup>3</sup> (±2,9)
10		2,9 x 10 <sup>3</sup> (±3,2)
20		3,2 x 10 <sup>3</sup> (±4,1)
40		2,6 x 10 <sup>3</sup> (±3,5)
Interação SC BFT x N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )		NS

\*Valores apresentados como médias ± desvio padrão. <sup>(1)</sup> Média de seis repetições. <sup>(2)</sup> Média de doze repetições. AC - cultivo em água clara; BFT - cultivo com bioflocos; AC x BFT - interação das concentrações de N-NO<sub>2</sub> com o sistema de cultivo; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (P<0,05) entre os tratamentos pelo teste de Tukey. NS = não significativo (P≥0,05). \* P<0,05.

## DISCUSSÃO

Durante o período experimental, as médias da temperatura (28,7°C) e da salinidade (26 g L<sup>-1</sup>) permaneceram dentro da faixa recomendada ao melhor desenvolvimento do *L. vannamei* (PONCE-PELAFOX, 1997). As concentrações médias de pH e oxigênio dissolvido foram 8,09 e 5,64 mg L<sup>-1</sup>, consideradas ideais para a criação de camarões peneídeos (VAN WYK e SCARPA, 1999). Dessa forma, temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido foram favoráveis ao crescimento e à sobrevivência dos camarões.

Dentre os compostos nitrogenados inorgânicos, os mais importantes no cultivo de organismos aquáticos são o nitrogênio da amônia total (NAT), o nitrogênio do nitrito (N-NO<sub>2</sub>) e o nitrato (NO<sub>3</sub>). O acúmulo desses compostos nos tanques de cultivo pode reduzir o crescimento; aumentar o consumo de oxigênio e a excreção dos animais; além de alterar as concentrações dos níveis de proteína e aminoácidos livres da hemolinfa dos camarões, causando elevada mortalidade (LIN e CHEN, 2001, 2003; KUHN *et al.*, 2010). Durante o período experimental, as concentrações do nitrogênio da amônia total mantiveram-se inferiores a 1 mg NAT L<sup>-1</sup>. Em nosso estudo, o inóculo de bioflocos (50% do volume) para os tanques do tratamento BFT sugerem que a comunidade de bactérias oxidantes da amônia (BOA) estava estabelecida, devido às baixas concentrações registradas para esse composto. Segundo LIN e CHEN (2001), o nível de segurança estimado para N-NH<sub>3</sub> é de 0,16 mg L<sup>-1</sup> ou 3,55 mg NAT L<sup>-1</sup> em 25 g L<sup>-1</sup> de salinidade, para juvenis do camarão *L. vannamei*.

O nitrito tem uma influência sobre diversas funções biológicas; quando presente na água é rapidamente incorporado à hemolinfa e ao intestino dos camarões, através da absorção branquial, e se acumula nos tecidos (CHENG e CHEN, 2000). O acúmulo de nitrito na água pode retardar o crescimento do camarão, aumentar a muda e, em casos extremos, causar a morte (CHEN e CHEN, 1992). No presente estudo, o peso final dos camarões foi significativamente influenciado pelas diferentes concentrações de nitrito pelos sistemas de cultivo e suas interações (P<0,05). Os camarões submetidos ao tratamento com sistema de água clara registraram as menores médias de peso final, acompanhados pelos

tratamentos com sistema de bioflocos nas concentrações mais elevadas de N-nitrito (20 e 40 mg L<sup>-1</sup>). Nossos resultados foram similares aos obtidos por FURTADO *et al.* (2016), que, ao avaliarem a toxicidade crônica do nitrito para o camarão *L. vannamei* cultivado em duas salinidades (8 e 24 g L<sup>-1</sup>), observaram diferenças significativas entre os dois grupos, e uma redução significativa no crescimento dos camarões com a elevação dos níveis de nitrito (0, 5, 10 e 20 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Do mesmo modo, CAMPOS *et al.* (2015) registraram diferenças significativas no peso médio final dos camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* submetidos à toxicidade crônica da amônia, nitrito e nitrato, por 40 dias. Os autores relataram que o crescimento foi negativamente relacionado com os níveis mais elevados de nitrito (5,3 e 10,6 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>).

Segundo CORREIA *et al.* (2014), em sistema de cultivo com bioflocos, o crescimento de pós-larvas do camarão *L. vannamei* pode ser reduzido quando expostas a concentrações de N-nitrito igual ou maior que 29 mg L<sup>-1</sup>. Por outro lado, MELO *et al.* (2015) não observaram diferenças significativas no crescimento do camarão *L. vannamei* cultivado em sistema de bioflocos, quando exposto a concentrações de 19,5 e 27,4 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. Em nosso estudo, ao avaliar o sistema de bioflocos, a taxa de crescimento específico registrou as menores médias (1,82 e 1,93% dia<sup>-1</sup>) para os tratamentos com maiores concentrações de N-NO<sub>2</sub> (20 e 40 mg L<sup>-1</sup> - B-20 e B-40, respectivamente). CAMPOS *et al.* (2013) registraram TCE variando de 1,18 a 1,27 % dia<sup>-1</sup>, ao avaliarem os efeitos crônicos da amônia, nitrito e nitrato no consumo alimentar do camarão *Farfantepenaeus brasiliensis*. Do mesmo modo, CAMPOS *et al.* (2014), trabalhando com a mesma espécie, registraram taxas de crescimento de 2,22, 2,46 e 2,12% dia<sup>-1</sup> para concentrações de 5,36, 10,64 e 21,21 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, durante 30 dias cultivo. No presente estudo, no tratamento do sistema de cultivo água clara, foram registradas taxas de crescimento específico de 2,15, 1,95, 1,29 e 0,15 % dia<sup>-1</sup> para as concentrações 0-Controle, 10, 20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, respectivamente. Nossos resultados sugerem que os camarões cultivados no sistema de bioflocos podem obter maior resistência às concentrações mais elevadas de N-nitrito.

Elevadas concentrações de nitrito nos sistemas de cultivo acarretam efeitos tóxicos aos camarões cultivados a curto e longo prazo, podendo afetar o crescimento e a sobrevivência dos animais e causando prejuízo na produção (VINATEA *et al.*, 2010; LIN e CHEN, 2003). Em nosso estudo, ao final de 30 dias de cultivo, registrou-se uma sobrevivência média de 85,2, 90,7, 85,2 e 66,7% para as concentrações de 0-Controle, 10, 20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, respectivamente ( $P < 0,05$ ). GROSS *et al.* (2004), ao estudarem a toxicidade do nitrito para o camarão *L. vannamei* cultivado por 21 dias em água com baixa salinidade (2g L<sup>-1</sup>), registraram sobrevivência média de 50% para as concentrações de 0, 1, 2 e 4 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> e 20% para a concentração de 8 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. CAMPOS *et al.* (2013) registraram taxas de sobrevivência superiores a 90% ao cultivarem o camarão *Farfantepenaeus brasiliensis* (70 juvenis m<sup>-2</sup>) por 28 dias de exposição crônica às concentrações de 5,63, 10,64 e 21,21 mg L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>2</sub>. Segundo BUIKEMA *et al.* (1982), testes de toxicidade aguda podem fornecer informações sobre a letalidade de substâncias tóxicas, mas não podem prever a concentração que tem efeitos subletais e crônicos sobre os organismos. LIN e CHEN (2003) estimaram o nível de segurança de 15,2 e 25,7 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para as salinidades de 25 e 35 g L<sup>-1</sup> para juvenis de *L. vannamei*, respectivamente. Por sua vez, CORREIA *et al.* (2014) avaliaram o efeito de duas rações comerciais (30 e 40% proteína bruta) em sistema de bioflocos, registrando índices acima de 82% na sobrevivência de pós-larvas de *L. vannamei* criadas em raceways (5000 PL m<sup>-3</sup>) por 62 dias, onde registraram concentrações máximas de 34 e 29 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

CHENG e CHEN (2001) relatam que a contagem total de hemócitos (CTH) é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar o estado de saúde dos camarões, e pode variar em resposta ao estresse ambiental, atividade endócrina, ciclo de muda e infecções virais ou bacterianas (JOHANSSON *et al.*, 2000; JIRAVANICHPAISAL *et al.*, 2006). No presente estudo, não foram observadas interações significativas entre as concentrações de nitrito e os sistemas de cultivo com relação à contagem total de hemócitos ( $P \geq 0,05$ ). Segundo BARRETTO *et al.* (2012), contagens de hemócitos abaixo de  $5 \times 10^6$  cel mm<sup>-3</sup>

são consideradas baixas ou muito baixas, superiores às registradas no presente estudo.

TSENG e CHEN (2004) examinaram os efeitos ao estresse do nitrito no camarão *L. vannamei*, na resposta imune ao *Vibrio alginolyticus*. Eles detectaram que o camarão exposto a concentrações de nitrito entre 5 e 22 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> apresentaram resistência significativamente reduzida à infecção bacteriana. Este estudo foi realizado por meio de análises da contagem de hemócitos (células vermelhas do sangue dos invertebrados). CHEN e CHEN (1992) observaram que as concentrações de nitrito na hemolinfa do camarão *Penaeus japonicus* foram maiores que as concentrações testes (2, 4, 8 e 20 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), após 16 horas de exposição.

## CONCLUSÕES

Os camarões submetidos à toxicidade do nitrogênio do nitrito, na presença de bioflocos, foram mais resistentes quando comparados àqueles criados em água clara. Dessa forma, a sobrevivência dos camarões não foi comprometida para os tratamentos com a tecnologia de bioflocos. As concentrações de nitrito de 20 e 40 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para os dois sistemas de cultivo - água clara e bioflocos afetaram o crescimento do camarão *Litopenaeus vannamei*. Complementarmente, nas condições experimentais adotadas, a quantidade total de hemócitos não foi influenciada pelas concentrações do nitrogênio do nitrito ou pelos sistemas de cultivo, mas registraram concentrações inferiores às consideradas adequadas pela literatura.

## AGRADECIMENTOS

À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) no âmbito do Programa Nacional de Carcinicultura (RECARCINA), pelo suporte financeiro. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de Pós-Graduação.



## REFERÊNCIAS

- ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M.A.; VERDEGEM, M.C.J.; HUQUE, S., SALAM; M.A., AZIM, M.E. 2008 C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production ponds. *Aquaculture*, 280(1-4): 117-123.
- AZIM, M.E.; LITTLE, D.C. 2008 The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283(1-4): 29-35.
- BARBIERI, E.; BONDIOLI, A. C. V.; MELO, C. B.; HENRIQUES, M. B. 2014 Nitrite toxicity to *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture Research*, 47(4): 1260-1268.
- BARBIERI, E. 2010 Acute toxicity of ammonia in White shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture*, 302(1-4): 231-237.
- BARRETTO, A.C.G.; GÓES, L.M. N.; NASCIMENTO, D.L.; MENDES, P.P.; RÊGO, E.W.; MENDES, E.S. 2012 Influência da refrigeração na preservação do número total de hemócitos de camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* cultivados utilizando-se citrato de sódio. *Ciência Animal Brasileira*, 13(4): 520-524.
- BUIKEMA, A.L.; NIEDERLEHNER, R.R.; CAIRNS, J.J. 1982 Biological monitoring Part IV. Toxicity testing. *Water Reserch*, 16: 239-262.
- BROWNELL, C.L. 1980 Water quality requirements for first feeding in marine fish larvae: ammonia, nitrite and nitrate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 44(2): 269-283.
- CAMPOS, B.R.; FURTADO, P.S.; D'INCAO, F.; WASIELESKY, W.; POERSCH, L.H.S. 2013 Compostos nitrogenados sobre o consumo alimentar de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*. *Ciência Rural*, 43(12): 2202-2207.
- CAMPOS, B.R.; FURTADO, P.S.; D'INCAO, F.; POERSCH, L.H.; WASIELESKY JR., W. 2014 The effect of ammonia, nitrite, and nitrate on the oxygen consumption of juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea:Decapoda). *Journal of Applied Aquaculture*, 261(1): 94-101.
- CAMPOS, B.R., FURTADO, P.S., D'INCAO, F., POERSCH, L., WASIELESKY, W. 2015 The chronic toxicity of ammonia, nitrite and nitrate on juvenile *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea: Decapoda). *Boletim do Instituto de Pesca*, 41(2): 261-269.
- CHAMBERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. 2001 Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N - I: Nutrient transformation and water quality benefits. *The Global Aquaculture Advocate*, p.53-56.
- CHAND, R.K, SAHOO, P.K. 2006 Effect of nitrite on the immune response of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 258(1-4): 150-156.
- CHEN, J.C., CHEN, S.F. 1992 Accumulation of nitrite in hemolymph of *Penaeus japonicus*. *Marine Ecology Progress Series*. 83(4): 305-308.
- CHEN, J.C.; CHENG, S.Y. 1995 Changes of oxyhemocyanin and protein levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient nitrite. *Aquatic Toxicology*, 33(3-4): 215-26.
- CHEN, J.C., CHIN, C.K., LEE, C.K. 1986 Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The First Asian Fisheries Forum. *Asian Fisheries Society*, 657-662.
- CHENG, S.Y., CHEN, J.C. 1999 Hemocyanin oxygen affinity, and the fractionation of oxyhemocyanin and deoxyhemocyanin for *Penaeus monodon* exposed to elevated nitrite. *Aquatic Toxicology*, 45(1): 35-46.
- CHENG, S.Y., CHEN, J.C. 2000 Accumulation of nitrite in the tissues of *Penaeus monodon* exposed to elevated ambient nitrite after different time periods. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(2): 183-192.
- CHENG, W., CHEN, J.C., 2001 Effects of intrinsic and extrinsic factors on the hemocyte profile of the prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish Shellfish Immunology*, 11(1): 53-63.
- CORREIA, E.S.; WILKENFELD, J. S.; MORRIS, T.C.; WEI, L.; PRAGNELL, D.I.; SAMOCHA, T.M.

- 2014 Intensive nursery production of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in biofloc-dominated system. *Aquacultural Engineering*, 59(3-março): 48-54.
- COSTA, A.M., MARTINS, P.C.C. 2009 Análise da contagem total de hemócitos e capacidade coagulante da hemolinfa do camarão *Litopenaeus Vannamei* (Boone,1931) em cultivos com ocorrência de necrose muscular. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35(4): 545-551.
- COLT, J.E.; ARMSTRONG, D.A. 1981 Nitrogen toxicity to fish, crustaceans and molluscs. In: ALLEN, L.J, EC KINNEY. (eds.) *Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, p.34-47.
- CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRATE, W. 2007 Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270(1-4): 1-14.
- CRAB, R.; KOCHVA, M.; VERSTRATE, W.; AVNIMELECH, Y. 2009 Bioflocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering*, 40(3): 105-112.
- EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J. 2006 Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4): 346-358.
- FURTADO, P.S.; CAMPOS, B.R.; SERRA, F.P.; KLOSTERHOFF, M.; ROMANO, L.A.; WASIELESKY JR., W. 2015 Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*, 23(1): 315-327.
- FURTADO, P.S., VALENZUELA, M.A.J., RODRIGUEZ-FUENTES, G., CAMPOS, B.R., WASIELESKY JR, W., GAXIOLA, G. 2016 Chronic effect of nitrite on the rearing of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* in two salinities. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 49(3): 201-211.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G.; PAÉZ-OSUNA, F. 2001 Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones, In: PAÉZ-OSUNA, F. (ed.). *Camaronicultura y Medio Ambiente*. El Colegio de Sonora, Mazatlán, Sinaloa, México. p.253-276.
- GROSS, A.; ABUTBUL, S.; ZILBERC, D. 2004 Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *The Journal of the World Aquaculture Society*, 35(3): 315-321.
- HAGOPIAN, D.S.; RILEY, J.G. 1998 A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural Engineering*, 18(4): 223-244.
- HARGREAVES, J.A. 2006 Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 34(3): 344-363.
- HENNIG, O., ITAMI, T., MAEDA, M., KONDO, M., NATUSKARI, Y., TAKAHASHI, Y. 1998 Analyses of haemolymph immunoparameters in kuruma shrimp infected with penaeid Rod-shaped DNA virus. *Fish Pathology*, 33(4): 389-393.
- KROUPOVA, H., MACHOVA, J., SVOBODOVA, Z. 2005 Nitrite influence on fish: a review. *Veterinarni Medicina - Czech*, 50(11): 461-471.
- KUHN, D.; SMITH, S.A.; BOARDMAN, G.D.; ANGIER, M.W.; MARSH, L.; FLICK JR, G.J. 2010 Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309(1-4): 109-114.
- JENSEN, F. 2003 Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 135(1): 9-24.
- JIRAVANICHPAISAL, P., LEE, B.L., SÖDERHÄLL, K. 2006 Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology*, 211(4): 213-36.
- JOHANSSON, M.W.; KEYSER, P.; SRITUNYALUKS, ANA, K., SÖDERHÄLL, K. 2000 Crustacean hemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 191(1-3): 45-52.
- JORY, D.E.; CABRERAS, R.T.; DURWOOD, M.D.; FEGAN, D.; LEE, G.P.; LAWRENCE, A.L.; JACKSON, J.C.; MCINTOSH, P.R.; CASTANEDA, A.J. 2001 A global review of shrimp feed management: status and perspectives. *Aquaculture*, The World Aquaculture Society, Baton Rouge.

- LIN, Y.C.; CHEN, J.C. 2001 Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259(1): 09-119.
- LIN, Y.C.; CHEN, J.C. 2003 Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224(1-4): 193-201.
- MAGGIONI, D.S., ANDREATTA, E.R., HERMES, E.M., BARRACCO, M.A. 2004 Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture*, 241(1-4): 501-515.
- MELO, F.P., FERREIRA, M.G.P., LIMA, J.P.V., CORREIA, E.S. 2015 Cultivo do camarão marinho com bioflocos sob diferentes níveis de proteína com e sem probiótico. *Revista Caatinga*, 28(4): 202-210.
- PIERCE, R.H.; WEEKS, J.M.; PRAPPAS, J.M. 1993 Nitrate toxicity to five species of marine fish. *The Journal of the World Aquaculture Society*, 24(1): 105-107.
- PONCE-PALAFIX, J.P. 1997 The Effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1-2): 107-115.
- TAHON, J.P.; HOOFF, D VAN.; VINCKIER, C.; WITTERS, R.; LEY, M.; LONHE, R. 1988 The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *The Biochemical Journal*, 249(3): 233-242.
- TIMMONS, M.B.; EBELING, J.M. 2010 Recirculating Aquaculture, 2nd ed. Cayuga Aquaculture Ventures, Ithaca, NY, USA, p.948.
- TOMASSO, J.R.; GAMICHAEL, G.J. 1986 Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to the Guadalupe bass, *Micropterus treculi*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 36(1): 866-870.
- TSENG, I.T.; CHEN, J.C. 2004 The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(4): 325-333.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; JETTEN, M.S.M. 1998 Microbiological conversions in nitrogen removal. *Water Science and Technology*, 38(1): 1-7.
- VAN WYK, P.; SCARPA, J. 1999 Water quality requirements and management. In: VAN WYK, P. et al (eds) *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p.141-162.
- VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.O.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B.L.; LAWSON, A.; SCHULER, A.; LEFFLER, J.W. 2010 Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, 42(1): 17-24.
- ZAR, J.H., 1996 Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey. p.622.