

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**POLICULTIVO DE TAMBAQUI E CAMARÃO-DA-
AMAZÔNIA: CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS,
AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL E
TRATAMENTO DO EFLUENTE**

Mateus Vitória Medeiros

Jaboticabal, São Paulo
2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**POLICULTIVO DE TAMBAQUI E CAMARÃO-DA-
AMAZÔNIA: CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS,
AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL E
TRATAMENTO DO EFLUENTE**

Mateus Vitória Medeiros

Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernando Monteiro Camargo

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, São Paulo
2017

M488p Medeiros, Mateus Vitória
Policultivo de tambaqui e camarão-da-amazônia : características
limnológicas, avaliação de impacto ambiental e tratamento de efluente
/ Mateus Vitória Medeiros. -- Jaboticabal, 2017
v, 111 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2017
Orientador: Antonio Fernando Monteiro Camargo
Banca examinadora: Tadeu de Siqueira Barros, Wagner Cotroni
Valenti, Marcello Villar Boock, Matheus Nicolino Peixoto Henares
Bibliografia

1. Qualidade de água. 2. Análise do ciclo de vida. 3. Macrófitas. I.
Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.05

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

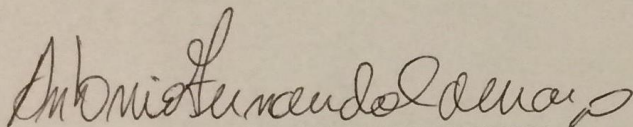
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA TESE: POLICULTIVO DE TAMBAQUI E CAMARÃO-DA-AMAZÔNIA:
CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS, AVALIAÇÃO DO IMPACTO E
TRATAMENTO DO EFLUENTE**

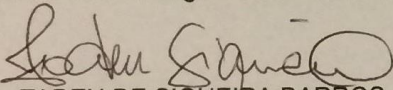
AUTOR: MATEUS VITÓRIA MEDEIROS

ORIENTADOR: ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO

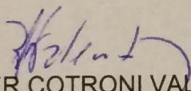
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela
Comissão Examinadora:



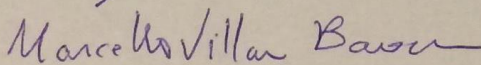
Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO
Departamento de Ecologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



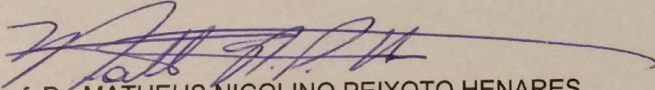
Prof. Dr. TADEU DE SIQUEIRA BARROS
Departamento de Ecologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Prof. Dr. WAGNER COTRONI VALENTI
Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista / UNESP



Pesquisador Científico - II MARCELLO VILLAR BOOCK
Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / AGENCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS
AGRONEGOCIOS



Prof. Dr. MATHEUS NICOLINO PEIXOTO HENARES
Departamento de Agronomia / UNIFEB - Barretos/SP

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2017

SUMÁRIO

Agradecimentos	6
Apoio financeiro	9
Resumo	10
Abstract.....	11
Capítulo I - Introdução Geral.....	12
Capítulo II - Qualidade de água em viveiros de aquicultura, avaliação de sistemas de monocultivo e policultivo	24
Capítulo III - Comparação de sistemas de tratamento de efluente de despesca de aquicultura com as macrófitas aquáticas <i>Eichhornia crassipes</i> e <i>Lemna minor</i>	47
Capítulo IV - Life cycle assessment of fish and prawn production: comparison of monoculture and polyculture freshwater systems in Brazil.....	67
Considerações finais	110

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio incondicional nas minhas escolhas durante a minha vida acadêmica e fora dela e que apesar da distância sempre estiveram sempre presentes quando precisei. Mãe, pai, Pedro e Marcos, sem palavras, esse trabalho também é de vocês. Às minhas avós Iolanda e Dora que apesar de não entenderem completamente o tema da minha tese, sempre me apoiaram. À toda a família, tios, tias, primos, primas, sobrinhos e sobrinhas.

Ao Prof. Dr. Antonio Fernando Monteiro Camargo que me aceitou como seu aluno de doutorado logo no primeiro e-mail, sem nunca antes ter ouvido falar de mim. Não só um orientador na parte acadêmica, mas uma fonte de sabedoria nas inúmeras conversas nos mais diversos assuntos.

Ao Dr. Joël Aubin, pesquisador do Institut National de la Recherche Agronomie em Rennes, França; responsável pela orientação durante o período de um ano em que passei no exterior. Um grande profissional, sempre aberto a novas ideias e discussões, além de ser uma grande pessoa, o que sem dúvida facilitou muito a adaptação a vida francesa.

Aos professores Dr. Sérgio Batlouni e Dr. Wagner Valenti pela idealização e coordenação do projeto no qual a tese foi desenvolvida. O prof. Dr. Wagner Valenti ainda contribuiu com valiosos comentários nas bancas de qualificação e defesa e forneceu todo apoio do Setor de Carcinicultura para o desenvolvimento de grande parte da presente tese.

Ao professor Dr. Tadeu Siqueira pelas sugestões tanto na banca que qualificação como na de defesa. Ao professor Dr. Matheus Henares e ao Dr. Marcello Boock pelas sugestões na banca de defesa.

Aos doutorandos que participaram do mesmo experimento Gelcirene, Daniela e Dallas. Em especial à Gel que me ajudou nas minhas coletas, mesmo na madrugada e finais de semana. Hoje dia, além de colega de profissão é uma grande amiga. À Dani que apesar de algumas conversas mais “calorosas” durante o experimento, ambos sempre pensavam no melhor para o trabalho, valeu o aprendizado.

A todos do laboratório de carcinicultura do CAUNESP, Michéle, Rafael, Danilo, Caio, Baltasar, Bruno “Bigode”, Marcelo “Zumbi”, Renatão, Giordano, aos estagiários e todos que passaram pelo laboratório e contribuíram de alguma forma durante o experimento. Aos

técnicos do CAUNESP, Roberto, Marcio e Valdecir, sempre ajudando a resolver nossos problemas.

Ao pessoal do laboratório de Ecologia Aquática da UNESP-Rio Claro, Alexandre, Cris, Gi, Laís, Amarílis, João e ao técnico Carlinhos pela grande ajuda e risadas durante as análises laboratoriais. Um agradecimento especial a Gi e ao Alexandre por me hospedar durante minhas visitas a Rio Claro.

Aos colegas de trabalho no INRA, Carla, Graciele, Julio, Angel, Tes, Clelia, Clement, Khaled, Michael, Thibault, Laure, Xiaobo e em especial à amiga portuguesa Mariana que me ajudou muito na adaptação, recepção e integração com os colegas do departamento. À Tiphaine Labbe pela ajuda com a burocracia e a todos outros funcionários e pesquisadores que ajudaram no desenvolvimento e entendimento do trabalho.

Aos professores da pós-graduação pelos ensinamentos durante as disciplinas e no dia-a-dia. Aos funcionários da secretaria David e Verinha pela ajuda na parte burocrática referente ao doutorado.

A todos com quem tive a satisfação de dividir a casa em Jaboticabal: Sabioni, Fabio “Spinha”, Saita, Rudney e Danilo (sendo os dois últimos, co-fundadores da república “Makako Gordo”). Ao Fábio com quem dividi a casa em Rio Claro.

Aos amigos de infância que apesar da distância o contato e as risadas são constantes: Alex, Vitor, Leo “Marelua”, Caio, Fernandinho, Guiga, Heitor “Magrinho”, Daniel, Francisco, Marcelo e Felipe Bier. Aos amigos de longa data que estão espalhados pelo Brasil em busca dos seus objetivos Átila e Gustavo, além resto da galera do “Kakalhada”. Aos amigos do antigo “Cafuné”: Vini, Marcel, Lucão, Rafa, Pedrinho, Renan, etc. Aos amigos dos tempos de mestrado Sidika e Fred.

À galera que fui conhecendo durante esses anos de doutorado, do CAUNESP: Talisia, Carol Nebo, Tomomi, Gimbo, Gi, Natalia, Iara, Daniel “Colombia”, Vito, Xina, Bruno, Valeria, etc. A toda galera do futebol de segunda e time campeão do “interreps” em 2014 “SODABIO”. À amiga e confeitadeira Aline, dona do melhor brigadeiro da região. Ao pessoal responsável pelos churrascos e festas, em grande parte pós-graduandos do departamento de Ecologia (Rio Claro). À Thaís pela grande ajuda e dicas na reta final deste doutorado.

A “família” brasileira na França que deixou a vida em Rennes um pouco mais verde e amarela, André, Felipe, Rodrigo e Camila Kato, Filippe, Andreza, Nat, Rachid, Arlan, Guilherme. Um agradecimento especial para Samira e Marilia, parceiras de boas conversas e risadas. Aos amigos franceses Perrine, Elise, Guillaume, Gaëtan, Xavier, Cyril, Andreas, Estelle, Gerard e Carlos (Espanhol) por ajudar a entender melhor a cultura local. À Lelia, parceira de viagens e professora de francês. Merci beaucoup!

Talvez alguns nomes foram esquecidos, mas nem por isso foram menos importantes durante esses quase quatro anos, passados entre o interior do estado de São Paulo, Florianópolis e Rennes (França). Muito obrigado a todos! Merci beaucoup à tous! Thank you very much!

APOIO FINANCEIRO

CAPES, Bolsa de Doutorado.

CAPES, Bolsa de Doutorado no exterior, através do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), Processo nº 99999.009393/2014-05.

FAPESP (Processo nº 10/51271-6), responsável por financiar o experimento.

RESUMO

O desenvolvimento sustentável da aquicultura na perspectiva ambiental inclui entre diversos tópicos, a utilização de espécies nativas, o melhor aproveitamento da ração através de sistemas mais eficientes e a redução da poluição via descarte de efluentes. Este estudo foi dividido em três etapas. Na primeira etapa foram avaliadas as características limnológicas de quatro sistemas de cultivo em viveiros escavados, dois policultivos e dois monocultivos. As espécies utilizadas são nativas da fauna brasileira, o tambaqui *Colossoma macropomum* e camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum*. Na segunda etapa, o efluente final originado dos viveiros (etapa anterior) foi tratado com duas macrófitas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor* por sete dias. Na última etapa, foram determinados os impactos ambientais da primeira etapa através da metodologia da análise do ciclo de vida (ACV). A eutrofização da água, na primeira etapa, apresentou valores semelhantes nos quatros sistemas testados. Os sistemas de tratamentos de efluentes foram eficientes na redução da concentração dos nutrientes para ambas macrófitas, com resultados satisfatórios no período de 48 horas. Já os resultados da ACV mostraram diferenças entre os quatros sistemas testados (na primeira etapa), no qual um dos sistemas de policultivo apresentou melhores resultados seguido pelo monocultivo de *C. macropomum*. O presente estudo demonstrou que soluções simples e sem necessidade de tecnologias modernas e de alto custo, como a utilização de policultivo e de tratamento de efluente podem reduzir os impactos da aquicultura brasileira.

PALAVRAS-CHAVE: *Colossoma macropomum*, *Macrobrachium amazonicum*, qualidade de água, *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes*, análise do ciclo de vida.

ABSTRACT

The sustainable development of aquaculture in the environmental viewpoint includes within many topics the use of native species, better use of the feed through more efficient rearing systems and reduction in pollution by discharged effluents. This study is divided in three stages. In the first stage, we analyzed the limnological characteristics in four rearing systems in earthen ponds, two polycultures and two monocultures. The species used are native from Brazil, the tambaqui fish *Colossoma macropomum* and the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. In the second stage, the final portion of the pond effluent (previous stage) was treated using two floating macrophytes *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor* for seven days. In the last stage, we evaluated the environmental impacts through the life cycle assessment (LCA) methodology. The water eutrophication, in the first stage, showed similar development in the four tested systems. The effluent treatment systems were efficient in reducing the nutrient concentration for both macrophytes, reaching satisfactory results within 48 hours. The LCA results showed differences among the four tested systems (in the first stage), in which one of the polyculture systems had the best performance followed by the monoculture of *C. macropomum*. This study demonstrates that simple solutions, without modern and expensive technologies, such as adding more species to monoculture system and an effluent treatment can reduce the impacts of the Brazilian aquaculture.

KEY-WORDS: *Colossoma macropomum*, *Macrobrachium amazonicum*, water quality, *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes*, life cycle assessment.

Capítulo I

Introdução geral

Introdução Geral

Histórico do projeto

Este estudo faz parte de um projeto inicialmente intitulado “Cultivo do mapará e do camarão-da-amazônia em sistemas multiespaciais e multitróficos”, financiado pela FAPESP (Processo: 10/51271-6) sob a responsabilidade do Prof. Dr. Sérgio Ricardo Batlouni. O projeto foi dividido em três etapas. Em uma destas etapas estava prevista a realização de um experimento em viveiros, no qual seriam avaliadas diferentes combinações entre as espécies, mapará (*Hypophthalmus marginatus*) e camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*). No entanto, devido às dificuldades de reproduzir e transportar o mapará da região norte do país até as dependências do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) em Jaboticabal, o mapará foi substituído por outra espécie de peixe nativa da Amazônia, o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Sendo assim o experimento foi composto por duas espécies nativas da fauna brasileira, o camarão-da-amazônia e o tambaqui.

A etapa do experimento contou com a participação de mais três alunos de doutorado, cada um com uma abordagem diferente. A aluna Gelcirene de Albuquerque Costa, orientada da Prof. Dra. Patrícia Maria Contente Moraes Valenti, trabalhou com as comunidades planctônicas e determinação de fontes de nutrientes via isótopos estáveis; e dois alunos orientados do Prof. Dr. Wagner Cotroni Valenti, a aluna Daniela Pimenta Dantas trabalhou com desempenho zootécnico e indicadores de sustentabilidade e o aluno Dallas Lee Flickinger trabalhou com ciclo de carbono, fósforo e nitrogênio.

A minha participação no projeto foi avaliar a qualidade de água nos viveiros de cultivo, o tratamento de efluente com macrófitas flutuantes e os impactos ambientais utilizando a Análise do Ciclo de Vida (ACV). A orientação deste estudo foi do Prof. Dr. Antonio Fernando Monteiro Camargo. A ACV, foi realizada por meio de uma colaboração com o Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) em Rennes, França, sob supervisão do pesquisador Dr. Joël Aubin.

O presente estudo contou com a colaboração: do setor de Carcinicultura do CAUNESP em Jaboticabal, onde foram realizados os experimentos em viveiros e de tratamento de efluente; do laboratório de Ecologia Aquática do departamento de Ecologia da UNESP em Rio Claro, onde foram feitas as análises laboratoriais e do INRA em Rennes (França) onde

foi realizado a ACV. O autor desta tese obteve bolsas de estudos oferecidas pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) no Brasil assim como no período no exterior, através do Programa de Doutorado Sanduiche no Exterior (PDSE).

Contextualização

A produção mundial de pescados em 2014 alcançou a marca de 167 milhões de toneladas e a aquicultura contribuiu com (44%) deste total (FAO, 2016a). No cenário brasileiro, a aquicultura já ultrapassa a pesca como principal fornecedor de pescado (Kubitza, 2016). A aquicultura brasileira em 2014 foi a 14ª maior produtora mundial e a segunda maior das Américas, somente atrás do Chile (FAO, 2016a). No entanto o Brasil tem um enorme potencial para o desenvolvimento desta atividade, uma vez que o país tem a maior reserva de água doce do mundo (12%) e um litoral de mais de 7300 km (IBGE, 2016).

Além da abundância de recursos hídricos, o Brasil possui uma ictiofauna muito rica, com mais de 2300 espécies peixes de água doce catalogadas (Rosa e Lima, 2008). No entanto, na aquicultura brasileira prevalece o cultivo de espécies exóticas, tanto na produção continental com tilápias (principalmente *Oreochromis niloticus*) como na marinha com o camarão *Litopenaeus vannamei* (Kubitza, 2016).

Segundo Alvarez-Lajonchère e Ibarra-Castro (2013) a escolha por determinadas espécies exóticas ocorre por diversos motivos, como rusticidade às condições de cativeiro, pacote tecnológico definido, aceitação do mercado e o mais importante, o bom desempenho zootécnico. No entanto, o cultivo de espécies exóticas pode causar impactos sobre a biodiversidade local, principalmente em caso de fugas. Entre os problemas mais frequentes estão: a competição por alimento, predação, hibridização e alteração do material genético caso venha a reproduzir com a população local e a introdução e disseminação de parasitas e doenças (Canonico et al., 2005; Naylor et al., 2000). A fim de reduzir estes impactos, o governo brasileiro criou uma portaria que restringe o cultivo de espécies exóticas à fauna e flora locais (IBAMA, 1998), além de financiar pesquisas com espécies nativas e que visam o desenvolvimento sustentável do setor.

As espécies selecionadas neste projeto foram o tambaqui (*C. macropomum*) e o camarão-da-amazônia (*M. amazonicum*). *C. macropomum* foi o segundo peixe mais

produzido no Brasil com 136 mil toneladas no ano de 2015, atrás apenas das tilápias com 219 mil toneladas (IBGE, 2015). O tambaqui é um peixe com caráter alimentar onívoro com tendência a frugivoria e herbivoria, o que torna esta espécie interessante do ponto de vista da sustentabilidade, pois não depende de farinha de peixe na sua dieta (Dairiki e da Silva, 2011). A espécie de camarão de água doce *M. amazonicum* tem hábito alimentar onívoro (Moraes-Valenti e Valenti, 2010; Odinetz-Collart, 1988) e grande potencial de cultivo (New, 2005). No entanto, a carcinicultura em água doce brasileira é dominada pela espécie exótica *Macrobrachium rosenbergii* com produção em torno de 100 toneladas anuais, enquanto a espécie nativa não possui registros de produção nas estatísticas da FAO (2016b).

A produção aquícola ocorre em diferentes sistemas de cultivo com uma ou mais espécies, entre estes encontra-se o policultivo em viveiros. Entre as várias definições, policultivo é a produção de duas ou mais espécies em uma unidade de cultivo, no qual diferentes hábitos alimentares e posicionamento na coluna de água são desejáveis para que não haja competição (Rahman e Verdegem, 2007; Woynarovich et al., 2010). O objetivo de associar espécies é maximizar o uso dos nutrientes da ração, aumentar a biomassa e reduzir o impacto gerado pela atividade (Chopin, 2013). Nestes sistemas o resíduo de uma espécie é a fonte de alimento da outra (Milstein, 2005). O melhor aproveitamento dos nutrientes da ração melhora a qualidade dos efluentes lançados em corpos de água receptores. No Brasil, já foram realizados policultivos envolvendo camarões de água doce com peixes, no entanto uma ou ambas as espécies eram exóticas, por exemplo: *M. rosenbergii* e variadas espécies de carpas, *M. rosenbergii* e *O. niloticus* (Santos e Valenti, 2002; Zimmermann e Rodrigues, 1998), *M. amazonicum* e *O. niloticus* (de Souza et al., 2009). Estudos envolvendo o policultivo de espécies nativas (*C. macropomum* e *M. amazonicum*), não foram avaliados.

Na busca por tornar a aquicultura uma atividade mais sustentável, adaptações aos sistemas de cultivo são constantes. A renovação de água durante o ciclo de produção visa melhorar a qualidade dentro das unidades de cultivo, com a adição de uma água de boa qualidade e consequente eliminação de uma água carregada de nutrientes e compostos tóxicos aos organismos aquáticos, como amônia e nitrito. Em sistemas fechados, não ocorre renovação de água, esta é adicionada apenas para repor as perdas por evaporação,

infiltração e eventuais falhas estruturais. Assim, não só reduzem o volume de água consumido, como também a emissão de efluente por ciclo de produção.

A poluição gerada pelo efluente oriundo de fazendas de produção aquícola é um dos principais problemas dos cultivos em viveiros (Jegatheesan et al., 2011). Excluindo o cultivo de algas e de moluscos bivalves que conseguem absorver os nutrientes diretamente da água; os demais organismos de cultivo principalmente de sistemas intensivos e superintensivos (peixes e crustáceos), geram efluentes enriquecidos em nutrientes. Segundo Boyd e Tucker (1998) em cultivos de peixes e camarões, menos de 30% da quantidade de nitrogênio e fósforo fornecidos via ração e fertilizantes são incorporados em biomassa na despesca. Os efluentes de aquicultura em geral são ricos em compostos nitrogenados, fósforo, matéria orgânica e sólidos em suspensão (Tucker, 1998). Além da poluição direta da água, na qual as características naturais são alteradas, os efluentes supereutrofizados da aquicultura afetam a comunidade bentônica e o ecossistema receptor em geral (Jegatheesan et al., 2011). Este fato levou organizações não governamentais que certificam cultivos sustentáveis e mesmo agências do governo a criarem padrões de qualidade de água, que determinam as condições na qual a água deve retornar ao ambiente (Bergheim e Brinker, 2003; Boyd, 2003). Sendo assim, este efluente, ao ser descartado, deve passar por um sistema de tratamento antes de retornar ao corpo da água dentro dos padrões estabelecidos. Existem diversas alternativas de tratamentos de efluentes, através de processos químicos, físicos ou biológicos, ou ainda uma combinação entre estes. Uma solução de baixo custo, de fácil manutenção e ecologicamente correta é o uso de sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas (Kivaisi, 2001).

As macrófitas possuem alto poder de absorção de nutrientes de ecossistemas aquáticos e podem ser utilizadas no tratamento de efluentes oriundos da aquicultura (Henares e Camargo, 2014; Lin et al., 2002; Santos e Camargo, 2015), domésticos e industriais (Kadlec e Wallace, 2009). O poder de absorção e produtividade variam de acordo com a espécie de macrófitas (Barko e Smart, 1983). Neste estudo, duas espécies de macrófitas flutuantes foram selecionadas, *Lemna minor* e *Eichhornia crassipes*, para avaliar a eficiência de remoção de nutrientes do efluente de despesca dos cultivos.

Em relação a quantificação dos impactos ambientais gerados pela aquicultura, diversas metodologias podem ser empregadas, Bartley et al. (2007) listaram entre elas: pegada

ecológica, análise de risco, avaliação do impacto ambiental, balanço de massa e energia, análise do custo benefício, análise do ciclo de vida, além dos indicadores de sustentabilidade desenvolvidos por Valenti et al. (2011). Neste estudo optou-se pela Análise de Ciclo de Vida (ACV), uma metodologia certificada pelo ISO (2006a, b) que vem sendo cada vez mais utilizada na avaliação de impactos ambientais na aquicultura (Aubin et al., 2015; Dekamin et al., 2015; Huysveld et al., 2013; Jerbi et al., 2012; Pelletier e Tyedmers, 2010). A ACV possibilita a identificação dos impactos ambientais nas diferentes etapas da cadeia produtiva, desde a produção da matéria prima da ração, estruturas, equipamentos, até o produto final, neste estudo o tambaqui e o camarão-da-amazônia. Essa separação por etapas facilita a identificação de gargalos e os processos menos eficientes do ponto de vista ecológico. A partir disto, fica mais fácil tomar decisões que reduzam os danos ao meio ambiente e que possam tornar a atividade mais sustentável do ponto de vista ambiental.

A metodologia criada pelo ISO (ISO, 2006a, b), para descrever e determinar a ACV deixa a liberdade de escolha para o pesquisador, como por exemplo, determinar os limites do sistema, definir o inventário e as categorias de impacto. Esta liberdade pode fazer com que estudos semelhantes tenham resultados completamente diferentes, consequentemente afetar a comparação entre eles. A fim de aperfeiçoar os estudos com ACV a comunidade acadêmica vem discutindo como padronizar e determinar as diretrizes para obter resultados mais realísticos e comparáveis, a exemplo dos trabalhos de Henriksson et al. (2014) e Pelletier e Tyedmers (2011). No presente estudo, incluímos o que há de mais recente e relevante para os estudos de ACV na aquicultura; análise de incerteza baseado no trabalho de Cirotto et al. (2013) e diferentes abordagens referentes à alocação de impactos. Deste modo, visamos contribuir com a comunidade científica a fim de alcançar uma produção sustentável.

Objetivos

- Caracterizar e comparar as características limnológicas nos viveiros dos sistemas de monocultivo e policultivo de tambaqui e camarão-da-amazônia;
- Avaliar o desempenho de sistemas de tratamento do efluente de viveiros com as macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor*;

- Estimar e comparar a sustentabilidade ambiental através do método de Análise do Ciclo de Vida (ACV).

Materiais e Métodos

O projeto foi dividido em três etapas. A primeira etapa constituiu o cultivo em viveiros, envolvendo o tambaqui e o camarão-da-amazônia, em diferentes sistemas de produção (monocultivo e policultivo). A segunda etapa envolveu os sistemas de tratamento de efluentes de despesca gerado pelos viveiros com duas macrófitas aquáticas (*E. crassipes* e *L. minor*). Por fim, na terceira etapa os impactos ambientais gerados na fase de cultivo em viveiros foram avaliados através da ACV. A seguir é apresentado uma síntese da metodologia de cada etapa da presente tese, os detalhes são mencionados dentro de cada capítulo.

1. Cultivo em viveiros

O experimento foi realizado nos viveiros (110-170 m²) do Setor de Carcinicultura do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) em Jaboticabal, São Paulo. O experimento teve duração de 170 dias e foi realizado no período de maiores temperaturas da região, de novembro/2013 a abril/2014. O cultivo ocorreu em sistema fechado, sem renovação de água. Os tratamentos propostos, com três réplicas cada, foram: I) monocultivo de *C. macropomum* (MM); II) monocultivo de *M. amazonicum* (MA); III) policultivo de *C. macropomum* com *M. amazonicum* com ambas as espécies livres nos viveiros (PF); IV) policultivo de *C. macropomum* cultivado em hapa (4 m³) com *M. amazonicum* livre nos viveiros (PH) (Figura 1). O tratamento com PH foi implementado pois não havia certeza sobre como seria a interação das duas espécies, havia o risco de predação das pós-larvas do camarão pelos peixes.

A densidade de estocagem do *M. amazonicum* nos tratamentos MA, PF e PH foi de 30 pós-larvas·m⁻². O *C. macropomum* foi estocado com densidade de 3 alevinos·m⁻² nos tratamentos MM e PF; no tratamento PH a densidade foi de 30 alevinos·m⁻³ na hapa, com uma única hapa por viveiro. Biometrias para avaliar o crescimento e ajuste de ração ocorreram mensalmente.

A coleta das variáveis de qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade) foram realizadas diariamente em dois períodos, 7 e 16 horas.

Quinzenalmente amostras de água foram coletadas para análises laboratoriais, a fim de determinar o nível de eutrofização dos sistemas durante o experimento. Mensalmente foi realizada a análise nictemeral das variáveis de água, em duas profundidades (0,3 e 0,8 metros abaixo da superfície d'água) para determinar a amplitude de variação diária entre a água da superfície e do fundo nos viveiros.

2. Tratamento de efluente

O efluente gerado na despesca dos viveiros com tratamentos MM, MA e PF foi transferido para um sistema estático de caixas de 2 m³ com macrófitas. O efluente do tratamento PH não foi avaliado devido ao número restrito de caixas experimentais (18). Duas espécies de macrófitas flutuantes, *E. crassipes* e *L. minor* foram utilizadas para avaliar a eficiência destas nos sistemas de tratamento de efluentes de despesca. No momento da despesca, o efluente dos últimos 20 cm de coluna d'água de cada viveiro foi bombeado para duas caixas (Figura 1). As macrófitas cobriram 80% da superfície de água em cada caixa, permitindo assim o crescimento das mesmas durante o período do experimento.

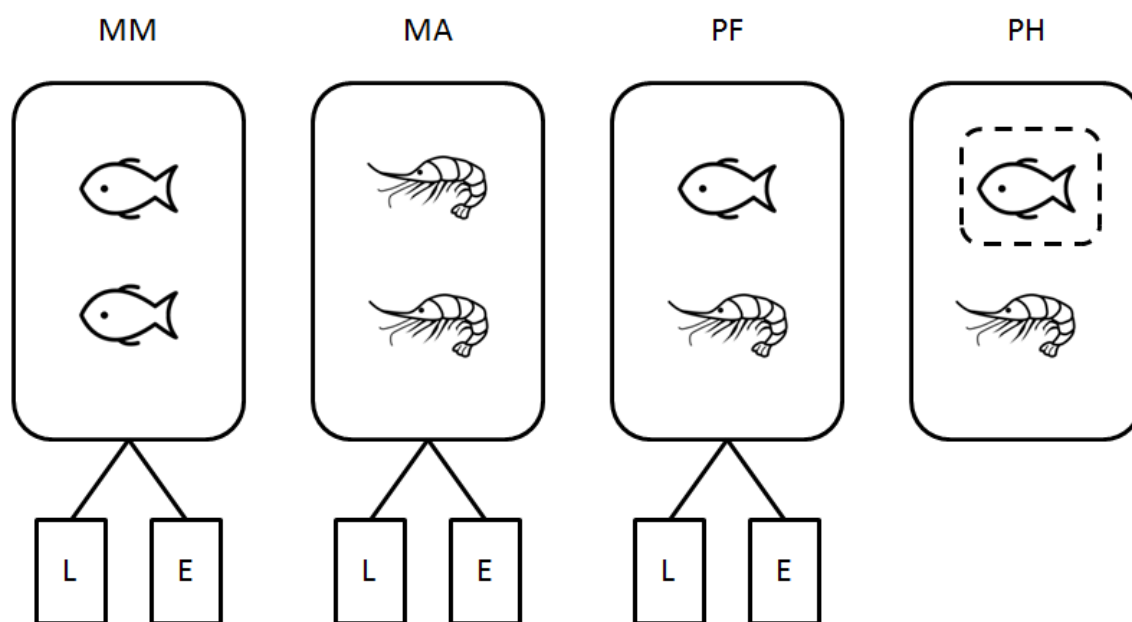


Figura 1: Os quatro tratamentos avaliados: monocultivo de *C. macropomum* (MM); monocultivo de *M. amazonicum* (MA); policultivo de *C. macropomum* com *M. amazonicum* com ambas as espécies livre no viveiro (PF); policultivo de *C. macropomum* em hapa com *M. amazonicum* livre nos viveiros (PH). O efluente de cada viveiro dos tratamentos MM, MA e PF encheu duas caixas que foram tratadas, cada uma com uma espécie de macrófitas flutuantes. As espécies utilizadas no tratamento do efluente foram *E. crassipes* (E) e *L. minor* (L).

Esta etapa durou sete dias, com coleta de amostras de água e das variáveis limnológicas (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade) antes da introdução das macrófitas, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 168 horas após a introdução. Já a taxa de sedimentação foi determinada em três momentos, 24, 72 e 168 após o início do tratamento. A biomassa inicial e final das macrófitas foi medida para avaliar o desempenho durante a fase do tratamento.

3. Análise do Ciclo de Vida (ACV)

Análise de ciclo de vida é uma metodologia, descrita pela ISO Standards, criada para analisar os impactos ambientais gerados por uma determinada atividade (ISO, 2006a, b). Este processo é dividido em quatro etapas principais: objetivo e escopo, análise de inventário, avaliação de impacto e interpretação dos resultados.

A primeira etapa (objetivo e escopo) determina as diretrizes do trabalho e define os limites do sistema. No presente estudo o objetivo foi comparar a eficiência dos quatro tratamentos (MM, MA, PF e PH). Neste trabalho incluímos desde a produção de alevinos e pós-larvas até a despesca. No entanto, o transporte ao mercado comprador, processamento e reciclagem não serão avaliados, conhecido como “cradle to farm gate” (“berço até o portão da fazenda”). A unidade funcional para realizar a comparação entre os sistemas foi 1 kg de biomassa animal. A segunda fase compreende a criação de um inventário contendo as entradas e saídas ambientais de todos os processos selecionados na fase anterior (escopo). Foram considerados no inventário os impactos relacionados a estrutura e equipamentos da fase de cultivo em viveiros, normalmente excluídos em estudos de ACV em viveiros de aquicultura.

Na terceira fase ocorreu a transferência dos dados coletados para diferentes categorias de impacto. As categorias de impacto selecionadas foram as que apareceram com maior frequência em estudos relacionados à aquicultura de acordo com Aubin (2013), são elas: mudança climática, eutrofização, uso acumulativo de energia, uso de área, acidificação, uso de produção primária e dependência de água. Na quarta fase, foi realizada a quantificação e interpretação dos resultados, além da identificação das fontes causadoras dos impactos. O programa utilizado para a realização da ACV foi o SimaPro® v8.0.5 (Pré Consultants, Amersfoort, Holanda).

Além das quatro fases básicas para a realização do ACV, foram avaliadas as três abordagens de alocação de impacto proposta pelo ISO 14044: expansão do sistema, alocação via relação física e alocação via outra relação. A incerteza do referente aos dados utilizados na criação do inventário também foi avaliada, utilizando a matriz desenvolvida por Ciroth et al. (2013).

Estruturação dos demais capítulos e status atual

Os capítulos seguintes foram escritos em formato de artigo uma vez que o objetivo final deste estudo é a publicação dos resultados em revistas científicas. A configuração dos capítulos está de acordo com a revista para qual os manuscritos serão submetidos posteriormente (**Capítulo** – Título – *Revista* – **Colaboradores**):

Capítulo II – Características limnológicas em viveiros de aquicultura: avaliação de sistemas de monocultivo e policultivo de espécies tropicais – *A definir*.

Capítulo III – Comparação de sistemas de tratamento de efluente de despesca de aquicultura com as macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor* – *A definir*.

Capítulo IV – Life cycle assessment of fish and prawn production: comparison of monoculture and polyculture freshwater systems in Brazil – *Journal of Cleaner Production* – **Joël Aubin**.

Referências

- Alvarez-Lajonchère, L., Ibarra-Castro, L., 2013. Aquaculture species selection method applied to marine fish in the Caribbean. *Aquaculture* 408-409, 20–29. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.05.020
- Aubin, J., 2013. Life Cycle Assessment as applied to environmental choices regarding farmed or wild-caught fish. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 8. doi:10.1079/PAVSNNR20138011
- Aubin, J., Baruthio, A., Mungkung, R., Lazard, J., 2015. Environmental performance of brackish water polyculture system from a life cycle perspective: A Filipino case study. *Aquaculture* 435, 217–227. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.09.019
- Barko, J.W., Smart, R.M., 1983. Effects of organic matter additions to sediment on the growth of aquatic plants. *J. Ecol.* 71, 161–175.
- Bartley, D., Brugère, C., Soto, D., Gerber, P., Harvey, B. (Eds.), 2007. Comparative assessment of the environmental costs of aquaculture and other food production sectors. *Methods for meaningful comparisons*. FAO, Rome.
- Bergheim, A., Brinker, A., 2003. Effluent treatment for flow through systems and European environmental regulations. *Aquac. Eng.* 27, 61–77. doi:10.1016/S0144-8609(02)00041-9
- Boyd, C.E., 2003. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture* 226, 101–112. doi:10.1016/S0044-8486(03)00471-X
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic

- Publishers, Boston.
- Canonico, G.C., Arthington, A., Mccrary, J.K., Thieme, M.L., 2005. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 15, 463–483. doi:10.1002/aqc.699
- Chopin, T., 2013. Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA). *Encycl. Sustain. Sci. Technol.* 49, 542–564. doi:10.1007/978-1-4419-0851-3
- Ciroth, A., Muller, S., Weidema, B., Lesage, P., 2013. Empirically based uncertainty factors for the pedigree matrix in ecoinvent. *Int. J. Life Cycle Assess.* 1–11. doi:10.1007/s11367-013-0670-5
- Dairiki, J., da Silva, T., 2011. Revisão de literatura: exigências nutricionais - compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e dasafios futuros. Manaus.
- de Souza, B.E., Stringuetta, L.L., Bodignon, a C., Bohnenberger, L., Boscolo, W.R., Feiden, A., 2009. Polyculture of fresh water shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeding with ration pelleted and mashed. *Semin. Agrar.* 30, 225–231.
- Dekamin, M., Veisi, H., Safari, E., Liaghati, H., Khoshbakht, K., Dekamin, M.G., 2015. Life cycle assessment for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production systems: A case study for Iran. *J. Clean. Prod.* 91, 43–55. doi:10.1016/j.jclepro.2014.12.006
- FAO, 2016a. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome.
- FAO, 2016b. Statistical Query Results [WWW Document]. *Glob. Aquac. Prod.* 1950-2014. URL http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_1862760652213661882.xml&outtype=html (accessed 3.16.16).
- Henares, M., Camargo, A., 2014. Treatment efficiency of effluent prawn culture by wetland with floating aquatic macrophytes arranged in series. *Brazilian J. Biol.* 74, 906–912. doi:10.1590/1519-6984.10413
- Henriksson, P.J.G., Guinée, J.B., Heijungs, R., De Koning, A., Green, D.M., 2014. A protocol for horizontal averaging of unit process data - Including estimates for uncertainty. *Int. J. Life Cycle Assess.* 19, 429–436. doi:10.1007/s11367-013-0647-4
- Huysveld, S., Schaubroeck, T., De Meester, S., Sorgeloos, P., Van Langenhove, H., Van Linden, V., Dewulf, J., 2013. Resource use analysis of *Pangasius* aquaculture in the Mekong Delta in Vietnam using Exergetic Life Cycle Assessment. *J. Clean. Prod.* 51, 225–233. doi:10.1016/j.jclepro.2013.01.024
- IBAMA, 1998. PORTARIA nº 145/98. Brazil.
- IBGE, 2016. Vamos conhecer o Brasil [WWW Document]. URL <http://www.ibge.gov.br/> (accessed 3.11.16).
- IBGE, 2015. Produção da pecuária municipal 2015. Rio de Janeiro.
- ISO, 2006a. ISO 14040: Environmental Management - Life Cycle Assessment - Principles and Framework. Geneva.
- ISO, 2006b. ISO 14044: Environmental Management - Life Cycle Assessment - Requirements and Guidelines. Geneva.
- Jegatheesan, V., Shu, L., Visvanathan, C., 2011. Aquaculture effluent: Impacts and remedies for protecting the environment and human health. *Encycl. Environ. Heal.* 123–135.
- Jerbi, M.A., Aubin, J., Garnaoui, K., Achour, L., Kacem, A., 2012. Life cycle assessment (LCA) of two rearing techniques of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Eng.* 46, 1–9. doi:10.1016/j.aquaeng.2011.10.001
- Kadlec, R., Wallace, S., 2009. Treatment wetlands, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton.

- Kivaisi, A.K., 2001. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: A review. *Ecol. Eng.* 16, 545–560. doi:10.1016/S0925-8574(00)00113-0
- Kubitza, F., 2016. Brazilian aquaculture: Constraints and challenges (Part 2). *Glob. Aquac. Advocate* 1–5.
- Lin, Y., Jing, S.-R., Lee, D.-Y., Wang, T.-W., 2002. Nutrient removal from aquaculture wastewater using a constructed wetlands system. *Aquaculture* 209, 169–184. doi:10.1016/S0044-8486(01)00801-8
- Milstein, A., 2005. Review Article Polyculture in aquaculture. *Anim. Breed. Abstr.* 73, 15–41.
- Moraes-Valenti, P.M., Valenti, W.C., 2010. Culture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*, in: New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., Kutty, M.N. (Eds.), *Freshwater Prawns — Biology and Farming*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 485–501.
- Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017–1024. doi:10.1038/35016500
- New, M.B., 2005. Freshwater prawn farming: Global status, recent research and a glance at the future. *Aquac. Res.* 36, 210–230. doi:10.1111/j.1365-2109.2005.01237.x
- Odinetz-Collart, O., 1988. Aspectos ecológicos do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) no Baixo Tocantins (PA-Brasil). *Mem. Soc. Ciencias Nat. La Salle* 48, 341–353.
- Pelletier, N., Tyedmers, P., 2011. An ecological economic critique of the use of market information in life cycle assessment research. *J. Ind. Ecol.* 15, 342–354. doi:10.1111/j.1530-9290.2011.00337.x
- Pelletier, N., Tyedmers, P., 2010. Life cycle assessment of frozen tilapia fillets from indonesian lake-based and pond-based intensive aquaculture systems. *J. Ind. Ecol.* 14, 467–481. doi:10.1111/j.1530-9290.2010.00244.x
- Rahman, M.M., Verdegem, M.C.J., 2007. Multi-species fish pond and nutrient balance, in: van der Zijpp, A.J., Verreth, J.A.J., Le, Q.T., van Mensvoort, M.E.F., Bosma, R.H., Beveridge, M.C.M. (Eds.), *Fishponds in Farming Systems*. Wageningen Academic Pub, Wageningen, pp. 79–88.
- Rosa, R., Lima, F., 2008. Peixes: Os peixes brasileiros ameaçados de extinção, in: Machado, A., Drummond, G., Paglia, A. (Eds.), *Livro Vermelho Da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção*. MMA, Brasília, p. 285.
- Santos, M.J.M. dos, Valenti, W.C., 2006. Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* stocked at different densities in polyculture systems in Brazil. *J. World Aquac. Soc.* 33, 369–376. doi:10.1111/j.1749-7345.2002.tb00513.x
- Santos, A.A., Camargo, A.F.M., 2015. Constructed wetlands for treatment of harvest effluents from grow-out ponds of the Amazon river prawn. *Aquac. Res.* 46, 2676–2684. doi:10.1111/are.12423
- Tucker, C.S., 1998. Characterization and management of effluents from aquaculture ponds in the southeastern United States. *SRAC Publ.* 470 6 pp.
- Valenti, W.C., Kimpara, J.M., Preto, B.D.L., 2011. Measuring aquaculture sustainability. *World Aquac.* 42, 26–30.
- Woynarovich, A., Moth-Poulsen, T., Péteri, A., 2010. Carp polyculture in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia, *FAO Fisheries And Aquaculture Technical Paper* 554. Roma.
- Zimmermann, S., Rodrigues, J., 1998. Policultivo de camarão de água doce com peixes, in: VALENTI, W. (Ed.), *Carnicicultura de Água Doce: Tecnologia Para a Produção de Camarões*. IBAMA, Brasília, pp. 269–278.

Capítulo II

Características limnológicas em viveiros
de aquicultura: avaliação de sistemas de
monocultivo e policultivo de espécies
tropicais

Características limnológicas em viveiros de aquicultura: avaliação de sistemas de monocultivo e policultivo de espécies tropicais

Resumo

As características limnológicas de viveiros de aquicultura são afetadas pelo sistema de cultivo, espécies cultivadas e o manejo aplicado. Em sistemas de policultivo, é desejado um melhor aproveitamento da ração fornecida (via assimilação na biomassa) e consequente redução nas concentrações de nitrogênio e fósforo nos efluentes descartados em corpos de água receptores. No presente estudo foram avaliadas as características limnológicas de sistemas de cultivo envolvendo duas espécies nativas a fauna brasileira, o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Os quatro sistemas testados foram: I) monocultivo de *C. macropomum* (MM); II) monocultivo de *M. amazonicum* (MA); III) policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livres no viveiro (PF); IV) policultivo de *C. macropomum* cultivado em hapa (4 m³) e *M. amazonicum* livre no viveiro (PH). Mensalmente foi realizada uma análise nictemeral em duas profundidades (0,3 e 0,8 m abaixo da superfície) para avaliar a estratificação das variáveis temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade. Os resultados da análise de componentes principais (PCA) mostraram padrão semelhante nos primeiros meses de cultivo para todos os tratamentos, no entanto nos últimos dois meses o PH apresentou menor eutrofização. Quando comparadas, a eutrofização da água de cultivo com a produtividade de cada sistema, PF e MM mostraram-se os menos impactantes. PF tem a vantagem de ter dois produtos ao final do ciclo, um com alto valor de mercado (camarão) contra apenas o peixe no monocultivo. Este sistema PF tem potencial para melhorias quanto a assimilação de nutrientes (nitrogênio e fósforo) através da adição de outras espécies animais e/ou vegetais. Em relação a estratificação das variáveis, os meses onde ocorram a combinação de altas temperaturas com alta eutrofização, apresentaram maiores diferenças entre superfície e fundo.

Palavras-chave

Nictemeral, nitrogênio, fósforo, *Colossoma macropomum*, *Macrobrachium amazonicum*, estratificação

Introdução

A produção de peixes e camarões na aquicultura utiliza diferentes tipos de sistemas de criação, entre eles os monocultivos intensivos, semi-intensivos e extensivos, cultivos com duas ou mais espécies e ainda sistemas integrados com a agricultura e a pecuária. Os monocultivos intensivos são muito utilizados em escala industrial pois possuem uma alta produtividade, no entanto a eficiência na absorção da dieta é menor comparado aos sistemas menos intensificados (Martin et al., 1998). Segundo Boyd e Tucker (1998) menos de 30% do total de nitrogênio (N) e fósforo (P) fornecidos via ração e fertilizantes são incorporados à biomassa dos animais de cultivo. Uma das alternativas para melhorar o aproveitamento da dieta ofertada é a adição de mais espécies ao sistema, no qual o resíduo gerado por uma se torna a fonte de energia para a outra. No entanto, para o sucesso do cultivo de múltiplas espécies (policultivo), é importante que não haja competição por espaço e alimento entre estas (Rahman e Verdegem, 2007).

A introdução de espécies de diferentes níveis tróficos e posicionamento na coluna de água pode alterar a ecologia dentro de um viveiro, com consequências sobre o ciclo de N e P, além de modificar a composição de organismos planctônicos e bentônicos (Milstein et al., 2009). Vários estudos têm comparado sistemas de monocultivo com policultivo em um mesmo experimento, no entanto o foco é a produtividade dos organismos cultivados (Garcia-Pérez et al., 2000; Papoutsoglou et al., 2001; Rahman et al., 2006; Uddin et al., 2007). A comparação destes sistemas com foco na qualidade de água tem sido pouco explorada (Rahman et al., 2008; Shoko et al., 2014).

No presente estudo nós avaliamos sistemas de monocultivo e policultivo sem renovação de água com duas espécies nativas do Brasil com potencial para cultivo comercial: o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*). As duas espécies são onívoras, no entanto com preferências alimentares diferentes no ambiente natural. *Colossoma macropomum* privilegia frutos, sementes e zooplâncton (Goulding e Carvalho, 1982) enquanto *M. amazonicum* é uma espécie oportunista, que se alimenta de fungos, insetos, tecido vegetal, pequenos crustáceos e matéria orgânica (Odinetz-Collart, 1988). Além das diferenças quanto a preferência alimentar, as duas espécies têm posicionamento distinto na coluna de água, já que *C. macropomum* tem hábito pelágico e *M. amazonicum* é bentônico na fase adulta.

Considerando estas características é esperado que não haja nenhum prejuízo a produtividade das espécies em cultivo, no entanto, os impactos sobre a qualidade de água são ainda desconhecidos.

Segundo Ellis et al. (2002) as características limnológicas da água em sistemas de cultivo são fatores de extrema importância uma vez que estão relacionadas ao bem-estar animal. A baixa qualidade de água pode gerar perda de apetite, mortalidade em massa (Boyd, 1982), elevação na concentração da forma tóxica da amônia (NH_3) (Wurts e Durborow, 1992) e aumento do estresse e susceptibilidade a doenças (Ellis et al., 2002). Os impactos à saúde dos animais refletem na produtividade do sistema e podem gerar perdas econômicas aos produtores. De fato, elementos como biomassa, qualidade e quantidade da ração, água de abastecimento, o uso de fertilizantes entre outras técnicas de manejo influenciam as características limnológicas da água do sistema (Macedo e Sipaúba- Tavarres, 2010).

A estratificação da coluna de água em viveiros de aquicultura é um tópico negligenciado por estudos relacionados a qualidade de água. A falsa ideia de homogeneidade em toda a coluna, se deve a pequena profundidade dos viveiros de cultivo, 0,8 a 1,5 metros. No entanto, há registros de estratificação diárias, com diferenças entre as camadas da superfície e fundo durante o dia e homogeneização das camadas na parte noturna (Henry-Silva et al., 2010). A menor qualidade encontrada na camada inferior pode prejudicar o bom desenvolvimento dos animais de cultivo, em especial os organismos de hábitos bentônicos (Reig et al., 2007).

Com base no exposto acima, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o padrão das características limnológicas em sistemas de monocultivo e policultivo, com as espécies *M. amazonicum* e *C. macropomum*. Desta maneira, testaremos a hipótese na qual sistemas de policultivo apresentam água com melhores condições do que sistemas de monocultivo, uma vez que ocorre um melhor aproveitamento da dieta pelas diferentes espécies.

Materiais e Métodos

Delineamento experimental

O experimento foi desenvolvido em 12 viveiros de terra do setor de carcinicultura do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) em Jaboticabal, São Paulo, Brasil. As dimensões dos viveiros variaram entre 110 e 170 m² de área e entre 0,85 e 1,19 m de profundidade. A duração do experimento foi de 170 dias, compreendendo o período de

novembro de 2013 a abril de 2014. Foi utilizado sistema de produção sem renovação de água, e apenas com adição desta para repor as perdas por evaporação e infiltração.

Quatro sistemas de engorda, com três réplicas cada, foram avaliados: I) monocultivo de *C. macropomum* (MM); II) monocultivo de *M. amazonicum* (MA); III) policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livres no viveiro (PF); IV) policultivo de *C. macropomum* cultivado em uma única hapa (4 m^3) e *M. amazonicum* livre no viveiro (PH). Hapas são gaiolas feitas de malha sintética e sustentados por estacas ou bambu, usadas para separar diferentes indivíduos de espécies ou tamanho em um mesmo viveiro. As pós-larvas (pls) de *M. amazonicum* foram estocadas com densidade de $30 \text{ pls} \cdot \text{m}^{-2}$ nos tratamentos MA, PF e PH. A estocagem dos alevinos de *C. macropomum* variou entre os tratamentos, MM e PF foram estocadas com $3 \text{ alevinos} \cdot \text{m}^{-2}$ enquanto no tratamento PH a estocagem levou em consideração o volume da hapa, com $30 \text{ alevinos} \cdot \text{m}^{-3}$. A produtividade de cada tratamento assim como a taxa de conversão alimentar estão indicadas na Tabela 1.

Tabela 1. Dados de estocagem e desempenho dos tratamentos testados. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livres no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro; CAA total = conversão alimentar, considerando a biomassa total do viveiro (peixe e camarão juntos nos tratamentos de policultivo); CAA peixe = conversão alimentar considerando somente a biomassa dos peixes. Letras indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ($P < 0,05$). *Estocagem em relação ao volume da hapa $30 \text{ alevinos} \cdot \text{m}^3$ ou 120 alevinos por hapa.

	MM	MA	PF	PH
Estocagem inicial peixe ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	53,2	-	53,2	$15,2 \pm 1,8^*$
Estocagem inicial camarão ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	-	11,3	11,3	11,3
CAA total	$1,14 \pm 0,04$	$2,80 \pm 0,08$	$0,97 \pm 0,01$	$0,72 \pm 0,16$
CAA peixe	$1,14 \pm 0,04$	-	$1,12 \pm 0,03$	$1,15 \pm 0,04$
Produtividade peixe ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	5386 ± 945^a	-	4349 ± 822^a	914 ± 175^b
Produtividade camarão ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	-	953 ± 163^a	663 ± 73^b	551 ± 91^b
Produtividade total ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	5386 ± 945^a	953 ± 163^b	5011 ± 869^a	1465 ± 267^b

Os tratamentos que continham peixes (MM, PF e PH) foram alimentados com três tipos de ração comercial para peixes onívoros (32-45% proteína bruta e 4,5-7,0% lipídeos), já o monocultivo de camarão (MA) recebeu dois tipos de ração para camarão marinho (38-40% proteína bruta e 7,5% lipídeos). A medida que os animais cresceram foi fornecida uma ração com menor porcentagem de proteína bruta. A composição centesimal de cada ração

(disponibilizada pelo fabricante) utilizada no experimento esta apresentada na Tabela A1 do material suplementar. O uso de ração de camarão marinho na alimentação de camarões de água doce é uma prática comum no Brasil, uma vez que não existem rações comerciais específicas para estes animais. A quantidade de ração fornecida foi ajustada mensalmente de acordo com a biomassa dos animais em cada viveiro. Nos tratamentos de policultivo (PF e PH) considerou-se a biomassa apenas dos peixes. A taxa de arraçoamento dos tratamentos que continham peixes foi inicialmente de 6% e finalizou com 3% da biomassa. Já no tratamento MA, começou com 10%, reduziu para 5% e terminou o experimento com 3% da biomassa do viveiro.

A aeração foi ligada em todos os viveiros a partir do terceiro mês de cultivo, entre 1:30-5:30 am, alternando 60 minutos ligados com 30 minutos desligados. A aeração foi realizada com um aerador de hélice por viveiro. No dia da coleta nictemeral a aeração foi desligada.

Coleta de dados e análises laboratoriais

As variáveis limnológicas (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade) foram mensuradas diariamente e uma vez por mês nós fizemos uma avaliação nictemeral. As coletas diárias ocorreram entre 7 e 8 am, na parte superficial da coluna de água (0,3 m da superfície). Na avaliação nictemeral, nós coletamos os dados em intervalos de duas horas por um período de 24 horas (iniciando às 5 am e finalizando às 5 am do dia seguinte), em duas profundidades diferentes 0,3 e 0,8 metros abaixo da superfície. A sonda multiparametro YSI Professional Plus (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA) foi utilizada na coleta de dados das quatro variáveis limnológicas.

Quinzenalmente, coletamos amostras de água para determinação da concentração de compostos nitrogenados, nitrogênio Kjeldahl total (NT) (Mackereth et al., 1978), N-amoniacal (Koroleff, 1976), nitrito e nitrato (Mackereth et al., 1978). O nitrogênio inorgânico total (NIT) é o resultado da soma das formas dissolvidas de nitrogênio (N-amoniacal, nitrito e nitrato). Além destes, nós mensuramos a concentração de fósforo total (PT) e fósforo dissolvido (PD) (Golterman et al., 1978), sólidos suspensos totais (Boyd e Tucker, 1992); e clorofila- α (Marker et al., 1978; Sartory e Grobbelaar, 1984) e avaliamos a transparência da água dos viveiros com auxílio de um disco de Secchi. As características da água de abastecimento, assim como a entrada diária para repor as perdas (soma da evaporação e infiltração) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Características limnológicas da água de entrada dos viveiros e perda diária de água (evaporação e infiltração) de cada tratamento (media $\pm$ 1 desvio padrão). Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro; NT = nitrogênio Kjeldahl total; NIT = nitrogênio inorgânico total; PT = fósforo total; PD = fósforo dissolvido, SST = sólidos suspensos totais.

Água de entrada viveiro			
Conc. nutrientes		Perdas diária (%)	
NT (mg/L)	0.4 $\pm$ 0.1	MM	5.20 $\pm$ 0.82
NIT (μ g/L)	293 $\pm$ 241	MA	7.07 $\pm$ 2.96
PT (μ g/L)	196 $\pm$ 31	PF	3.07 $\pm$ 0.76
PD (μ g/L)	25 $\pm$ 9	PH	5.07 $\pm$ 1.83
SST (mg/L)	20 $\pm$ 7		

Análise dos dados

Aos valores de temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, pH, sólidos suspensos totais, clorofila- α , nitrogênio Kjeldahl total e fósforo total foi aplicada uma análise de componentes principais (PCA) a fim de simplificar a avaliação e compreensão do comportamento das variáveis avaliadas durante os meses de experimento. Os valores utilizados foram as médias mensais, de cada uma das variáveis, das três réplicas de cada tratamento.

Os resultados da coleta nectimeral representam a diferença entre os valores obtidos a 0,3 m e 0,8 m de profundidade abaixo da superfície. Assim, resultados superiores a zero indicam que a camada superficial da coluna de água possui maiores valores que a camada do fundo, e resultados inferiores a zero, o inverso.

As diferenças entre os tratamentos referente à produtividade dos animais (Tabela 1), apresentada no materiais e métodos, foram determinadas pela ANOVA e a posteriori por teste de Tukey HSD no software R.

Resultados

Os quatro tratamentos tiveram padrão semelhante nas concentrações dos nutrientes nitrogênio e fósforo nos meses de cultivo (Figura 1). As concentrações das formas totais aumentaram gradativamente no decorrer do experimento, o nitrogênio Kjeldahl total no início do experimento variou entre 0,19-0,22 mg L⁻¹ e ao final os valores variaram 0,44-0,50 mg L⁻¹. Já as concentrações de fósforo total no início do experimento permaneceram abaixo de 120 μ g L⁻¹ e ao final foram superiores a 330 μ g L⁻¹. O nitrogênio inorgânico

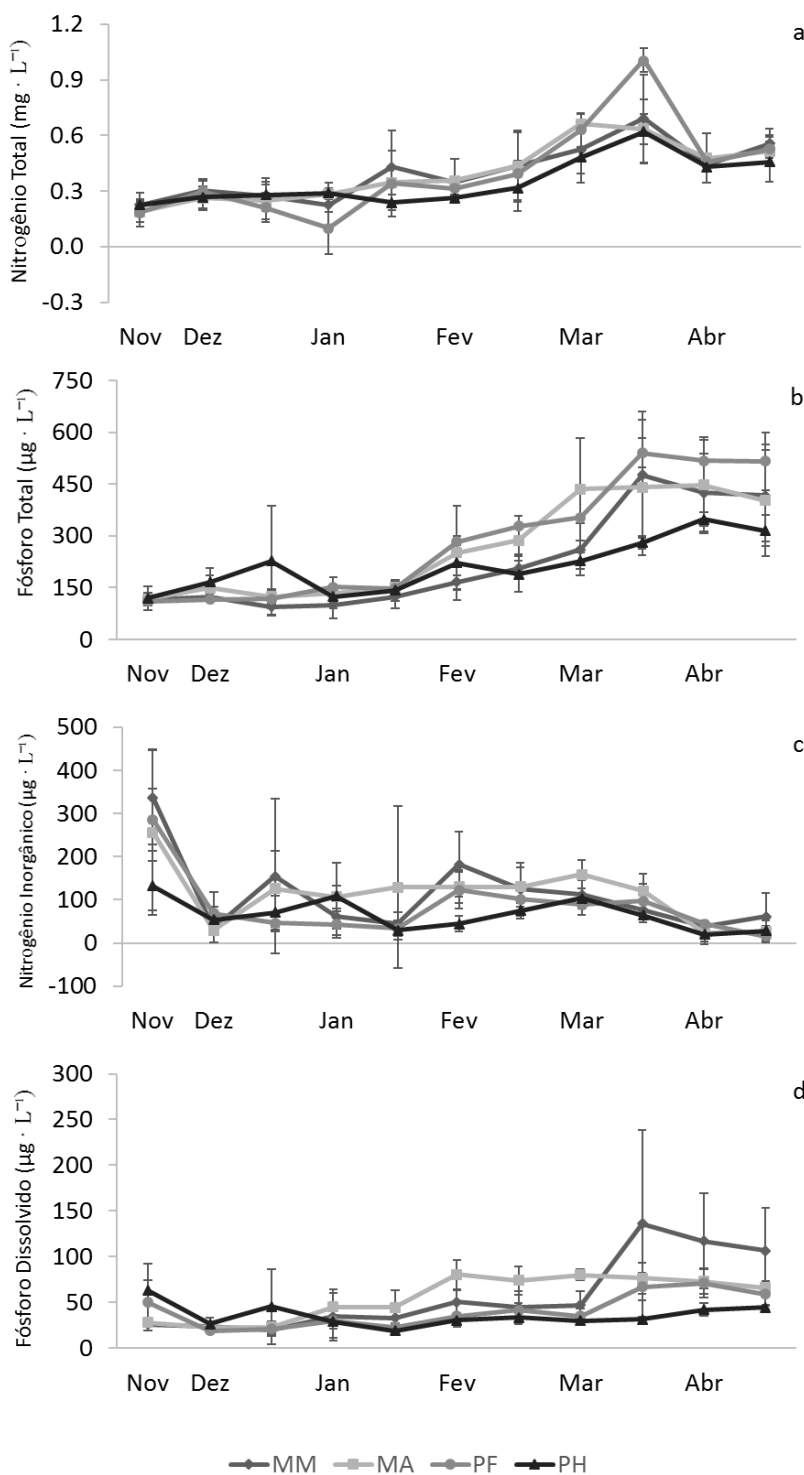


Figura 1. Concentração média dos nutrientes na água dos viveiros durante o experimento: a) nitrogênio Kjeldahl total; b) fósforo total; c) nitrogênio inorgânico total; d) fósforo dissolvido. As barras de representam o desvio padrão dentro de cada tratamento. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

Tabela 3. Valores das variáveis limnológicas e da concentração dos nutrientes (média $\pm$ 1 desvio padrão) durante os meses do experimento. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro; DO = oxigênio dissolvido; TSS = sólido suspensos totais; NT = nitrogênio Kjeldahl total; PT = fósforo total.

Mês	Tratamento	Nº Referência	Temperatura (°C)	DO (mg·L ⁻¹)	Condutividade (µS·cm ⁻²)	pH	TSS (mg·L ⁻¹)	Clorofila (µg·L ⁻¹)	NT (mg·L ⁻¹)	PT (µg·L ⁻¹)
NOV	MM	1	27,3 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 0,3	116,4 $\pm$ 0,9	8,4 $\pm$ 0,0	4,4 $\pm$ 1,8	0,013 $\pm$ 0,018	0,22 $\pm$ 0,02	114,6 $\pm$ 3,5
	MA	2	27,2 $\pm$ 0,1	5,4 $\pm$ 0,3	117,5 $\pm$ 1,0	8,4 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 1,3	0,038 $\pm$ 0,030	0,19 $\pm$ 0,05	116,8 $\pm$ 17,9
	PF	3	27,5 $\pm$ 0,0	5,8 $\pm$ 0,4	117,9 $\pm$ 0,9	8,5 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 2,5	0,033 $\pm$ 0,041	0,18 $\pm$ 0,07	110,2 $\pm$ 24,3
	PH	4	27,4 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 0,7	117,5 $\pm$ 1,3	8,5 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,8	0,010 $\pm$ 0,026	0,22 $\pm$ 0,06	119,0 $\pm$ 34,1
DEZ	MM	5	28,1 $\pm$ 0,3	4,8 $\pm$ 0,3	118,8 $\pm$ 2,7	9,0 $\pm$ 0,1	5,0 $\pm$ 3,0	0,027 $\pm$ 0,041	0,29 $\pm$ 0,06	108,8 $\pm$ 22,2
	MA	6	28,0 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,6	117,7 $\pm$ 6,1	9,0 $\pm$ 0,2	9,7 $\pm$ 10,8	0,043 $\pm$ 0,023	0,25 $\pm$ 0,08	135,8 $\pm$ 29,9
	PF	7	28,2 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,1	119,2 $\pm$ 3,1	9,1 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 3,1	0,040 $\pm$ 0,036	0,25 $\pm$ 0,08	116,3 $\pm$ 17,4
	PH	8	28,0 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,0	115,4 $\pm$ 1,5	9,2 $\pm$ 0,1	9,7 $\pm$ 2,9	0,051 $\pm$ 0,038	0,27 $\pm$ 0,07	196,2 $\pm$ 109,4
JAN	MM	9	28,6 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 0,2	129,8 $\pm$ 2,9	8,0 $\pm$ 0,1	21,1 $\pm$ 11,2	0,121 $\pm$ 0,161	0,33 $\pm$ 0,17	112,0 $\pm$ 35,2
	MA	10	28,4 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,3	125,0 $\pm$ 11,8	8,1 $\pm$ 0,1	16,8 $\pm$ 9,6	0,125 $\pm$ 0,124	0,32 $\pm$ 0,04	142,6 $\pm$ 31,3
	PF	11	28,7 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 0,2	123,8 $\pm$ 5,0	8,5 $\pm$ 0,0	16,9 $\pm$ 6,7	0,073 $\pm$ 0,035	0,30 $\pm$ 0,16	149,0 $\pm$ 12,6
	PH	12	28,4 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,7	123,0 $\pm$ 5,3	8,4 $\pm$ 0,5	20,1 $\pm$ 11,5	0,186 $\pm$ 0,207	0,26 $\pm$ 0,05	132,8 $\pm$ 24,1
FEV	MM	13	28,0 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,3	143,9 $\pm$ 3,0	7,7 $\pm$ 0,1	23,5 $\pm$ 11,3	0,107 $\pm$ 0,082	0,39 $\pm$ 0,13	185,8 $\pm$ 28,9
	MA	14	27,7 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 0,1	143,3 $\pm$ 8,6	7,6 $\pm$ 0,1	25,6 $\pm$ 22,0	0,122 $\pm$ 0,050	0,39 $\pm$ 0,15	268,7 $\pm$ 92,3
	PF	15	28,0 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,3	142,1 $\pm$ 3,9	7,8 $\pm$ 0,2	45,6 $\pm$ 8,6	0,273 $\pm$ 0,137	0,35 $\pm$ 0,07	305,0 $\pm$ 31,8
	PH	16	27,8 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,2	140,0 $\pm$ 5,9	7,8 $\pm$ 0,1	32,6 $\pm$ 20,1	0,163 $\pm$ 0,148	0,29 $\pm$ 0,09	205,6 $\pm$ 62,0
MAR	MM	17	27,2 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 0,0	147,6 $\pm$ 1,9	7,5 $\pm$ 0,1	29,4 $\pm$ 10,6	0,241 $\pm$ 0,189	0,61 $\pm$ 0,19	368,8 $\pm$ 172,5
	MA	18	26,6 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,8	137,1 $\pm$ 12,4	7,4 $\pm$ 0,1	54,5 $\pm$ 34,9	0,313 $\pm$ 0,262	0,65 $\pm$ 0,06	437,8 $\pm$ 155,9
	PF	19	27,4 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,6	139,9 $\pm$ 5,6	7,7 $\pm$ 0,2	54,4 $\pm$ 12,5	0,280 $\pm$ 0,182	0,82 $\pm$ 0,22	446,7 $\pm$ 120,5
	PH	20	27,0 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,2	138,4 $\pm$ 6,1	7,6 $\pm$ 0,1	36,9 $\pm$ 8,7	0,163 $\pm$ 0,059	0,55 $\pm$ 0,16	253,4 $\pm$ 34,3
ABR	MM	21	25,9 $\pm$ 0,6	3,9 $\pm$ 0,3	143,2 $\pm$ 6,0	7,4 $\pm$ 0,1	38,8 $\pm$ 12,1	0,253 $\pm$ 0,106	0,50 $\pm$ 0,08	420,3 $\pm$ 110,5
	MA	22	25,4 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,8	129,2 $\pm$ 8,5	7,5 $\pm$ 0,1	54,4 $\pm$ 40,8	0,136 $\pm$ 0,092	0,49 $\pm$ 0,10	424,2 $\pm$ 137,2
	PF	23	25,9 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,3	135,3 $\pm$ 5,9	7,6 $\pm$ 0,2	73,1 $\pm$ 16,5	0,475 $\pm$ 0,170	0,49 $\pm$ 0,06	516,6 $\pm$ 65,5
	PH	24	25,8 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,4	131,2 $\pm$ 3,2	7,7 $\pm$ 0,2	46,1 $\pm$ 4,4	0,188 $\pm$ 0,156	0,44 $\pm$ 0,07	331,3 $\pm$ 36,1

apresentou uma redução em relação aos valores iniciais com oscilações ao longo dos meses. O fósforo dissolvido se manteve constante ao longo experimento (valores abaixo de $100 \mu\text{g L}^{-1}$), com exceção do tratamento MM que apresentou um aumento ao final do experimento. (Figura 1).

Os valores das variáveis limnológicas (média ± 1 desvio padrão) obtidas durante os meses de experimento estão apresentados na Tabela 3. Os resultados da PCA (Figura 2) utilizam os números de referência da Tabela 3 para identificação dos tratamentos e mês de coleta. Os dois primeiros componentes da PCA explicaram 83,1% da variação total dos dados, no qual o componente 1 (PC 1) explica 72,5% e o componente 2 (PC 2) explica 10,6% (Figura 2). Os resultados numéricos da PCA são apresentados no material suplementar (Tabela A1 e A2).

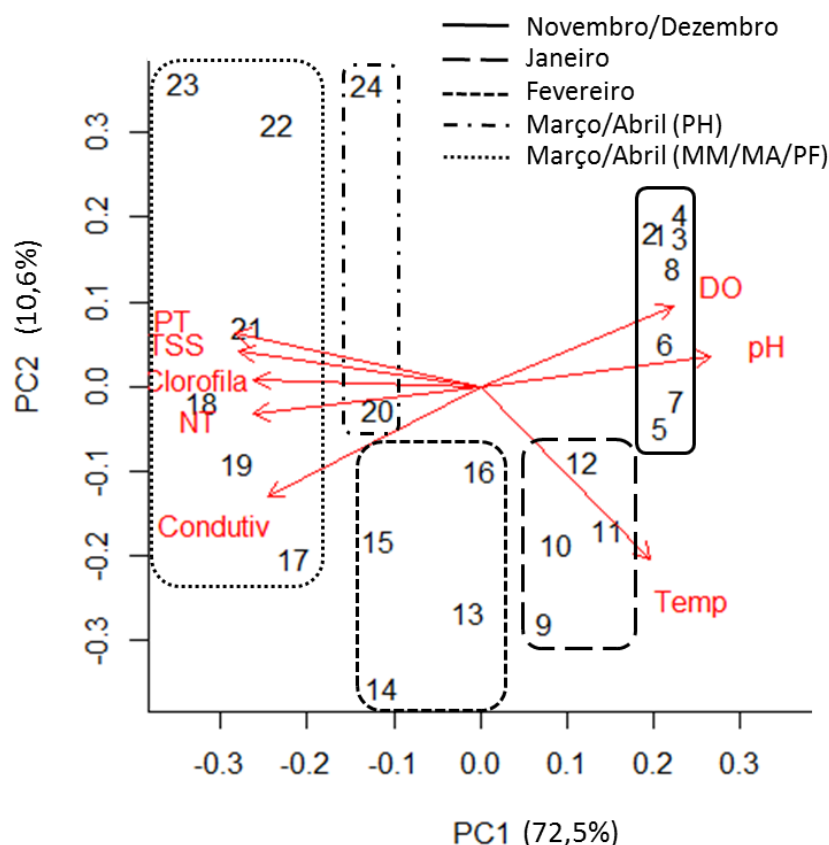


Figura 2. Plotagem dos valores mensais de cada tratamento do primeiro componente principal (PC1) em relação ao segundo componente principal (PC2). Números são referentes aos tratamentos listados na Tabela 3. Valores (%) indicam a variação explicada pelo eixo. Setas indicam o direcionamento das variáveis analisadas em relação aos eixos PC1 e PC2. Nota: Temp = temperatura; DO = oxigênio dissolvido; Condutiv = condutividade; TSS = sólido suspensos totais; NT = nitrogênio Kjeldahl total; PT = fósforo total; MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

Uma vez que o PC 1 explica grande parte da variação, decidimos focar neste eixo para explicar os resultados. É possível notar que com o avanço do experimento ocorreu uma elevação nos níveis de fósforo total, sólidos suspensos, clorofila- α , nitrogênio Kjeldahl total e condutividade. Por outro lado, ocorreu uma redução das concentrações de oxigênio dissolvido, do pH e da temperatura. Outro ponto a ser ressaltado é a padrão semelhante para todos os tratamentos durante os meses de cultivo, com exceção do tratamento PH nos meses de março e abril, que apresentou um menor deslocamento neste eixo em relação aos outros tratamentos (Figura 2).

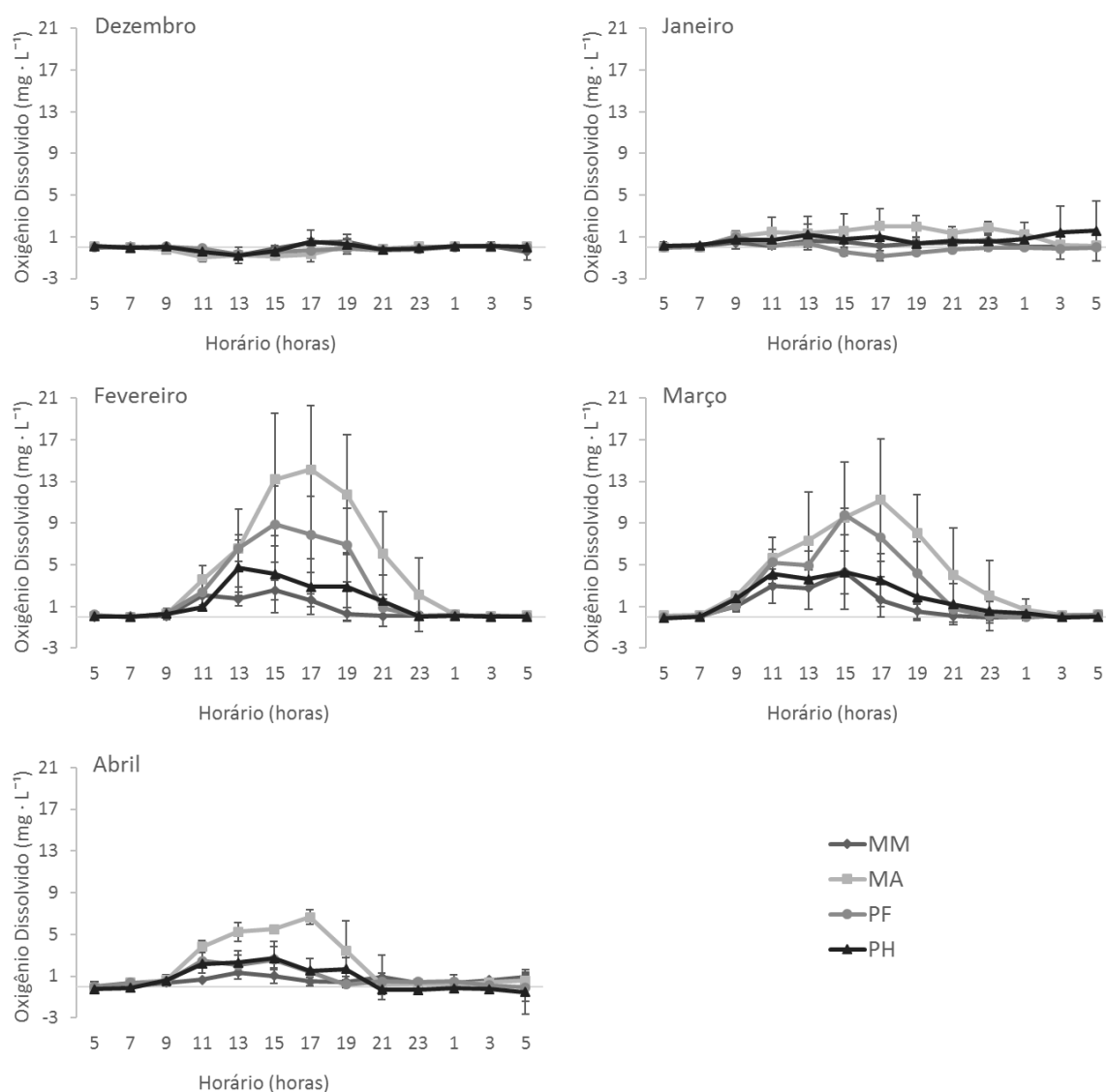


Figura 3. Diferença entre a concentração de oxigênio dissolvido da superfície e do fundo, respectivamente 0,3 e 0,8 m de profundidade, na análise nictemeral. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

Os resultados referentes ao oxigênio dissolvido na análise nictemeral são apresentados na Figura 3 e os referentes às variáveis temperatura, pH e condutividade no material suplementar (Figura A1, A2 e A3). As diferenças entre a camada superficial e de fundo da coluna de água ocorrem entre 11 e 21 horas, com pico às 17 horas e no restante do dia há homogeneidade na água dos viveiros. Além disso, o mês inicial (dezembro) e o mês final (abril) foram os que apresentaram menores diferenças nas camadas da coluna de água. Na comparação entre os tratamentos é possível observar que o tratamento MA é o que apresenta maiores diferenças entre superfície e fundo, enquanto o tratamento MM foi o que apresentou menores diferenças.

Discussão

Ao final dos cinco meses de experimento o tratamento PH foi o que apresentou o menor nível de eutrofização entre os sistemas testados. No entanto, é importante destacar que este sistema apresentou uma produtividade em torno de três vezes inferior aos sistemas PF e MM. Se fizermos uma relação entre a eutrofização da água e a produtividade final, os tratamentos PF e MM foram os que apresentaram menor impacto por kg de biomassa produzida. O tratamento MA, apresentou níveis de eutrofização semelhantes ao PF e MM, porém uma baixa produtividade, caracterizando o tratamento menos eficiente. No entanto, nós esperávamos que os tratamentos apresentassem padrões bem distintos quanto as características limnológicas. A nossa expectativa era que o tratamento PH fosse o menos eutrofizado pois a baixa densidade de estocagem dos peixes acarretou uma pequena quantidade de ração e as sobras poderiam ser aproveitadas pelos camarões. Esperava-se que o tratamento MA, apresentasse nível de eutrofização mediano pois apesar da pequena quantidade de ração fornecida (relacionada a biomassa de camarão), esta ração não é específica para a espécie e provavelmente seria subaproveitada. Por fim, MM e PF apresentariam um maior nível de eutrofização da água uma vez que a quantidade de ração ofertada (em kg) foi maior nestes tratamentos, visto a maior densidade de estocagem de peixes em relação ao tratamento PH. Dentre estes dois últimos tratamentos (MM e PF), esperávamos que PF teria uma melhor qualidade de água pois os camarões assimilariam os nutrientes não aproveitados pelos peixes, fato inexistente no monocultivo de tambaqui (MM).

A influência da adição de mais espécies nas características limnológicas dependem da composição de cada sistema. Rahman et al. (2008) encontrou um aumento nas concentrações de N e P com adição de uma segunda espécie. Porém a espécie

adicionada foi a carpa comum (*Cyprinus carpio*), que tem o hábito de remexer o fundo dos viveiros na procura por alimento. Já sistemas com inclusão de organismos fotossintetizantes, como as macrófitas, verificam redução nas concentrações de nutrientes na água (Zhang et al., 2016).

Em sistemas de aquicultura que trabalham com água clara (pequena quantidade de fitoplâncton), a ração representa quase 100% da fonte de N e P, na qual parte é assimilada na biomassa e o resto é descartado para o meio ambiente (quando não ocorre tratamento do efluente) (Alongi et al., 2009; Lemarié et al., 1998; Siddiqui e Al-Harbi, 1999). Nestes casos a eutrofização da água está relacionada à quantidade e qualidade da ração ofertada. Já em viveiros de terra com água verde (grande quantidade de fitoplâncton) a entrada e saída dos nutrientes é mais complexa. Além da ração, a água de abastecimento normalmente já aporta uma certa concentração de nutrientes, e quando em quantidades não suficientes, estes viveiros recebem adubação. Ocorre ainda, influência de agentes externos (clima, animais e vegetação), a influência de outros microorganismos aquáticos (plânctônicos e bentônicos) (Moriarty, 1997), interações biogeoquímicas na coluna de água do viveiro e desta com a atmosfera e o solo (Hargreaves, 1998). Em viveiros de água verde, as fontes são variadas e os processos biológicos que ocorrem nos viveiros ainda não são completamente compreendidos. No presente estudo, a água utilizada já continha uma quantidade de nutrientes em que não foi necessária adubação para o desenvolvimento do fitoplâncton. No entanto, essa eutrofização prévia pode ter mascarado a influência de cada tratamento nas características limnológicas do experimento.

A estratificação das variáveis limnológicas (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade) ocorreram entre 11 am e 9 pm, período similar ao encontrado por Henry-Silva et al. (2010). O mês que apresentou a maior diferença entre superfície e fundo diferiu de acordo com a variável, no entanto fevereiro e março apresentaram variações significativas para todas as quatro variáveis. Esses dois meses apresentaram a combinação de temperaturas altas com eutrofização do sistema. Temperaturas mais elevadas são responsáveis pela estratificação térmica e influenciam o processo da fotossíntese, uma vez que os organismos fitoplanctônicos são sensíveis à temperatura (Rhee e Gotham, 1981). Um ambiente mais eutrofizado contém uma quantidade maior de fitoplâncton e aumento da taxa fotossintética, conseqüentemente influencia os níveis de oxigênio dissolvido e pH. Além disso, uma maior quantidade de fitoplâncton impede a passagem de luz para as camadas inferiores da coluna de água, restringindo o processo

de fotossíntese a camada superficial. No início do experimento (dezembro e janeiro), apesar das altas temperaturas, o menor nível de eutrofização permitiu a luz penetrar mais na coluna de água (ver material suplementar Figura A4), possibilitando assim uma distribuição vertical mais homogênea do fitoplâncton. Ao final do experimento, a diminuição da temperatura e do fotoperíodo (outono no hemisfério sul), condições que reduzem a taxa fotossintética, embora o nível de eutrofização estivesse elevado. Na comparação entre os tratamentos, é possível perceber a influência das espécies no processo de estratificação. Por um lado, o peixe auxilia na homogeneização da água através da natação (Rasmussen et al., 2005), por outro o camarão induz a estratificação através do consumo de oxigênio, situação encontrada em cultivo de peixes bentônicos (Almansa et al., 2014; Reig et al., 2007). Além do consumo direto, o camarão suspende material sedimentado na busca por alimento e reduz ainda mais as concentrações de oxigênio dissolvido no fundo dos viveiros. Assim, como esperado, o monocultivo de peixe (MM) apresentou menores diferenças entre superfície e fundo, já o monocultivo de camarão (MA) maior estratificação.

Uma alternativa para melhorar o retorno dos nutrientes ofertados via ração na forma de biomassa é a adição de mais espécies ao sistema de policultivo. O sistema de aquicultura multitrófica integrada (IMTA), desenvolvida com sucesso em ambientes marinhos pode ser uma referência para ambientes de água doce tropicais. Este sistema compreende uma espécie arraçoada (peixe), um filtrador de plâncton e finas partículas em suspensão (molusco bivalve), um detritívoro bentônico que se alimenta do material sedimentado (ouriço ou pepino do mar) e um fotossintetizante que absorve nutrientes inorgânicos dissolvidos (macroalgas) (Chopin et al., 2008; Troell et al., 2009). O policultivo testado no presente estudo, compreende uma espécie arraçoada (tambaqui) e uma oportunista bentônica (camarão-da-amazônia). Para preencher as demais lacunas é necessário encontrar espécies que interajam de forma positiva sem afetar o desenvolvimento das outras. No que se refere aos nutrientes presentes na água, pode-se incluir um peixe filtrador, a exemplo do mapará (*Hypophthalmus marginatus*), para realizar o papel do molusco bivalve uma vez que no Brasil não há produção destes organismos em água doce. Já para absorção de nutrientes inorgânicos dissolvidos, as macrófitas aquáticas são organismos muito eficientes (Boyd, 1971; Santos and Camargo, 2015) e podem substituir as macroalgas. No entanto, é necessário um controle da propagação destes organismos para que não prejudique o desempenho das demais espécies no sistema. O maior desafio é a disponibilização dos nutrientes depositados no

fundo do viveiro e consequente conversão em biomassa. Apesar do camarão-da-amazônia alimentar-se do material sedimentado, grande parte dos nutrientes ainda fica retida no sedimento. A utilização de uma outra espécie de hábito bentônico, para poder melhor aproveitar os nutrientes, papel dos poliquetas no sistema IMTA proposto por Chopin et al. (2012), não pode afetar negativamente o desempenho do camarão. A adição de mais espécies deve promover interação positiva entre estas, promovendo uma maior produtividade do sistema.

O foco principal deste estudo é o impacto nas características limnológicas, no qual os sistemas PF e MM apresentaram a melhor relação eutrofização por biomassa produzida. A fim de definir o sistema mais indicado, fizemos uma breve comparação do ponto de vista econômico. Os custos adicionais no policultivo limitam-se a aquisição das pós-larvas, uma vez que a ração é ajustada de acordo com a biomassa do peixe. No entanto o valor de mercado da biomassa mista (peixe e camarão) é maior. Segundo a FAO (2016), o valor do kg do camarão é mais de três vezes o preço do kg de peixe de água doce, realidade semelhante ao mercado brasileiro. Além do maior retorno financeiro, o cultivo de duas espécies reduz o risco do empreendimento, caso haja uma queda de produtividade ou de preço de mercado de uma das espécies a outra pode compensar estas perdas. Considerando o que foi discutido acima, o sistema PF é o mais indicado entre o quatro testados, mesmo não apresentando os resultados esperados em relação à qualidade de água.

Conclusão

Os sistemas de monocultivo e policultivo testados apresentaram padrão semelhante em relação as variáveis limnológicas relacionadas ao processo de eutrofização, independentemente das densidades de estocagem e da quantidade de alimento ofertado. A hipótese que sistemas de policultivo apresentariam uma melhor assimilação dos nutrientes e isto resultaria em menor eutrofização da água nos viveiros não foi confirmada. A fim de aprimorar este sistema sugerimos a adição de outras espécies animais e vegetais para aumentar a eficiência e reduzir a concentração dos nutrientes desperdiçados. Além disso, foi possível verificar que as estratificações diárias ao longo do experimento se destacam quando há combinação de eutrofização e altas temperaturas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) projeto nº 10/51271-6 e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto e da bolsa de estudo, respectivamente. Ao Prof. Dr. Wanger Cotrini Valenti, responsável pelo setor de Carcinicultura onde o experimento foi realizado e ao Prof. Dr. Sergio Ricardo Batlouni coordenador do projeto da FAPESP.

Referência

- Almansa, C., Masaló, I., Reig, L., Piedrahita, R., Oca, J., 2014. Influence of tank hydrodynamics on vertical oxygen stratification in flatfish tanks. *Aquac. Eng.* 63, 1–8. doi:10.1016/j.aquaeng.2014.07.007
- Alongi, D.M., McKinnon, A.D., Brinkman, R., Trott, L.A., Undu, M.C., Muawanah, Rachmansyah, 2009. The fate of organic matter derived from small-scale fish cage aquaculture in coastal waters of Sulawesi and Sumatra, Indonesia. *Aquaculture* 295, 60–75. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.06.025
- Boyd, C.E., 1982. *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Scientific Publishing, Oxford.
- Boyd, C.E., 1971. The Limnological Role of Aquatic Macrophytes and Their Relationship to Reservoir Management. *Reserv. Fish. Limnol.* 8, 153–166.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1992. *Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture*. Auburn university, Auburn.
- Chopin, T., Cooper, J.A., Reid, G., Cross, S., Moore, C., 2012. Open-water integrated multi-trophic aquaculture: Environmental biomitigation and economic diversification of fed aquaculture by extractive aquaculture. *Rev. Aquac.* 4, 209–220. doi:10.1111/j.1753-5131.2012.01074.x
- Chopin, T., Robinson, S.M.C., Troell, M., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J., 2008. Multitrophic integration for sustainable marine aquaculture, in: Jorgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*. Elsevier, Oxford, pp. 2463–2475. doi:10.1016/B978-008045405-4.00065-3
- Ellis, T., North, B., Scott, a. P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.* 61, 493–531. doi:10.1006/jfbi.2002.2057
- FAO, 2016. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all*. Rome.
- García-Pérez, A., Alston, D.E., Cortés-Maldonado, R., 2000. Growth, Survival, Yield, and Size Distributions of Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* and Tilapia *Oreochromis niloticus* in Polyculture and Monoculture Systems in Puerto Rico. *J. World Aquac. Soc.* 31, 446–451. doi:10.1111/j.1749-7345.2000.tb00894.x
- Golterman, H.L., Clyno, R.S., Ohnstad, M.A.M., 1978. *Methods for chemical analysis of fresh water*. Blackwell, Boston.
- Goulding, M., Carvalho, M., 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. *Rev. Bras. Zool.* 1, 107–133. doi:10.1590/S0101-81751982000200001
- Hargreaves, J.A., 1998. Nitrogen biochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166, 181–212. doi:10.1016/S0044-8486(98)00298-1
- Henry-Silva, G.G., Camargo, A.F.M., Pontes, C.S., Miyase, L.K., 2010. Limnological characteristics of the water column and effluents of Amazon river prawn ponds. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 2099–2107. doi:10.1590/S1516-35982010001000001
- Koroleff, F., 1976. Determination of nutrients, in: Grasshoff (Ed.), *Methods of Seawater Analysis*. Verlag

- Chemie, New York, pp. 117–181.
- Lemarié, G., Martin, J.M., Dutto, G., Garidou, C., 1998. Nitrogenous and phosphorus waste production in a flow-through land-based farm of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 11, 247–254. doi:10.1016/S0990-7440(98)89007-4
- Macedo, C.F., Sipaúba-Tavarres, L.H., 2010. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: Consequências e Recomendações. *Bol. do Inst. Pesca* 36, 149–163.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J., Talling, J.F., 1978. Water Analysis: Some Revised Methods for Limnologists.
- Marker, A.F.H., Nusch, E.A., Rai, H., Riemann, B., 1978. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardisation of methods: Conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiol.* 14, 91–106.
- Martin, J.M., Veran, Y., Guelorget, O., Pham, D., 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture* 164, 135–149. doi:10.1016/S0044-8486(98)00182-3
- Milstein, A., Wahab, M.A., Kadir, A., Sagor, M.F.H., Islam, M.A., 2009. Effects of intervention in the water column and / or pond bottom through species composition on polycultures of large carps and small indigenous species. *Aquaculture* 286, 246–253. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.09.036
- Moriarty, D.J.W., 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 151, 333–349. doi:10.1016/S0044-8486(96)01487-1
- Odinetz-Collart, O., 1988. Aspectos ecológicos do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) no Baixo Tocantins (PA-Brasil). *Mem. Soc. Ciencias Nat. La Salle* 48, 341–353.
- Papoutsoglou, S.E., Miliou, H., Karakatsouli, N.P., Tzitzinakis, M., Chadio, S., 2001. Growth and physiological changes in scaled carp and blue tilapia under behavioral stress in mono- and polyculture rearing using a recirculated water system. *Aquac. Int.* 9, 509–518. doi:10.1023/A:1020506814609
- Rahman, M.M., Verdegem, M., Nagelkerke, L., Wahab, M.A., Milstein, A., Verreth, J., 2008. Effects of common carp *Cyprinus carpio* (L.) and feed addition in rohu *Labeo rohita* (Hamilton) ponds on nutrient partitioning among fish, plankton and benthos. *Aquac. Res.* 39, 85–95. doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01877.x
- Rahman, M.M., Verdegem, M.C.J., 2007. Multi-species fish pond and nutrient balance, in: van der Zijpp, A.J., Verreth, J.A.J., Le, Q.T., van Mensvoort, M.E.F., Bosma, R.H., Beveridge, M.C.M. (Eds.), *Fishponds in Farming Systems*. Wageningen Academic Pub, Wageningen, pp. 79–88.
- Rahman, M.M., Verdegem, M.C.J., Nagelkerke, L.A.J., Wahab, M.A., Milstein, A., Verreth, J.A.J., 2006. Growth, production and food preference of rohu *Labeo rohita* (H.) in monoculture and in polyculture with common carp *Cyprinus carpio* (L.) under fed and non-fed ponds. *Aquaculture* 257, 359–372. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.03.020
- Rasmussen, M.R., Laursen, J., Craig, S.R., Mclean, E., 2005. Do fish enhance tank mixing? *Aquaculture* 250, 162–174. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.02.041
- Reig, L., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2007. Influence of California halibut (*Paralichthys californicus*) on the vertical distribution of dissolved oxygen in a raceway and a circular tank at two depths. *Aquac. Eng.* 36, 261–271. doi:10.1016/j.aquaeng.2007.01.002
- Rhee, G.-Y., Gotham, I.J., 1981. The effect of environmental factors on phytoplankton growth: Temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation. *Limnol. Oceanogr.* 26, 635–648. doi:10.4319/lo.1981.26.4.0635
- Santos, A.A., Camargo, A.F.M., 2015. Constructed wetlands for treatment of harvest effluents from grow-out ponds of the Amazon river prawn. *Aquac. Res.* 46, 2676–2684. doi:10.1111/are.12423
- Sartory, D.P., Grobbelaar, J.U., 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114, 177–187. doi:10.1007/BF00031869
- Shoko, A.P., Limbu, S.M., Mrosso, H.D.J., Mgaya, Y.D., 2014. A comparison of diurnal dynamics of water quality parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) monoculture and polyculture with African sharp tooth catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) in earthen ponds. *Int. Aquat. Res.* 6, 1–13. doi:10.1007/s40071-014-0056-8
- Siddiqui, A.Q., Al-Harbi, A.H., 1999. Nutrient budgets in tanks with different stocking densities of hybrid tilapia. *Aquaculture* 170, 245–252. doi:10.1016/S0044-8486(98)00421-9
- Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J., 2009. Ecological engineering in

- aquaculture — Potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture* 297, 1–9. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.09.010
- Uddin, M.S., Farzana, A., Fatema, M.K., Azim, M.E., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., 2007. Technical evaluation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) monoculture and tilapia – prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) polyculture in earthen ponds with or without substrates for periphyton development. *Aquaculture* 269, 232–240. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.05.038
- Wurts, W. a, Durborow, R.M., 1992. Interactions of pH , Carbon Dioxide , Alkalinity and Hardness in Fish Ponds. *South. Reg. Aquac. Cent.* 0, 1–4.
- Zhang, S., Li, M., Cheng, J., Xu, Z., Chen, J., 2016. Response and environmental assessment of two Chinese conventional carps to water quality regulation in recirculating aquaculture. *Aquac. Eng.* 74, 180–185. doi:10.1016/j.aquaeng.2016.09.001

Material Suplementar

Tabela A1. Composição centesimal das rações utilizadas no experimento. Rações Peixe 1, 2 e 3 foram utilizadas nos tratamentos monocultivo de *C. macropomum* (MM), policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro (PF) e policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro (PH) e rações Camarão 1 e 2 foram utilizadas no tratamento monocultivo de *M. amazonicum* (MA).

Composição (%)	Peixe 1		Peixe 2		Peixe 3		Camarão 1		Camarão 2	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Umidade	.	9	.	12	.	12	.	10	.	10
Proteína bruta	45	.	35	.	32	.	40	.	38	.
Lipídeos	7	.	7	.	4.5	.	7.5	.	7.5	.
Cinzas	.	10	.	12	.	12	.	13	.	13
Fibras	.	4	.	6	.	9	.	5	.	5
Fósforo	1	.	0.6	.	0.6	.	1.45	.	1.45	.

Tabela A2. Correlação entre as variáveis mensuradas e as concentrações dos nutrientes nitrogênio e fósforo totais na água dos viveiros de cultivo com os eixos na análise de componentes principais.

	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8
Temperatura	0.273	-0.742	0.349	-0.290	0.026	-0.183	-0.112	-0.352
Oxigênio Dissolvido (OD)	0.310	0.348	0.706	0.341	-0.394	0.026	-0.039	-0.106
Condutividade	-0.343	-0.472	0.123	0.444	-0.087	0.588	-0.198	0.236
pH	0.370	0.132	0.057	-0.609	-0.051	0.554	-0.213	0.342
Sólidos suspensos (TSS)	-0.389	0.152	0.274	-0.146	0.187	-0.351	-0.729	0.199
Clorofila- α	-0.365	0.028	0.535	-0.241	0.376	0.047	0.579	0.207
Nitrogênio Total (NT)	-0.365	-0.116	-0.038	-0.317	-0.810	-0.198	0.156	0.179
Fósforo Total (PT)	-0.396	0.227	0.012	-0.229	-0.047	0.387	-0.096	-0.760

Tabela A3. Características dos eixos na análise de componentes principais: desvio padrão, proporção da variação e proporção acumulada.

	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8
Desvio padrão	2.4077	0.9210	0.7100	0.6463	0.5067	0.3071	0.2508	0.1377
Proporção da variação	0.7246	0.1060	0.0630	0.0522	0.0321	0.0118	0.0079	0.0024
Proporção acumulada	0.7246	0.8307	0.8937	0.9459	0.9780	0.9898	0.9976	1.0000

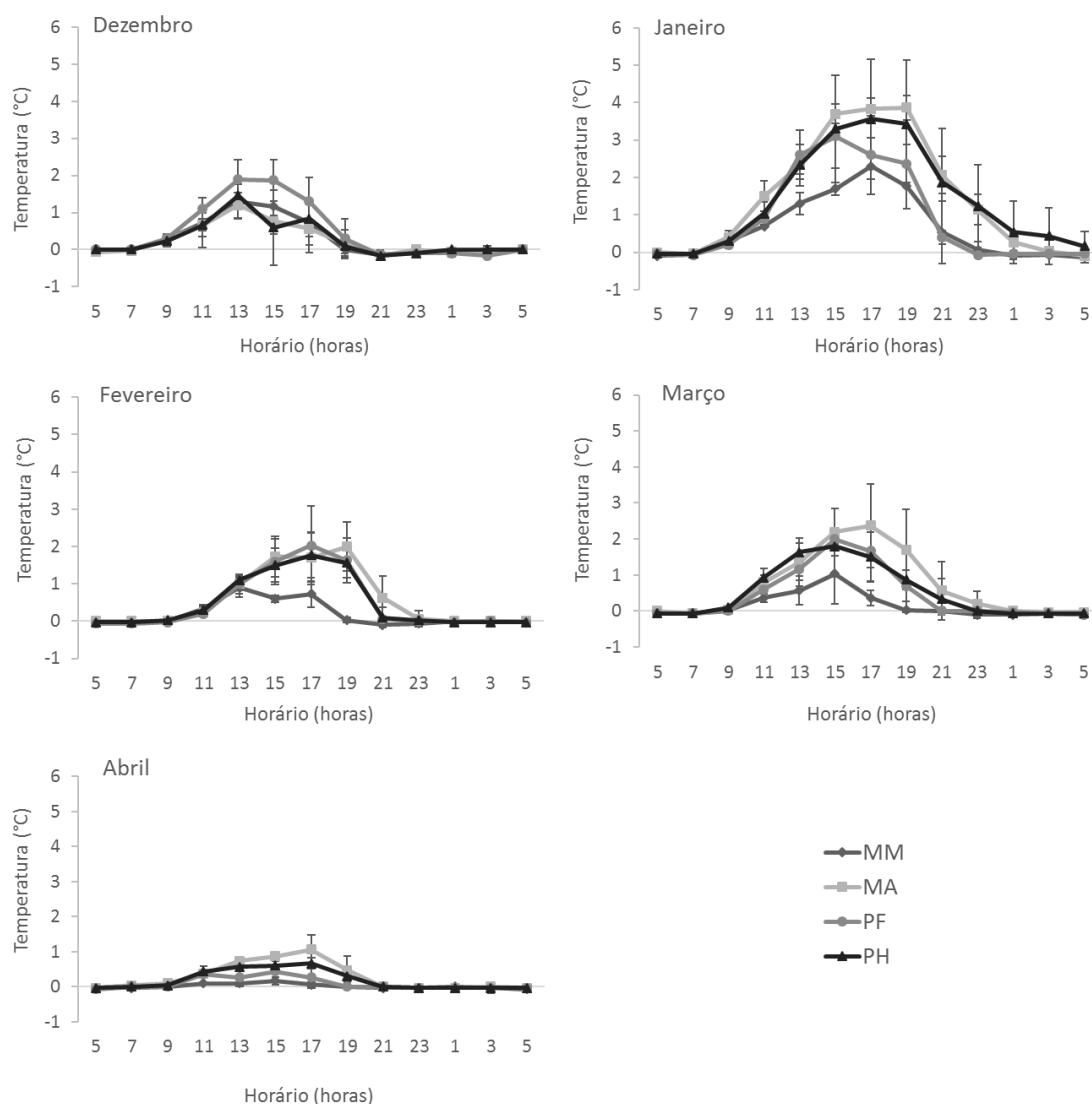


Figura A1. Diferença entre a temperatura da superfície e do fundo nos viveiros de cultivo, respectivamente 0,3 e 0,8 m de profundidade, na análise nictemeral. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

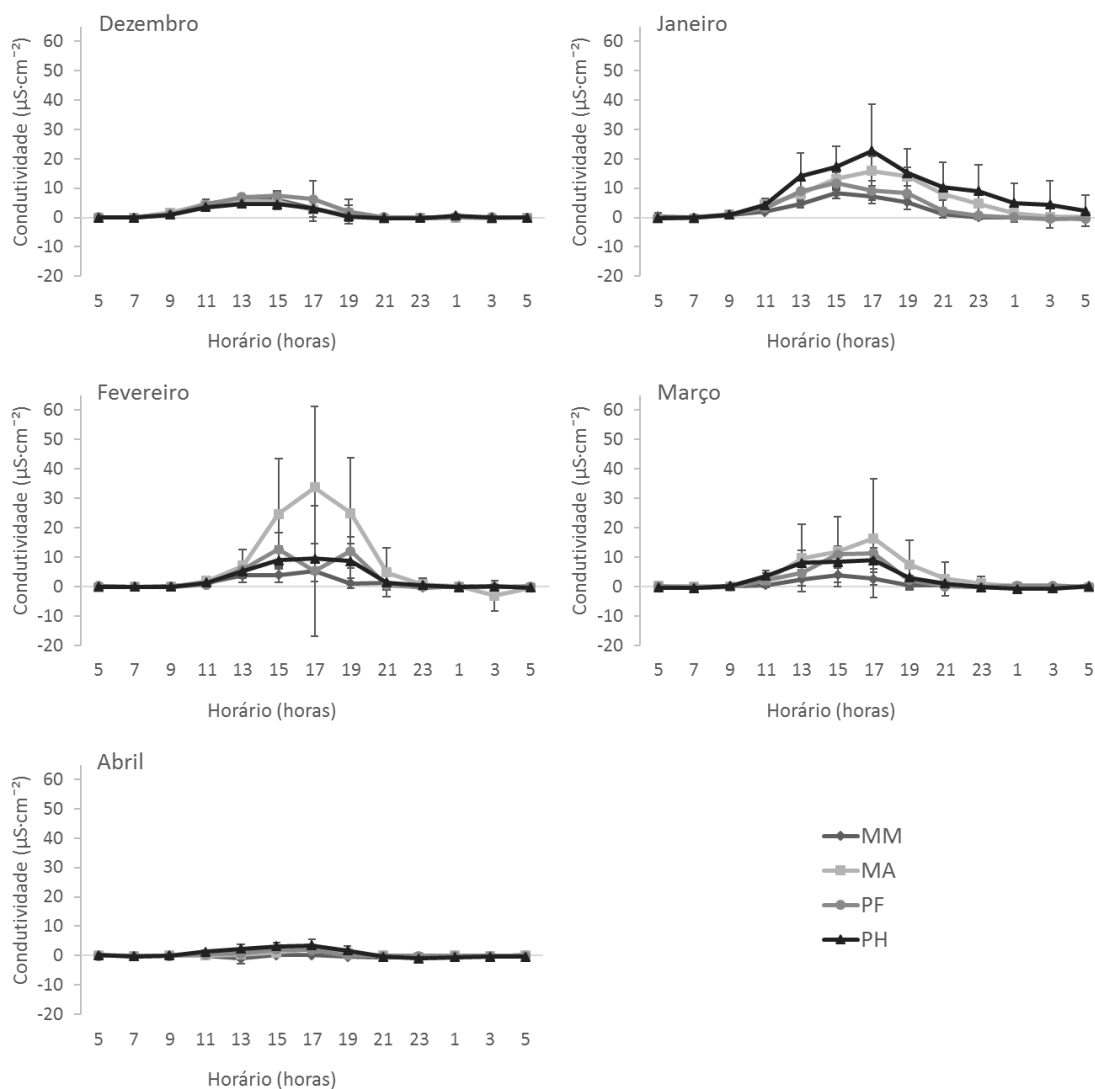


Figura A2. Diferença entre a condutividade da superfície e do fundo nos viveiros de cultivo, respectivamente 0,3 e 0,8 m de profundidade, na análise nictemeral. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

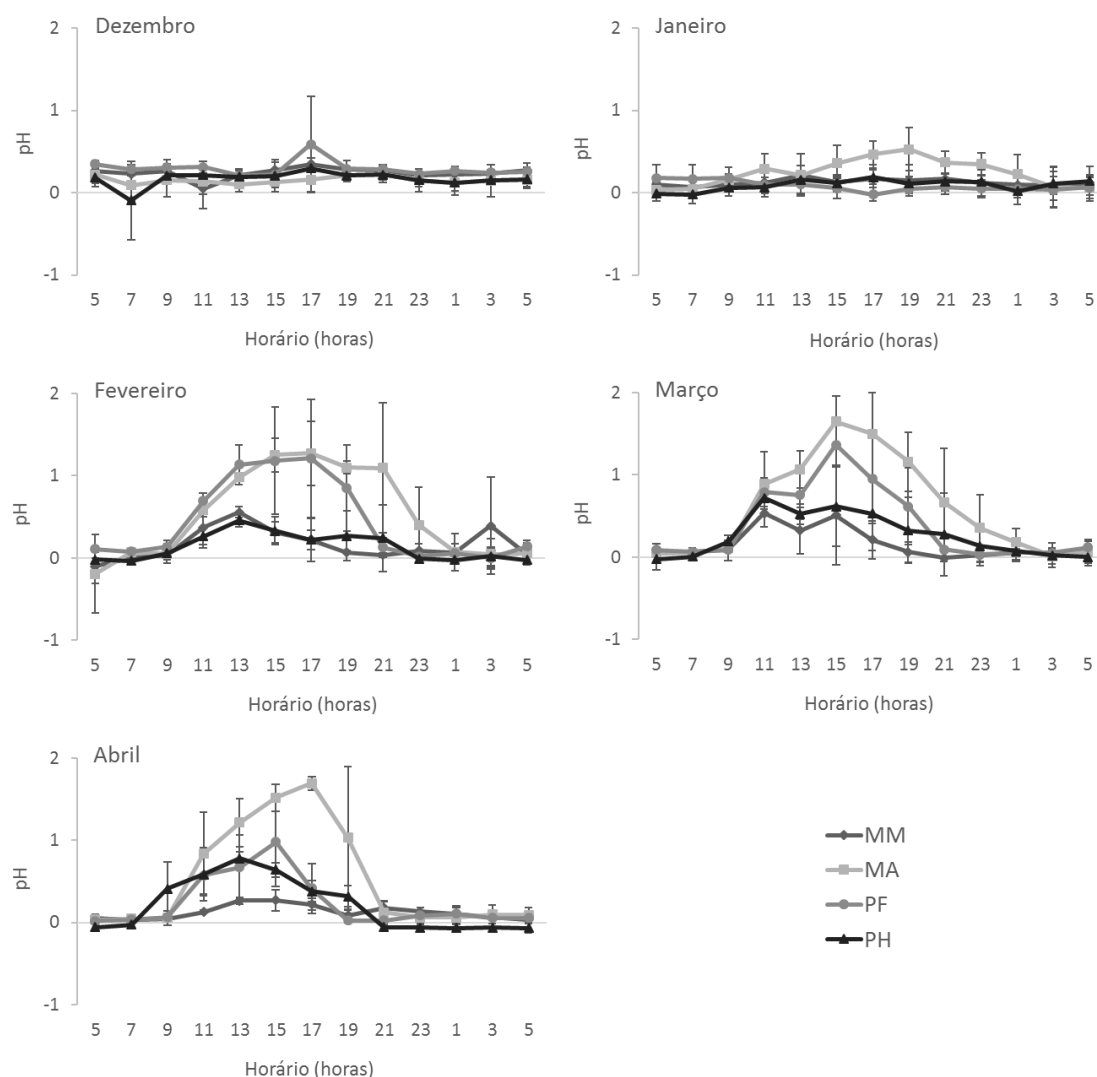


Figura A3. Diferença entre o pH da superfície e do fundo nos viveiros de cultivo, respectivamente 0,3 e 0,8 m de profundidade, na análise nictemeral. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

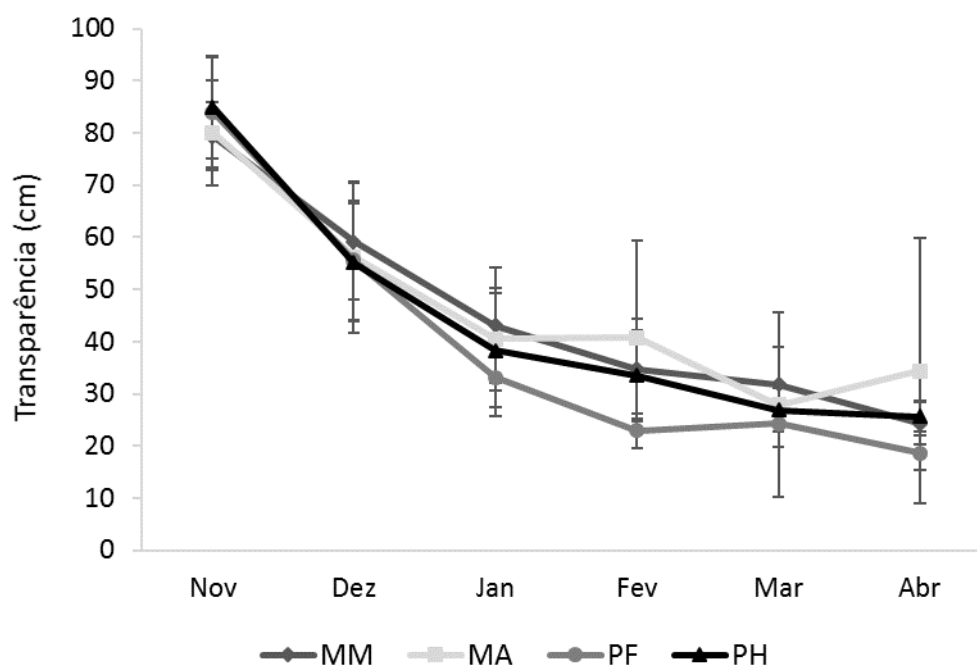


Figura A4. Transparência média em cada tratamento durante os meses de experimento. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* com ambas espécies livre no viveiro; PH = policultivo de *C. macropomum* em hapa e *M. amazonicum* livre no viveiro.

Capítulo III

Comparação de sistemas de tratamento
de efluente de despesca de aquicultura
com as macrófitas aquáticas *Eichhornia*
crassipes e *Lemna minor*

Comparação de sistemas de tratamento de efluente de despesca de aquicultura com as macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor*

Resumo

Efluentes de viveiros de aquicultura são ricos em nutrientes, matéria orgânica e partículas suspensas, capazes de causar impactos nos ambientes receptores caso não haja tratamento prévio. O presente estudo avaliou o tratamento de efluente de despesca de sistemas de monocultivo e policultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*). Os wetlands consistiam em caixas de fibra de vidro (2 m³), um tratamento com *Eichhornia crassipes* e outro com *Lemna minor* por um período de sete dias. Ambos tratamentos obtiveram desempenho semelhante e com grande variação dentro de um mesmo tratamento, com reduções nos níveis de nitrogênio total (62.8-78.3%), fósforo total (47.3-84.2%) e fósforo dissolvido (35.0-86.3%); no entanto a concentração de nitrogênio inorgânico aumentou (77.2 a 504.2%). Essa redução das formas totais pode ser atribuída à sedimentação das partículas uma vez que 70% do material sedimentou nas primeiras 24 horas, período no qual ocorreu uma acentuada diminuição nas concentrações nitrogênio e fósforo totais. O desempenho das macrófitas não foi o esperado, a quantidade de nutrientes na biomassa das macrófitas ao final do experimento não superou aos valores iniciais. O tempo necessário de tratamento para retornar o efluente de despesca para o meio ambiente, nas condições testadas, foi de 48 horas.

Palavras-chave

Tratamento de água; qualidade de água; planta aquática; aguapé, nitrogênio; fósforo.

Introdução

A aquicultura foi responsável por suprir mais de 44% da produção mundial de animais aquáticos em 2014 e tem aumentado a sua contribuição na última década, enquanto a os números referentes à pesca mantiveram-se estáveis (FAO, 2016). Este crescimento da aquicultura coloca maior pressão sobre os ambientes aquáticos, provocando impactos ambientais como: modificação de habitats, introdução de espécies exóticas e emissão de efluentes (Naylor et al., 2000). Em geral os efluentes de aquicultura são compostos por nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e partículas suspensas (Tucker, 1998). Além de causar eutrofização e assoreamento, os efluentes afetam as características físicas e químicas da água, as comunidades bentônicas e o

ecossistema aquático em geral (Jegatheesan et al., 2011). Ao final do período de engorda, é comum o esvaziamento total dos viveiros para captura de todos os organismos cultivados. O efluente gerado durante este processo é conhecido como efluente de despesca e tem um papel importante nos impactos ambientais relacionados à atividade, uma vez que introduz no meio ambiente grandes quantidades de nutrientes em um curto espaço de tempo. A porção final deste efluente de despesca, em especial, possui elevada carga de nutrientes (Schwartz e Boyd, 1994; Teichert-Coddington et al., 1999), pois além da concentração presente na água, carrega parte dos nutrientes retidos no sedimento.

O tratamento dos efluentes de aquicultura é necessário para devolver a água nas condições ideais a fim de cumprir com as normas exigidas por lei (Boyd, 2003). Existem diversas alternativas para tratar os efluentes como, tratamentos físicos, biológicos e químicos, ou a combinação entre eles. Os processos mais utilizados nos sistemas de produção aquícola incluem sedimentação e filtração (físicos), além do uso de organismos como microalgas, macroalgas e macrófitas aquáticas (biológicos). Já os tratamentos que incluem o uso de ozônio ou lâmpadas ultravioletas ficam restritos a sistemas de produção intensiva, devido aos custos econômicos (Castine et al., 2013). O tratamento com macrófitas aquáticas é considerado de baixo custo e de fácil manutenção (Kivaisi, 2001) e mostra-se eficiente na remoção dos nutrientes dos efluentes de aquicultura (Idris et al., 2012; Santos e Camargo, 2015; Travaini-Lima et al., 2015). Alguns estudos indicam uma maior eficiência em sistemas de tratamentos com a presença de macrófitas quando comparadas aos seus respectivos controles, sem macrófitas (Henry-silva e Camargo, 2008; Iamchaturapatr et al., 2007; Idris et al., 2012).

O presente estudo visou comparar o desempenho de sistemas com diferentes espécies de macrófitas para tratar o efluente de viveiros de aquicultura. As espécies que nós escolhemos, *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor*, são flutuantes, porém com uma grande diferença em tamanho. *E. crassipes* é uma espécie nativa da flora brasileira e pode alcançar uma grande massa fresca (mais de 60 kg m⁻²), e tem sido muito utilizada no tratamento de efluentes pois além de absorver nutrientes é capaz de absorver metais pesados (Malik, 2007). Já *L. minor* é uma macrófita de pequeno porte (entre 6-8 mm) e produtividade de massa fresca entre 0,05-0,15 kg m⁻². Possui elevado teor de proteína (acima de 35% da massa seca) e devido à esta característica pode servir de alimento para espécies de peixes como tilápia e carpas (Journey et al., 1993).

O efluente que utilizamos foi originado pela produção em viveiros de terra com duas espécies da fauna brasileira, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*). O tambaqui é a segunda espécie de peixe mais produzida no país (IBGE, 2014) e o camarão-da-amazônia possui um grande potencial para cultivo (Moraes-Valenti and Valenti, 2010). O sistema de produção utilizado foi o semi-intensivo, com aporte de ração comercial e água de abastecimento eutrofizada. O acúmulo de nutrientes nos sistemas de cultivo foi progressivo, uma vez que não foram realizadas renovações de água durante o período de cultivo e a quantidade de ração ofertada aumentou com o crescimento das espécies. Como consequência o efluente gerado na despesca dos viveiros encontrava-se com altas concentrações de nutrientes.

O nosso objetivo foi determinar a eficiência dos sistemas de tratamento com as macrófitas *E. crassipes* e *L. minor* na remoção dos nutrientes da água de despesca originados de viveiros de aquicultura. Além disso, queríamos estipular o tempo mínimo de tratamento antes de lançarmos esta água no meio ambiente.

Materiais e Métodos

Cultivo em viveiros de aquicultura

O efluente de despesca foi proveniente da despesca de um experimento realizado no Setor de Carcinicultura do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) em Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°15'18''S; 48°19'19''O). O experimento foi totalmente casualizado e composto por três tratamentos: I) monocultivo de *C. macropomum* (MM), II) monocultivo de *M. amazonicum* (MA), III) policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum* (PF); e três réplicas cada. No total utilizamos nove viveiros de terra (área entre 110-170 m²) e o experimento teve duração de 170 dias, de novembro de 2013 a abril de 2014. Não foram feitas calagem, fertilização ou renovação de água durante este período. A água foi adicionada apenas para repor perdas por evaporação e infiltração. Nós utilizamos aeração em todos os viveiros a partir do terceiro mês, no período noturno, entre 1:30 e 5:30 da manhã em períodos 60:30 (ligado:desligado).

O peso inicial das larvas de camarão e a densidade de estocagem foram 0,038 g e 30 pl·m⁻², respectivamente, nos tratamentos MA e PF. O peso inicial dos alevinos de peixes foi 1,77 g, e a densidade de estocagem 3 alevinos·m⁻² nos tratamentos MM e PF. Nós fornecemos ração duas vezes ao dia e a quantidade foi ajustada uma vez por mês após a

biometria dos animais. No tratamento PF, a quantidade de ração foi calculada de acordo com a biomassa dos peixes. Os tratamentos MM e PF receberam durante o experimento três tipos de ração (32-45% proteína bruta, 4,5-7,0% lipídeos), e o tratamento MA recebeu dois tipos de ração para camarão marinho (38-40% proteína bruta, 7.5% lipídeos). A medida que os animais cresceram, foram utilizadas rações com menores níveis de proteína e lipídeos.

A produtividade (kg ha^{-1}) de cada sistema de cultivo (média $\pm$ 1 desvio padrão) foi: MM 5386 ± 945 ; MA 953 ± 163 ; e PF 4349 ± 822 (peixe) e 663 ± 73 (camarão). A conversão alimentar (CA) no MM, MA e PF foi $1,14 \pm 0,04$, $2,80 \pm 0,08$ e $0,97 \pm 0,01$, respectivamente. A CA do tratamento PF considerou a biomassa de peixe e camarão como uma biomassa única.

Tratamento de efluente de despesca

Ao final do experimento, nós utilizamos uma rede para retirar os animais e os remanescentes foram retirados com o esvaziamento total do viveiro. Quando o nível de água do viveiro atingiu 20 cm, iniciamos bombeamento desta porção final do efluente de despesca para caixas de fibra de vidro de 2 m^3 de volume. O efluente de cada viveiro foi transferido para duas caixas, uma para ser tratada pela macrófita *E. crassipes* e a outra por *L. minor* (Figura 1). No total 18 caixas foram utilizadas, seis para cada sistema de engorda de aquicultura. Uma vez cheias, as caixas foram cobertas com uma lona de plástico escuro para evitar a proliferação de fitoplâncton. Na manhã seguinte, a lona plástica foi removida e o efluente foi remexido a fim de suspender as partículas já sedimentadas. Uma vez homogeneizado, as macrófitas foram adicionadas e o período de tratamento iniciado. Desta forma, todos os tratamentos começaram simultaneamente.

A massa fresca inicial de macrófitas cobriu aproximadamente 80% da superfície total das caixas de fibra de vidro, a fim de permitir o crescimento das macrófitas; metodologia similar à utilizada por Santos e Camargo (2015). Para a espécie *E. crassipes* a massa fresca requerida por caixa foi de 7 kg e para *L. minor* 0,6 kg. As macrófitas foram coletadas de viveiros de reprodutores de camarão-da-amazônia, com renovação constante de água eutrofizada e arraçoamento diário de 2% da biomassa.

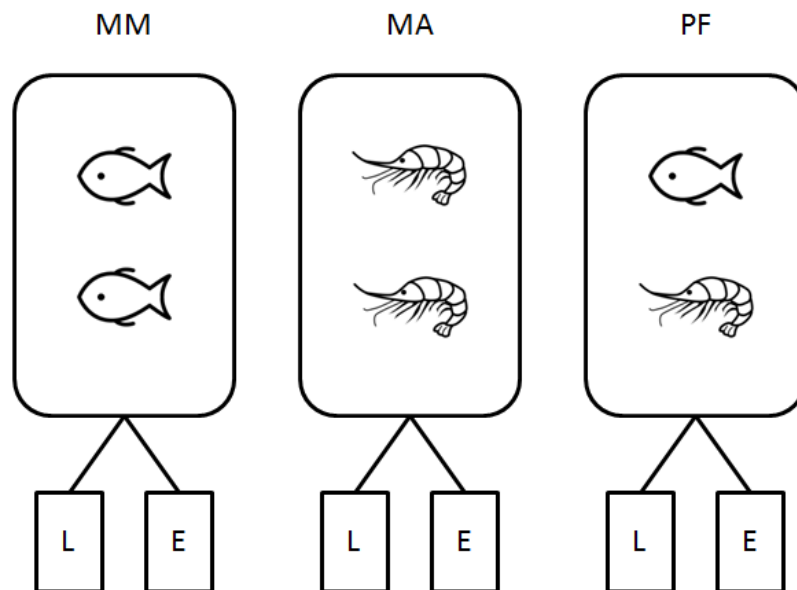


Figura 1. Origem dos efluentes de despesca de três sistemas de aquicultura: monocultivo de *C. macropomum* (MM); monocultivo de *M. amazonicum* (MA); policultivo de *C. macropomum* com *M. amazonicum* com ambas as espécies livre no viveiro (PF). O efluente de despesca de cada viveiro foi bombeado para duas caixas para tratamento com macrófitas flutuantes. As espécies utilizadas no tratamento do efluente foram *E. crassipes* (E) e *L. minor* (L).

Coleta de amostras e análises

As medidas diretas e a coleta de amostras de água foram obtidas antes da introdução das macrófitas, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 120 e 168 horas após da introdução. As amostras foram analisadas para determinação das concentrações de: nitrogênio Kjeldahl total (NT) (Mackereth et al., 1978); N-amoniacal (Koroleff, 1976), nitrito e nitrato (Mackereth et al., 1978) que foram somados e apresentados como nitrogênio inorgânico total (NIT); fósforo total (PT) e fósforo dissolvido (PD) (Golterman et al., 1978); sólidos suspensos totais (SST) (Boyd e Tucker, 1992); e clorofila- α (Marker et al., 1978; Sartory e Grobbelaar, 1984). As variáveis temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica foram medidas com a sonda multi-parâmetro YSI Professional Plus (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, EUA). A transparência foi medida utilizando o disco de Secchi.

O crescimento das macrófitas foi determinado pela diferença entre a biomassa seca inicial e final. Para determinar a massa seca, amostras das mesmas foram colocadas em estufa (60°C) até apresentarem peso constante. Os teores de nitrogênio Kjeldahl total e do fósforo total na biomassa das macrófitas no início e ao final do experimento foram determinados em porcentagem de matéria seca (Allen et al., 1974).

O sedimento foi coletado com um câmara de Tripton colocada no fundo das caixas, método adaptado de Bufon et al. (2009). As amostras de sedimento foram coletadas três vezes, 24, 72 e 168 após o início do tratamento. As mesmas foram secas em estufa a 60°C até peso constante para quantificação da massa.

Balanço de nutrientes

O balanço de nutrientes foi calculado para nitrogênio e fósforo, baseado nas concentrações obtidas no efluente de despesca e nas macrófitas. A perda de nitrogênio para a atmosfera por volatilização ou denitrificação não foram consideradas. As entradas e saídas do sistema foram calculadas de acordo com:

Entradas:

Efluente de despesca inicial = Concentração de nutrientes inicial do efluente x Volume inicial do efluente

Macrófitas inicial = Concentração de nutrientes inicial nas macrófitas x Biomassa inicial das macrófitas

Total inicial = Efluente de despesca inicial + Macrófitas inicial

Saídas:

Efluente de despesca final = Concentração de nutrientes final no efluente x Volume final do efluente

Macrófitas final = Concentração de nutrientes final nas macrófitas x Biomassa final das macrófitas

Sedimento = Total inicial – (Efluente final + Macrófitas final)

Análise estatística

Aos resultados das variáveis limnológicas, foi aplicado o teste não paramétrico de Kuskal-Wallis para a comparação entre os tratamentos. Nós optamos por utilizar este teste pois os pré-requisitos necessários para a utilização da ANOVA (homogeneidade de variância e distribuição normal) não foram cumpridos. Uma vez que diferenças foram encontradas ($P < 0,05$), foram realizadas comparações a posteriori para determinar quais tratamentos diferiam entre si. O rank das médias foi utilizado para a comparação entre todos os pares de tratamentos. Para avaliar o ganho de biomassa foi realizado teste-t ($P < 0,05$) entre a biomassa inicial e final de cada tratamento. As análises foram realizadas no software STATISTICA, Versão 7.1 (STATSOFT 2005).

Resultados

Os efluentes originados dos três sistemas de cultivo MM, MA e PF não apresentaram diferenças para as variáveis temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, pH, transparência, clorofila- α e sólidos suspensos totais. Ao início do experimento, todos os tratamentos possuíam características semelhantes para as variáveis listadas. No entanto, ao final do experimento, foi possível identificar diferenças nos tratamentos com as diferentes macrófitas para algumas variáveis. Os maiores valores de oxigênio dissolvido, pH e sólidos suspensos totais foram encontrados nos tratamentos com *L. minor* enquanto a transparência foi maior nas caixas com *E. crassipes*. As variáveis temperatura, condutividade e clorofila- α não apresentaram diferenças após o período de tratamento com as macrófitas. A tabela com os valores das variáveis do efluente é apresentada no Material Suplementar A.

Em relação a concentração dos nutrientes (nitrogênio e fósforo) no efluente de despesca, os sistemas (MM, MA e PF) não apresentaram diferenças entre si no início do experimento. A única diferença foi encontrada ao final do experimento, para a variável NT, na qual MA apresentou valores inferiores a MM e PF. É importante ressaltar a grande variação dos valores dentro de um mesmo tratamento (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de nutrientes, nitrogênio e fósforo, no começo e no final do tratamento com macrófitas (média $\pm$ 1 desvio padrão). Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum*; NT = nitrogênio Kjeldahl total; NIT = nitrogênio inorgânico total; PT = fósforo total; PD = fósforo dissolvido; Letras indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos (MM, MA e PF), na concentração de nutrientes final ($P < 0.05$).

	MM		MA		PF	
Inicial	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>
NT (mg·L ⁻¹)	1.40 $\pm$ 0.67	1.56 $\pm$ 0.55	1.37 $\pm$ 0.24	1.38 $\pm$ 0.37	1.37 $\pm$ 0.72	1.57 $\pm$ 0.64
NIT (μg·L ⁻¹)	31.5 $\pm$ 16.3	22.2 $\pm$ 21.7	21.8 $\pm$ 19.2	33.5 $\pm$ 27.8	20.4 $\pm$ 20.0	28.9 $\pm$ 21.8
PT (μg·L ⁻¹)	787.1 $\pm$ 127.9	800.6 $\pm$ 87.5	809.2 $\pm$ 32.4	765.0 $\pm$ 84.1	867.2 $\pm$ 37.9	867.9 $\pm$ 25.5
PD (μg·L ⁻¹)	103.2 $\pm$ 38.6	96.9 $\pm$ 16.6	77.2 $\pm$ 23.8	82.9 $\pm$ 24.4	70.8 $\pm$ 5.9	61.3 $\pm$ 3.4
Final						
NT (mg·L ⁻¹)	0.50 $\pm$ 0.15 ^b	0.54 $\pm$ 0.15 ^b	0.30 $\pm$ 0.03 ^a	0.30 $\pm$ 0.03 ^a	0.51 $\pm$ 0.20 ^b	0.50 $\pm$ 0.22 ^b
NIT (μg·L ⁻¹)	98.4 $\pm$ 54.6	45.2 $\pm$ 12.1	83.7 $\pm$ 37.8	59.3 $\pm$ 6.1	123.1 $\pm$ 67.4	57.6 $\pm$ 3.9
PT (μg·L ⁻¹)	239.0 $\pm$ 91.4	422.1 $\pm$ 141.6	127.8 $\pm$ 3.3	190.3 $\pm$ 50.3	156.6 $\pm$ 90.0	296.7 $\pm$ 91.3
PD (μg·L ⁻¹)	26.5 $\pm$ 26.5	63.0 $\pm$ 26.4	45.0 $\pm$ 39.9	11.4 $\pm$ 12.3	35.4 $\pm$ 19.7	31.2 $\pm$ 10.8

A concentração final dos nutrientes na água apresentou reduções em relação aos valores iniciais para NT (63-78%), PT (47-84%) e PD (35-86%); no entanto a concentração de NIT aumentou entre 77 a 504%. A evolução da concentração de nutrientes (NT, NIT, PT e PD) durante o período de tratamento é apresentada na Figura 2.

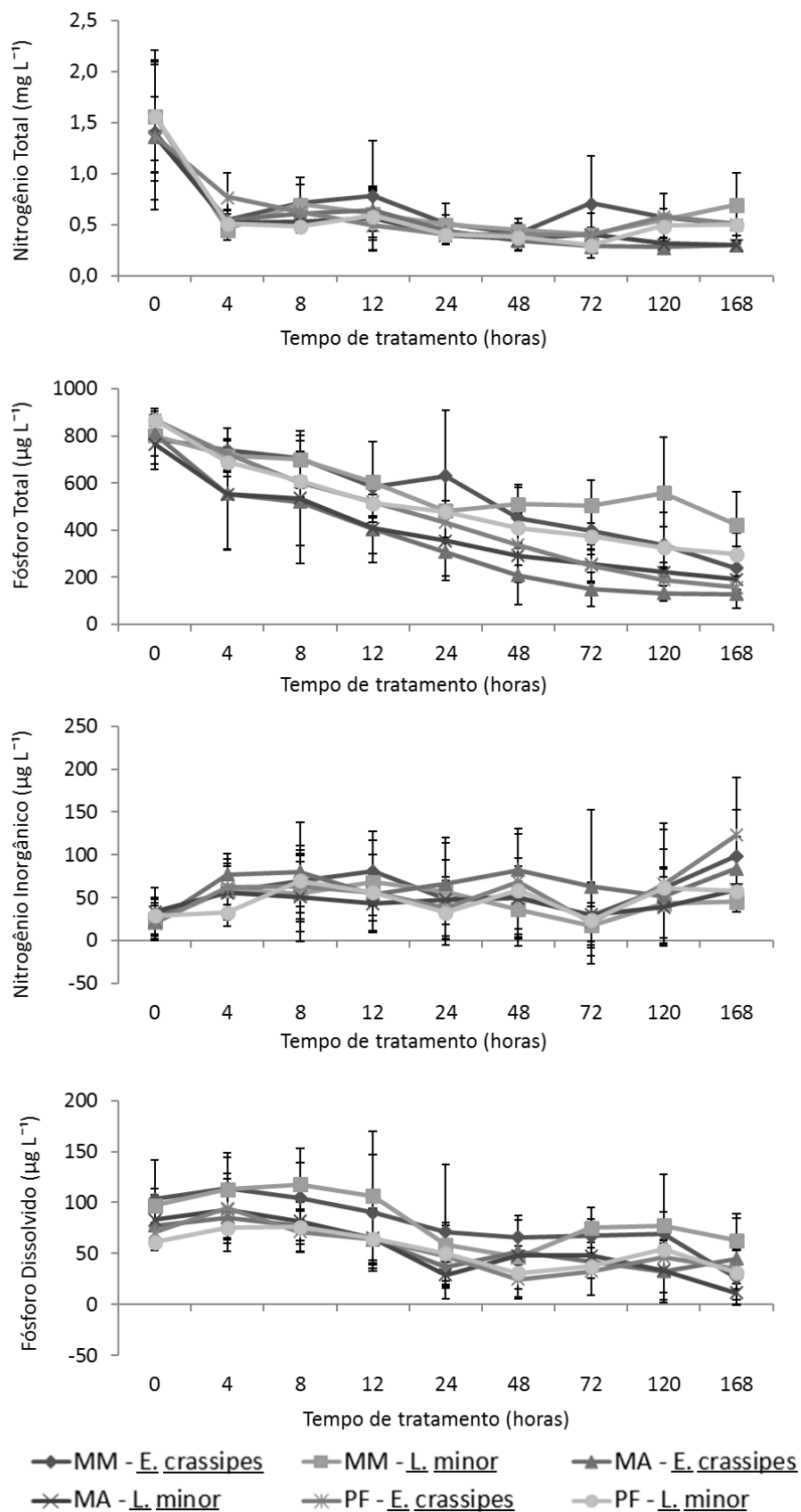


Figura 2. Concentração dos nutrientes no efluente durante o período de tratamento: nitrogênio total; fósforo total; nitrogênio inorgânico total fósforo dissolvido. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum*.

As biomassas das macrófitas *E. crassipes* e *L. minor* apresentaram resultados opostos, a primeira espécie teve um crescimento entre 14 e 21% enquanto a segunda apresentou redução da biomassa entre 3 e 18% em relação ao valor inicial (Material Suplementar A.2). A taxa de sedimentação mostrou um padrão semelhante para os tratamentos com *L. minor* e *E. crassipes*. As diferenças ocorreram entre os diferentes efluentes, no qual PF apresentou 85 a 95% de sedimentação nas primeiras 24 horas enquanto para MM os valores ficaram entre 63 a 84%. No geral, todos os tratamentos tiveram sedimentação maior que 70% nas primeiras 24 horas (Figura 3).

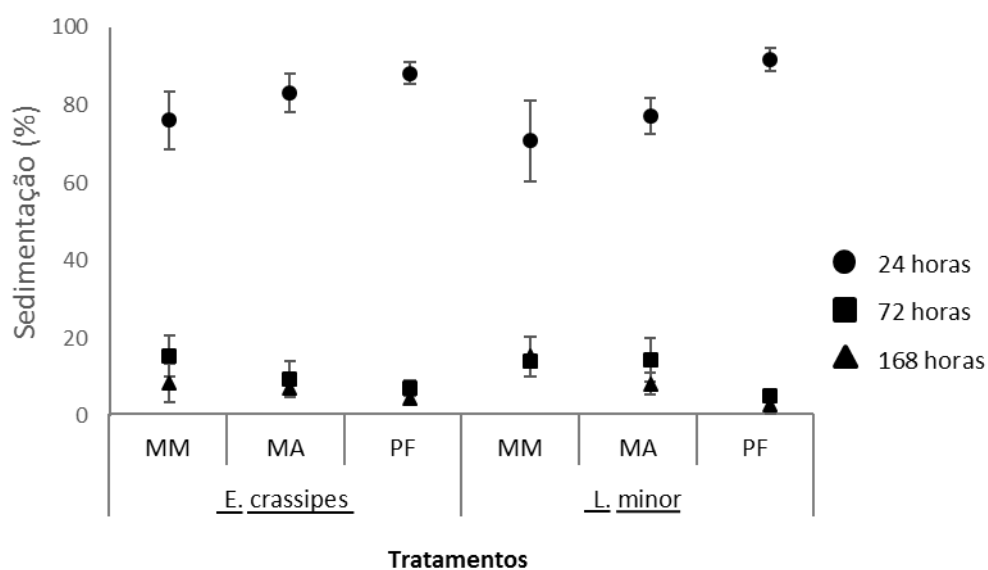


Figura 3. Taxa de sedimentação (%) durante o tratamento do efluente. Barra de erros indicam o desvio padrão. Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum*.

O balanço de nitrogênio mostrou que nos tratamentos com *L. minor* em média 83% do nitrogênio estava presente no efluente de despesca e o restante nas plantas no início do experimento. Ao final dos sete dias, os nutrientes no efluente reduzem para menos de 30% e a maior parte do nitrogênio acumulou no sedimento. No caso dos tratamentos com *E. crassipes*, a porcentagem inicial nas plantas é muito maior que a presente na *L. minor*, em média 74%. Ao final, as plantas continuavam a reter a maior parte do nitrogênio, seguido pelo sedimento, com 34% do total. Grande parte do nitrogênio presente no efluente de despesca inicial foi parar no sedimento uma vez que as macrófitas não apresentaram maior concentração de nutrientes na biomassa (Figura 4).

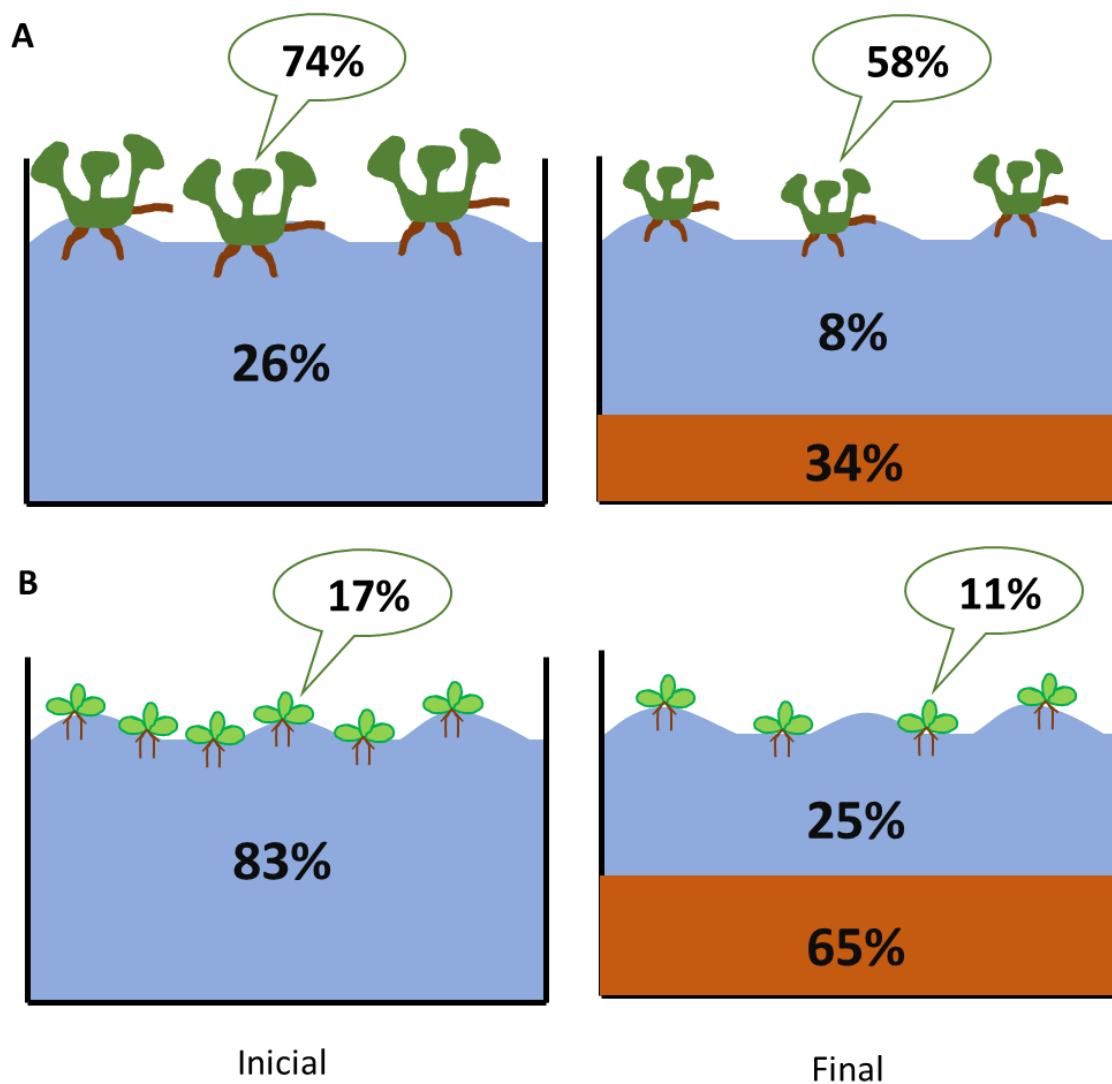


Figura 4. Balanço de nitrogênio total (%) no tratamento de efluente, inicial e final (após 7 dias), com as macrófitas *Eichhornia crassipes* (A) e *Lemna minor*. (B).

O efluente de despesca apresentou maior porcentagem de fósforo no início do tratamento, com média de 79 e 98% nos tratamentos com *E. crassipes* e *L. minor*, respectivamente. Ao final dos 7 dias, o sedimento reteve a maior parte do fósforo em ambos os tratamentos, com média de 65% para ambas as espécies. O padrão foi o mesmo observado para o nitrogênio, no qual as macrófitas não acumularam maior concentração de fósforo na biomassa final em relação ao inicial. (Figura 5).

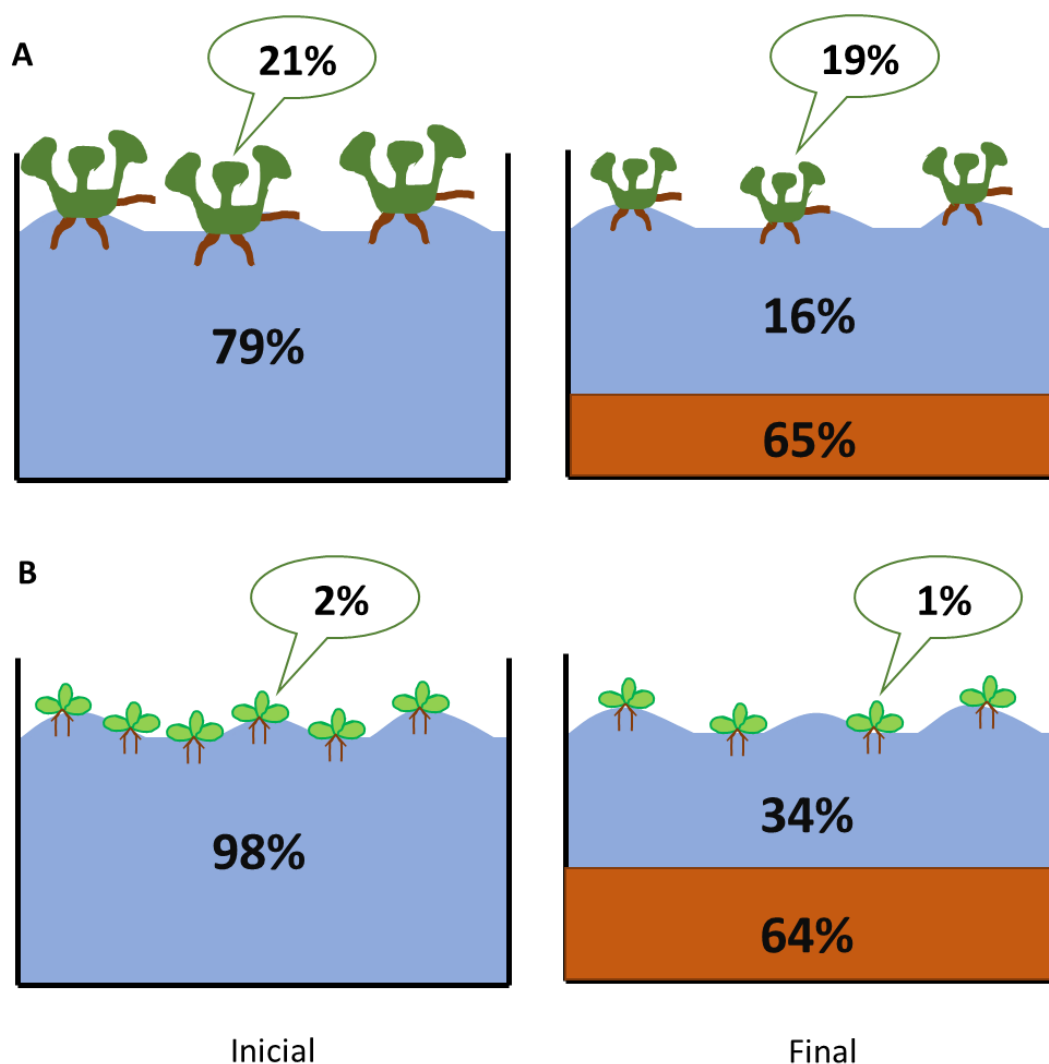


Figura 5. Balanço de fósforo total (%) no tratamento de efluente, inicial e final (após 7 dias), com as macrófitas *Eichhornia crassipes* (A) e *Lemna minor*. (B).

Discussão

Embora os efluentes de despesca utilizados nesse experimento tenham sido originados de viveiros de aquicultura (MM, MA e PF) com diferentes espécies, quantidade e tipo de ração e produtividade, esses efluentes apresentaram similaridade em relação às concentrações de nutrientes e variáveis limnológicas. A não detecção de diferenças entre os tratamentos pode ser atribuída a grande variação dos valores em um mesmo tratamento e ao número reduzido de réplicas. Experimentos em viveiros normalmente possuem poucas réplicas por razões de estrutura, mão de obra e custos; e segundo Smart et al., (1998) essa limitação na quantidade de réplicas afeta a eficiência dos resultados. A variação nas características do efluente de despesca pode ser atribuída principalmente a dois fatores, heterogeneidade dos viveiros de cultivo e ao processo de despesca. Os fatores que provocam a heterogeneidade dos viveiros são: diferenças

físicas (área e profundidade); o histórico, já que eles têm sido utilizados em diferentes experimentos e com diferentes espécies (Henares et al., 2015; Kimpara et al., 2013; Santos e Valenti, 2006); proximidade de árvores em alguns viveiros, que reduzem a radiação solar e a deposição de folhas. O processo de despesca influencia as características do efluente, uma vez que a quantidade de vezes que a rede foi usada e o tempo que o viveiro demora para ser esvaziado, afetam a quantidade de material em suspensão e conseqüentemente as características do efluente de despesca. Esses dois fatores são difíceis de controlar, pois dependem da quantidade de animais capturados em cada passada de rede e da quantidade de vezes que a saída de água foi bloqueada pelo sedimento, folhas, entre outros materiais.

A rápida redução da concentração dos nutrientes do efluente de despesca nas primeiras 24 horas de tratamento pode ser atribuída ao processo de sedimentação, uma vez que o depósito da maioria das partículas ocorreu neste mesmo intervalo. O balanço dos nutrientes reforça esta ideia que é evidenciada pela grande porcentagem de nutrientes no sedimento. Estudos mostram que o processo de sedimentação reduz a concentração de sólidos suspensos e nutrientes na água dos efluentes (Jones et al., 2001; Teichert-Coddington et al., 1999). Este processo é recomendado nas normas de boas práticas de manejo de efluente de aquicultura (Boyd, 2003).

Por outro lado, as macrófitas não tiveram o desempenho esperado no sistema em relação à absorção dos nutrientes. Alguns estudos tem mostrado que tanto *E. crassipes* (Santos e Camargo, 2015; Rezaniaa et al., 2016) e *Lemna* (Adhikari et al., 2015; Zhao et al., 2014) absorvem grandes quantidades de nutrientes em wetlands construídas. A não absorção de nutrientes pela duas espécies de macrófitas em nosso experimento pode explicar o aumento das concentrações de nitrogênio inorgânico ao final do período de tratamento. No caso dos tratamentos com *L. minor* a competição com o fitoplâncton pode ter sido responsável pela redução da biomassa e da não absorção dos nutrientes. Szabó et al. (2005) observou a inibição do crescimento de *Lemna* devido a remoção de nutrientes pelo fitoplâncton e a elevação do pH. O aumento do pH, resultado da fotossíntese do fitoplâncton faz prevalecer o íon amônia (NH_3) em relação ao amônio (NH_4^+) e segundo Körner et al. (2001) o NH_3 é tóxico para a *Lemna gibba*. Apesar dos valores de clorofila- α não apresentarem diferença significativa entre os tratamentos, maiores valores de pH e de oxigênio dissolvido indicam a presença de organismos fitoplânctonicos nos tratamentos com *L. minor*. Nos tratamentos com *E. Crassipes*, o fitoplâncton tem uma menor influência uma vez o que o seu desenvolvimento é limitado

pelo sombreamento causado pelas partes aéreas das plantas (Bicudo et al., 2007; De Tezanos Pinto et al., 2007).

O desempenho da macrófita *E. crassipes* nos sistemas de tratamento foi inesperado pois, embora tenha ocorrido um aumento da biomassa durante o experimento, a quantidade dos nutrientes nesta biomassa diminuiu em relação aos níveis iniciais. Vymazal (2007) afirma que o aumento da biomassa das macrófitas e a concentração dos nutrientes na biomassa regulam a assimilação dos nutrientes pelas plantas. A variável ganho de biomassa é também utilizada para avaliar a retenção dos nutrientes da água em sistemas de tratamento de efluentes de despesca (Santos e Camargo, 2015).

No entanto, Boyd (1971) indicou que o maior acúmulo dos nutrientes na biomassa ocorre antes da matéria seca atingir seu valor máximo, assim os nutrientes assimilados podem ser utilizados para um crescimento posterior. Uma explicação para nossos resultados é que *E. crassipes* armazenou nutrientes no período anterior ao experimento e utilizou destes nutrientes para crescer durante a fase do experimento. Os exemplares de *E. crassipes* foram mantidos em viveiros de reprodutores de *M. amazonicum* antes do início do experimento. Estes viveiros continham os nutrientes provenientes das excretas dos animais e da ração não consumida, além de serem abastecidos com água eutrofizada (ver material suplementar, Tabela A3 “Água de entrada viveiros”). As condições encontradas na água dos viveiros dos reprodutores (pouco material em suspensão e nutrientes na forma dissolvida), se assemelha as condições utilizadas em estudos nos quais o desempenho das macrófitas foi favorável (Henares e Camargo, 2014; Velichkova e Sirakov, 2013). Nós destacamos que este tipo de efluente é diferente do testado no presente estudo que foi originado da despesca de viveiros de terra com elevada quantidade de material em suspensão.

Um outro fator que pode ter afetado o desempenho das macrófitas foi a perda de nutrientes para o meio através dos processos de lixiviação e decomposição. Durante o transporte e pesagem das plantas, apesar do cuidado ao manejar as macrófitas, algumas partes como pedaços da raiz e folhas mais antigas se desprenderam dos indivíduos. Howard-Williams e Davies (1979) mostrara liberação de nitrogênio e fósforo já nos primeiros dias de decomposição.

A fim de determinar o menor tempo necessário para retenção do efluente no sistema de tratamento, a água de abastecimento dos viveiros de produção foi utilizada como referência. O período de 48 horas foi suficiente para deixar o efluente de despesca em condições semelhantes à água de abastecimento dos viveiros e sem apresentar alterações

significativas em relação às características da água ao final do experimento (ver Material suplementar, Tabela A.3). Santos e Camargo (2015) em um estudo também sobre o tratamento de efluente de despesca utilizando *E. crassipes* identificaram que 72 horas foi o tempo necessário para efetuar o tratamento. Em ambos os estudos o padrão foi semelhante para nitrogênio total, com uma queda brusca nas primeiras 24 horas e estabilização na casa de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ a partir das 48 horas (presente estudo) e $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ a partir das 72 horas (Santos e Camargo, 2015). O fósforo total também apresentou padrões semelhantes, no entanto as concentrações apresentadas foram distintas. O tratamento de efluente de despesca é necessário nas primeiras 48 horas, quando ocorre a sedimentação de grande parte das partículas e consequente redução nas concentrações de nitrogênio e fósforo.

Conclusão

As características limnológicas do efluente originado dos viveiros de terra apresentaram uma grande variação entre as réplicas. Estas variações ocorreram independentemente do sistema de cultivo testado nos viveiros e podem ser atribuídas ao processo de despesca. Um maior controle e homogeneização durante a despesca são recomendados para reduzir a influência deste processo no efluente gerado e assim permitir uma melhor caracterização dos impactos de cada sistema de produção testado.

O sistema de tratamento reduziu as quantidades de nitrogênio e fósforo no efluente. A maior parte dos nutrientes presentes no efluente ficou retida no sedimento através da decantação das partículas em suspensão. As macrófitas aquáticas não apresentaram o desempenho esperado, pois não concentraram nutrientes na biomassa. Nos tratamentos com *L. minor* provavelmente a competição com o fitoplâncton afetou o desempenho desta macrófita. Nos tratamentos com *E. crassipes* os resultados foram inesperados, pois, embora tenha ocorrido aumento de biomassa esta não apresentou maior acúmulo de nutrientes.

Um sistema de tratamento em duas etapas, a primeira para a decantação das partículas em suspensão e a segunda com macrófitas para absorção das formas dissolvidas, deve ser testado para avaliar o desempenho das macrófitas. Assim o efluente que chegará a segunda etapa apresentará uma condição favorável para a assimilação pela macrófita. Por fim, nas condições do presente estudo, o tempo de 48 horas foi suficiente para o efluente retornar ao meio ambiente, com características semelhantes à água de entrada.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) projeto nº 10/51271-6 e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto e da bolsa de estudo, respectivamente. Ao Prof. Dr. Wanger Cotrini Valenti, responsável pelo setor de Carcinicultura onde o experimento foi realizado e ao Prof. Dr. Sergio Ricardo Batlouni coordenador do projeto da FAPESP.

Referência bibliográfica

- Adhikari, U., Harrigan, T., Reinhold, D.M., 2015. Use of duckweed-based constructed wetlands for nutrient recovery and pollutant reduction from dairy wastewater. *Ecol. Eng.* 78, 6–14. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.05.024
- Allen, S., Grimshaw, H., Parkinson, J., Quarmby, C., 1974. Chemical analysis of ecological materials. Blackwell Scientific, Oxford.
- Bicudo, D.D.C., Fonseca, B.M., Bini, L.M., Crossetti, L.O., Bicudo, C.E.D.M., Araújo-Jesus, T., 2007. Undesirable side-effects of water hyacinth control in a shallow tropical reservoir. *Freshw. Biol.* 52, 1120–1133. doi:10.1111/j.1365-2427.2007.01738.x
- Boyd, C.E., 2003. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture* 226, 101–112. doi:10.1016/S0044-8486(03)00471-X
- Boyd, C.E., 1971. The Limnological Role of Aquatic Macrophytes and Their Relationship to Reservoir Management. *Reserv. Fish. Limnol.* 8, 153–166.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Auburn university, Auburn.
- Bufon, A.G.M., Landim, P.M.B., De Melo, J.S.C., 2009. Estimativa do tempo de vida útil de represa de pequeno porte. *Acta Sci. - Technol.* 31, 87–92. doi:10.4025/actascitechcnol.v31i1.1517
- Castine, S.A., Mckinnon, A.D., Paul, N.A., Trott, L.A., Nys, R. De, 2013. Wastewater treatment for land-based aquaculture : improvements and value-adding alternatives in model systems from Australia. *Aquac. Environ. Interact.* 4, 285–300. doi:10.3354/aei00088
- De Tezanos Pinto, P., Allende, L., O'Farrell, I., 2007. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: An experimental approach. *J. Plankton Res.* 29, 47–56. doi:10.1093/plankt/fbl056
- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome.
- Golterman, H.L., Clyno, R.S., Ohnstad, M.A.M., 1978. Methods for chemical analysis of fresh water. Blackwell, Boston.
- Henares, M., Camargo, A., 2014. Treatment efficiency of effluent prawn culture by wetland with floating aquatic macrophytes arranged in series. *Brazilian J. Biol.* 74, 906–912. doi:10.1590/1519-6984.10413
- Henares, M.N.P., de Lima Preto, B., Rosa, F.R.T., Valenti, W.C., Camargo, A.F.M., 2015. Effects of artificial substrate and night-time aeration on the water quality in *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) pond culture. *Aquac. Res.* 46, 618–625. doi:10.1111/are.12208
- Henry-Silva, G.G., Camargo, A.F.M., 2008. Tratamento de efluentes de carcinicultura por macrófitas aquáticas flutuantes. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 181–188. doi:10.1590/S1516-35982008000200002

- Howard-Williams, C., Davies, B., 1979. The rates of dry matter and nutrient loss from decomposing *Potamogeton pectinatus* in a brackish south-temperate coastal lake. *Freshw. Biol.* 9, 13–21.
- Iamchaturapatr, J., Yi, S., Rhee, J., 2007. Nutrient removals by 21 aquatic plants for vertical free surface-flow (VFS) constructed wetland. *Ecol. Eng.* 29, 287–293. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.09.010
- IBGE, 2014. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro.
- Idris, S.M., Jones, P.L., Salzman, S.A., Croatto, G., Allinson, G., 2012. Evaluation of the giant reed (*Arundo donax*) in horizontal subsurface flow wetlands for the treatment of dairy processing factory wastewater. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 3525–3537. doi:10.1007/s11356-012-0914-0
- Jegatheesan, V., Shu, L., Visvanathan, C., 2011. Aquaculture effluent: Impacts and remedies for protecting the environment and human health. *Encycl. Environ. Heal.* 123–135.
- Jones, A.B., Dennison, W.C., Preston, N.P., 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: A laboratory scale study. *Aquaculture* 193, 155–178. doi:10.1016/S0044-8486(00)00486-5
- Journey, W., Skillicorn, P., Spira, W., 1993. Duckweed aquaculture. A new aquatic farming system for developing countries. Washington DC.
- Kimpapa, J., Santos, A., Valenti, W., 2013. Effect of Water Exchange and Mechanical Aeration on Grow-out 44, 845–852.
- Kivaisi, A.K., 2001. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: A review. *Ecol. Eng.* 16, 545–560. doi:10.1016/S0925-8574(00)00113-0
- Körner, S., Das, S.K., Veenstra, S., Vermaat, J.E., 2001. The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*. *Aquat. Bot.* 71, 71–78. doi:10.1016/S0304-3770(01)00158-9
- Koroleff, F., 1976. Determination of nutrients, in: Grasshoff (Ed.), *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, New York, pp. 117–181.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J., Talling, J.F., 1978. *Water Analysis: Some Revised Methods for Limnologists*.
- Malik, A., 2007. Environmental challenge vis a vis opportunity: The case of water hyacinth. *Environ. Int.* 33, 122–138. doi:10.1016/j.envint.2006.08.004
- Marker, A.F.H., Nusch, E.A., Rai, H., Riemann, B., 1978. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardisation of methods: Conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiol.* 14, 91–106.
- Moraes-Valenti, P.M., Valenti, W.C., 2010. Culture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*, in: New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., Kutty, M.N. (Eds.), *Freshwater Prawns — Biology and Farming*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 485–501.
- Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017–1024. doi:10.1038/35016500
- Rezaniaa, S., Ponraja, M., Din, M., Chelliapana, S., Sairana, F., 2016. Effectiveness of *Eichhornia crassipes* in nutrient removal from domestic wastewater based on its optimal growth rate. *Desalin. Water Treat.* 57, 360–365. doi:10.1080/19443994.2014.967305
- Santos, M.J.M. dos, Valenti, W.C., 2006. Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* stocked at different densities in polyculture systems in Brazil. *J. World Aquac. Soc.* 33, 369–376. doi:10.1111/j.1749-7345.2002.tb00513.x
- Santos, A., Camargo, A.F.M., 2015. Constructed wetlands for treatment of harvest effluents from grow-out ponds of the Amazon river prawn. *Aquac. Res.* 46, 2676–2684.

doi:10.1111/are.12423

- Sartory, D.P., Grobbelaar, J.U., 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114, 177–187. doi:10.1007/BF00031869
- Schwartz, M.F., Boyd, C.E., 1994. Effluent quality during harvest of channel catfish from watershed ponds. *Progress. Fish-Culturist* 56, 25–32. doi:10.1577/1548-8640(1994)056<0025:EQDHOC>2.3.CO;2
- Smart, T.S., Riley, J., Edwards, P., 1998. Statistical aspects of aquaculture research: Sample sizes for pond experiments. *Aquac. Res.* 29, 373–379. doi:10.1046/j.1365-2109.1998.00212.x
- Szabó, S., Roijackers, R., Scheffer, M., Borics, G., 2005. The strength of limiting factors for duckweed during algal competition. *Arch. für Hydrobiol.* 164, 127–140. doi:10.1127/0003-9136/2005/0164-0127
- Teichert-Coddington, D.R., Rouse, D.B., Potts, A., Boyd, C.E., 1999. Treatment of harvest discharge from intensive shrimp ponds by settling. *Aquac. Eng.* 19, 147–161. doi:10.1016/S0144-8609(98)00047-8
- Travaini-Lima, F., Da Veiga, M.A.M.S., Sipa??ba-Tavares, L.H., 2015. Constructed wetland for treating effluent from subtropical aquaculture farm. *Water. Air. Soil Pollut.* 226. doi:10.1007/s11270-015-2322-9
- Tucker, C.S., 1998. Characterization and management of effluents from aquaculture ponds in the southeastern United States. *SRAC Publ.* 470 6 pp.
- Velichkova, K.N., Sirakov, I.N., 2013. The Usage of Aquatic Floating Macrophytes (*Lemna* And *Wolffia*) as Biofilter in Recirculation Aquaculture System (RAS). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 13, 101–110. doi:10.4194/1303-2712-v13
- Vymazal, J., 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380, 48–65. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.09.014
- Zhao, Z., Shi, H., Liu, Y., Zhao, H., Su, H., Wang, M., Zhao, Y., 2014. The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. *Bioresour. Technol.* 167, 383–389. doi:10.1016/j.biortech.2014.06.031

Material suplementar

Tabela A.1. Valores das variáveis de água mensuradas antes da adição das macrófitas e ao final dos sete dias de experiment (media $\pm$ 1 desvio padrão). Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum*; Temp. = temperatura; O.D. = oxigênio dissolvido; Cond. = condutividade; Transp. = transparência; Clorof. = clorofila- α ; SST = sólidos suspensos totais; Letras indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

	MM		MA		PF	
Inicial	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>	<i>E. crassipes</i>	<i>L. minor</i>
Temp. (°C)	21.1 $\pm$ 0.7	20.9 $\pm$ 0.4	19.9 $\pm$ 1.0	20.1 $\pm$ 0.5	20.4 $\pm$ 1.0	20.1 $\pm$ 0.9
O.D. (mg·L ⁻¹)	3.0 $\pm$ 3.5	2.2 $\pm$ 2.2	3.8 $\pm$ 1.6	3.2 $\pm$ 0.9	1.6 $\pm$ 1.0	2.5 $\pm$ 0.6
Cond. (μ S·cm ⁻²)	108.0 $\pm$ 5.7	107.8 $\pm$ 5.9	103.0 $\pm$ 7.2	103.4 $\pm$ 5.9	105.4 $\pm$ 1.2	104.5 $\pm$ 0.5
pH	6.9 $\pm$ 0.4	6.8 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 0.2	6.8 $\pm$ 0.1	7.0 $\pm$ 0.3
Transp. (cm)	8.3 $\pm$ 2.9	9.3 $\pm$ 2.1	8.0 $\pm$ 3.6	7.7 $\pm$ 3.2	6.3 $\pm$ 0.6	5.7 $\pm$ 1.5
Clorof. (μ g·L ⁻¹)	0.56 $\pm$ 0.23	0.86 $\pm$ 0.50	0.23 $\pm$ 0.09	0.24 $\pm$ 0.10	0.66 $\pm$ 0.23	0.65 $\pm$ 0.13
SST (mg·L ⁻¹)	201.8 $\pm$ 121.2	167.7 $\pm$ 86.3	272.1 $\pm$ 174.2	288.1 $\pm$ 214.1	290.4 $\pm$ 77.6	362.1 $\pm$ 78.3
Final						
Temp. (°C)	20.4 $\pm$ 0.3	20.3 $\pm$ 0.8	20.4 $\pm$ 0.2	20.3 $\pm$ 0.2	20.6 $\pm$ 0.5	20.0 $\pm$ 0.3
O.D. (mg·L ⁻¹)	1.2 $\pm$ 0.7 ^a	6.1 $\pm$ 3.3 ^b	1.8 $\pm$ 0.3 ^{ab}	7.0 $\pm$ 1.8 ^b	1.0 $\pm$ 0.4 ^a	7.4 $\pm$ 2.2 ^b
Cond. (μ S·cm ⁻²)	95.8 $\pm$ 7.3	108.9 $\pm$ 8.8	91.7 $\pm$ 4.3	104.4 $\pm$ 5.6	99.9 $\pm$ 6.7	109.0 $\pm$ 3.2
pH	6.8 $\pm$ 0.1 ^{ab}	8.6 $\pm$ 1.2 ^{bc}	6.9 $\pm$ 0.3 ^{abc}	8.9 $\pm$ 0.4 ^{bc}	6.7 $\pm$ 0.1 ^a	9.1 $\pm$ 0.4 ^c
Transp. (cm)	37.7 $\pm$ 6.7 ^{ab}	23.3 $\pm$ 10.3 ^a	55.3 $\pm$ 9.9 ^b	43.3 $\pm$ 10.3 ^{ab}	49.7 $\pm$ 8.1 ^b	24.3 $\pm$ 7.1 ^a
Clorof. (μ g·L ⁻¹)	0.08 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.26	0.02 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.13
SST (mg·L ⁻¹)	12.0 $\pm$ 2.3 ^{ab}	23.3 $\pm$ 10.4 ^b	5.8 $\pm$ 3.7 ^a	17.5 $\pm$ 6.1 ^{ab}	8.36 $\pm$ 5.7 ^a	36.6 $\pm$ 13.5 ^b

Tabela A.2. Ganho de biomassa das macrófitas (%) após o período de tratamento do efluente de 168 horas (media $\pm$ 1 desvio padrão). Nota: MM = monocultivo de *C. macropomum*; MA = monocultivo de *M. amazonicum*; PF = policultivo de *C. macropomum* e *M. amazonicum*. * Indica diferença para biomassa inicial ($P < 0,05$)

	MM	MA	PF
<i>E. crassipes</i>	21.0 $\pm$ 11.5*	17 $\pm$ 6.2*	14 $\pm$ 6.8*
<i>L. minor</i>	-18.0 $\pm$ 8.7*	-3 $\pm$ 5.1	-16 $\pm$ 7.9*

Tabela A.3. Concentração de sólidos suspensos e dos nutrientes, nitrogênio e fósforo, na água de entrada para os viveiros de aquicultura e durante o tratamento de efluente (media $\pm$ 1 desvio padrão). Nota: NT = nitrogênio Kjeldahl total; NIT = nitrogênio inorgânico total; PT = fósforo total; PD = fósforo dissolvido, SST = sólidos suspensos totais. * Água utilizadas nos viveiros que originaram os efluentes deste estudo e viveiros nos quais as macrófitas foram mantidas antes de serem utilizadas neste estudo.

	Água de entrada viveiros*	<i>Eichhornia crassipes</i>					<i>Lemna minor</i>				
		Inicial (0h)	4h	24h	48h	Final (168h)	Inicial (0h)	4h	24h	48h	Final (168h)
NT (mg/L)	0.4 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.5	0.6 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.2	1.50 $\pm$ 0.47	0.5 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.3
NIT (μ g/L)	293 $\pm$ 241	25 $\pm$ 17	65 $\pm$ 27	51 $\pm$ 34	67 $\pm$ 45	102 $\pm$ 50	28 $\pm$ 21	49 $\pm$ 28	46 $\pm$ 43	48 $\pm$ 45	54 $\pm$ 10
PT (μ g/L)	196 $\pm$ 31	821 $\pm$ 77	672 $\pm$ 154	456 $\pm$ 210	332 $\pm$ 145	174 $\pm$ 81	811 $\pm$ 77	652 $\pm$ 147	438 $\pm$ 101	403 $\pm$ 122	303 $\pm$ 134
PD (μ g/L)	25 $\pm$ 9	84 $\pm$ 27	98 $\pm$ 32	52 $\pm$ 40	48 $\pm$ 23	36 $\pm$ 27	80 $\pm$ 21	94 $\pm$ 28	46 $\pm$ 23	42 $\pm$ 24	35 $\pm$ 27
SST (mg/L)	20 $\pm$ 7	255 $\pm$ 120	107 $\pm$ 66	43 $\pm$ 22	26 $\pm$ 17	9 $\pm$ 5	273 $\pm$ 149	104 $\pm$ 69	54 $\pm$ 25	42 $\pm$ 20	34 $\pm$ 22

Capítulo IV

Life cycle assessment of fish and prawn production: comparison of monoculture and polyculture freshwater systems in Brazil

Life cycle assessment of fish and prawn production: comparison of monoculture and polyculture freshwater systems in Brazil

Abstract

This study applied life cycle assessment (LCA) to evaluate and compare environmental impacts of monoculture and polyculture systems in freshwater ponds. Two omnivorous native Brazilian species were used: the fish tambaqui (*Colossoma macropomum*) and the Amazon River prawn (*Macrobrachium amazonicum*). Four semi-intensive aquaculture systems (at an experimental level) were established and studied: monoculture of *C. macropomum* (MM), monoculture of *M. amazonicum* (MA), polyculture in which both species were free in the pond (PF), and polyculture in which *C. macropomum* was reared in a hapa cage and *M. amazonicum* was free in the pond (PH). The MM, PF and PH systems were fed fish feed, while MA was fed shrimp feed. Water was not renewed, but added only to replace losses from evaporation and seepage. Seven impact categories were analyzed: climate change, eutrophication, cumulative energy demand, land occupation, acidification, net primary production use and water dependence. Potential impacts of 1 kg of animal biomass produced by the systems were calculated, as was uncertainty in predictions based on uncertainty in data for the systems. Environmental impacts of each species in the polyculture systems were estimated using system expansion and different allocation approach: mass, energy and economic. PF and MM had the lowest impacts in all impact categories, while MA had the highest. When economic allocation was used, PF had lower impacts than MM per kg of *C. macropomum*. The rearing stage itself was the main contributor to eutrophication, land occupation and water dependence. However, feed was the main contributor to acidification and net primary production use in all systems. Only for PH was feed not the most significant contributor to climate change. Productivity and feed conversion ratio were key factors that defined the most efficient system from an environmental viewpoint. Our study demonstrated the advantage of rearing *M. amazonicum* in a polyculture instead of a monoculture, while no difference was found for *C. macropomum*. Changing the allocation approach revealed that aquaculture of *M. amazonicum* has lower impacts when the species is reared in polyculture systems. Moreover, aquaculture of native species remains in the early stages, and further development of its production chain may decrease its environmental impacts.

Keywords

Macrobrachium amazonicum; *Colossoma macropomum*; Aquaculture; Allocation; Uncertainty analysis

1. Introduction

Fed aquaculture is increasingly used to produce high-value fish and crustacean species (FAO, 2014). However, its nutrient efficiency remains moderate, since only 30% of the total nitrogen (N) and phosphorus (P) delivered to the system is recovered in biomass (Boyd and Tucker, 1998). The discharge of enriched effluents from aquaculture sites causes environmental pollution and degradation in the receiving water bodies (Boaventura et al., 1997; Jegatheesan et al., 2011). In addition to the discharge, the spread of diseases and escape of farmed species can affect local biodiversity; these impacts are amplified in the case of non-native species (Diana, 2009; Naylor et al., 2000). Domestication of native species and improvements in aquaculture production systems are important steps to achieve sustainable development, especially from an environmental viewpoint. From this perspective, domestication of native species in Brazil is important because the country is a hotspot of biodiversity and has a growing aquaculture sector.

Production by Brazilian aquaculture increased by 8.5% from 2013-2014 reaching 561 kt (IBGE, 2014). According to the FAO (2016), it ranked 2nd and 14th in Latin American and global aquaculture production, respectively. Brazil has placed special focus on rearing native species. In particular, the fish *Colossoma macropomum*, the second most produced species in Brazil, is responsible for nearly 25% of all national aquaculture production (IBGE, 2014). Domestication of native Brazilian species, however, remains at an early stage. For instance, the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* has only small-scale regional production, despite its potential for aquaculture (Moraes-Valenti and Valenti, 2010) and many research studies of its production stages (de Araujo and Valenti, 2007; Maciel and Valenti, 2009).

The focus of this study was to explore the relevance of improving production system efficiency by combining the aquaculture of two species. In polyculture, nutrients not used by one species can be used by the other, and in some cases the presence of one species increases the productivity of the other (Joyni et al., 2011; Wahab et al., 2011). In addition to improvements in nutrient use, the additional product at the end of the cycle provides an economic benefit (Kadir et al., 2007; Whitmarsh et al., 2006). Nevertheless, environmental efficiency of a production system does not rely only on the nutrients retained as biomass; pollutant emissions and fate, and consumption of resources at different stages of the production system, should also be considered.

Life cycle assessment (LCA), an important tool for estimating environmental impacts and identifying their sources (ISO, 2006a, b), has been used to analyze aquaculture production

systems around the world (Aubin et al., 2015; Cao et al., 2011; Dekamin et al., 2015; Huysveld et al., 2013; Pelletier and Tyedmers, 2010; Santos et al., 2015). However, to our knowledge, LCA has been applied only once to polyculture systems (Aubin et al., 2015) and rarely to integrated aquaculture and agriculture systems (Efole Ewoukem et al., 2012; Phong et al., 2011), since most LCA studies evaluate monoculture systems. One advantage of LCA is that it allows different products or systems to be compared using the same functional unit. Decisions and assumptions made by LCA practitioners about system boundaries and life cycle inventories, however, may lead to biased comparisons.

To quantify life cycle inventories, most aquaculture LCA studies in the literature used data from commercial units (Dekamin et al., 2015; Jerbi et al., 2012; Pelletier and Tyedmers, 2010), while some relied on questionnaires (Aubin et al., 2015; Bosma et al., 2011) and others designed hypothetical farms based on literature data (Santos et al., 2015). In this study, we performed LCA with data collected during an experiment. The small scale of the experimental units allows better control of system inputs and outputs, and facilitates replication of production scenarios to better understand the influence of controlled factors on system performance.

To determine nutrient fate, the modeling approach designed in this study included emissions to the water and soil, commonly considered in aquaculture LCAs, and added emissions to the air. Although studies have identified gas emissions from aquaculture systems (Gross et al., 2000; Lorenzen et al., 1997), only a few have discussed their importance, especially that of methane, in LCA impact categories in aquaculture systems (Aubin et al., 2015; Phong et al., 2011).

Henriksson et al. (2012) highlight the poor data quality in certain aquaculture LCA studies. Different approaches, such as determining uncertainty, have been developed to increase the level of confidence in LCA inventories (Ciroth et al., 2013; Henriksson et al., 2014); however, uncertainty in input data is often ignored in published studies. Moreover, approaches for allocating environmental impacts of multi-output systems remain under debate. In our study, robustness of the results is considered using estimates of the uncertainty in and their sensitivity to different approaches for allocating impacts among species produced by polyculture systems. The overall aim of this study is to compare the environmental performance of monoculture and polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum*, based on experimental results, to highlight challenges of developing multi-species aquaculture.

2. Material and methods

Environmental impacts of the aquaculture rearing systems were estimated using LCA in accordance with ISO standards (ISO, 2006a, b).

2.1 Goal and scope

The goal of this LCA study was to estimate and compare environmental impacts of polyculture and monoculture rearing systems of two native Brazilian species. The functional unit was 1 kg of animal biomass (liveweight), and fish and prawn were considered a single output in polyculture systems. This study is based on experimental results designed to compare the efficiency of *M. amazonicum* and *C. macropomum* monocultures and polycultures. When allocation was applied to the polyculture systems, outputs were 1 kg of fish or prawn separately (see section 2.5 Co-product handling approaches).

The system boundaries used in this study were from “cradle to farm gate” (Figure 1). The inputs considered for the farm production stage were feed, stocking animals, equipment, infrastructure (ponds and buildings), transport, electricity and water. Emissions to the soil, water and air from the experimental ponds were included. A similar approach was applied to the previous stages of fish fry and prawn post-larvae (pl) production.

2.2 Experimental aquaculture systems

The experiment was conducted at the Freshwater Prawn Sector of the Aquaculture Center of UNESP (CAUNESP) in Jaboticabal, São Paulo, Brazil (21°15'18''S; 48°19'19''W). Twelve earthen ponds with an area of 110-170 m² and depth of 0.85-1.19 m were used during 170 days in the warm season (November 2013 to April 2014). No liming, fertilization or water renewals were performed. Water was added to replace loss from evaporation and seepage. Aeration was provided to all ponds from the third month onwards from 1:30-5:30 am in periods of 60:30 minutes (on:off); in total, propeller aerators were used for 399 hours.

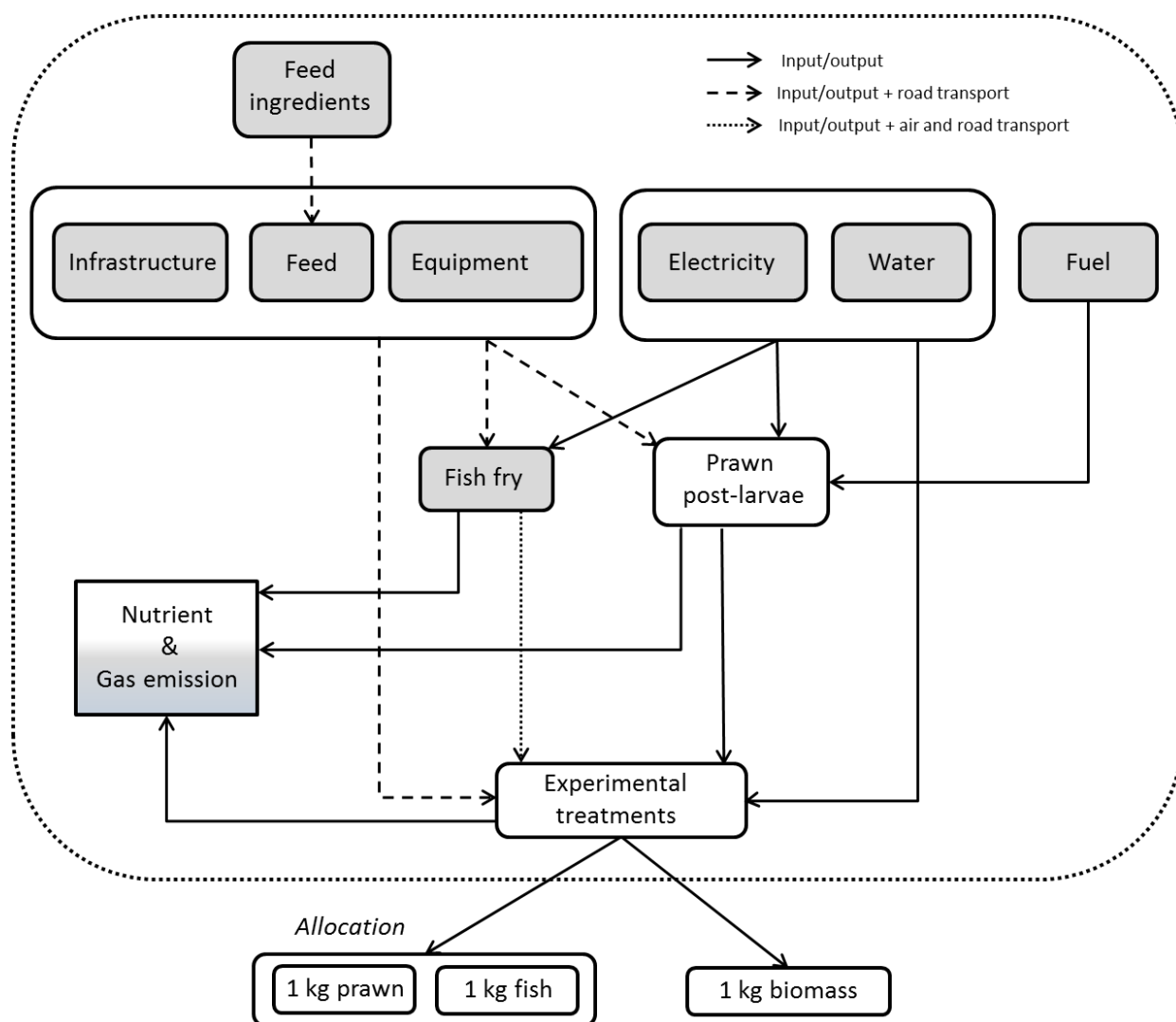


Figure 1. System boundaries for a “cradle to gate” life cycle assessment of the four experimental systems. Unshaded and shaded boxes represent the elements modeled using foreground and background data, respectively.

Four systems with three replicates each were tested: I) monoculture of *C. macropomum* (MM), II) monoculture of *M. amazonicum* (MA), III) polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond (PF) and IV) polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which the fish were reared inside a hapa (4 m³ net cages) and the prawn were free in the pond (PH). Hapas are net cages, supported by wood, metal or bamboo poles, commonly used to separate individuals of different species or size in the same pond. The PH system was created to keep fish from eating prawns. In the polyculture systems (PH and PF), prawn pl were stocked one week before fish fry were stocked. Since the prawn pl

were produced in the experimental CAUNESP hatchery in Jaboticabal, no transport was required. The fish fry came from a commercial farm located in Presidente Figueiredo, Amazonas, Brazil, and the delivery included transport by air and road. Initial mean prawn pl weight and stocking density were 0.038 g and 30 pl·m⁻², respectively, in the MA, PF and PH systems. Initial mean fish fry weight was 1.77 g, and the stocking density was 3 fry·m⁻² in the MM and PF systems. In contrast, the stocking density in the PH system was 30 fry·m⁻³ in the hapa, or 0.86 fry·m⁻² in relation to the pond surface. Feed was delivered twice a day and adjusted once per month after fish/prawn sampling. The amount of feed in the PF and PH systems was calculated according to fish biomass. The feed in the PH system was delivered only inside the hapa, while feed in the other systems was spread over the pond surface. Fish in MM, PF and PH systems were fed three types of fish feed (32-45% crude protein, 4.5-7.0% lipid), and prawn in MA were fed two types of shrimp feed (38-40% crude protein, 7.5% lipid) (see Supplementary data A for more details). Data on the experimental design and rearing performances are presented in Table 1.

Table 1. Experimental design, rearing performances and electricity and water used during the experiment (170 days) in monoculture and polyculture systems of *C. macropomum* and *M. amazonicum* (mean $\pm$ 1 standard deviation). Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn were free in the pond; FCR total = feed conversion ratio, considering total biomass in the pond (fish and prawn together in polyculture systems); FCR fish = feed conversion ratio, considering only the fish biomass.

	MM	MA	PF	PH
Fish stocking density (fry·m ⁻²)	3	-	3	0.86 $\pm$ 0.1*
Prawn stocking density (pl·m ⁻²)	-	30	30	30
Stocked fish biomass (kg·ha ⁻¹)	53.2	-	53.2	15.2 $\pm$ 1.8*
Stocked prawn biomass (kg·ha ⁻¹)	-	11.3	11.3	11.3
FCR total (wet weight)	1.14 $\pm$ 0.04	2.80 $\pm$ 0.08	0.97 $\pm$ 0.01	0.72 $\pm$ 0.16
FCR fish (wet weight)	1.14 $\pm$ 0.04	-	1.12 $\pm$ 0.03	1.15 $\pm$ 0.04
Fish productivity (kg·ha ⁻¹)	5,386 $\pm$ 945	-	4,349 $\pm$ 822	914 $\pm$ 175
Prawn productivity (kg·ha ⁻¹)	-	953 $\pm$ 163	663 $\pm$ 73	551 $\pm$ 91
Total productivity (kg·ha ⁻¹)	5,386 $\pm$ 945	953 $\pm$ 163	5,011 $\pm$ 869	1,465 $\pm$ 267
Electricity consumption (kwh)	99.8	99.8	99.8	99.8
Water (m ³)	1,368 $\pm$ 16	1,703 $\pm$ 554	917 $\pm$ 174	1,383 $\pm$ 471

* Stocking density was 120 fish fry per hapa, or 30 fry·m⁻³.

2.3 Life cycle inventory

Data about the rearing systems were obtained from field measurements: initial and final biomass, feed amounts, inlet water and electricity consumption (Table 1 and Supplementary data A.6). All electricity considered during the experiment was for aeration, since most water arrived by gravity, and pumping was not considered. The water balance (Equation 1) included water input (volume) from the inlet and rain; however, only the nutrients (N and P) present in inlet water were considered for the mass balance. Feed P and crude protein contents were based on package labels (Supplementary data A). *C. macropomum* P and crude protein contents were obtained from the literature: 0.7% and 15%, respectively (Meer et al., 1995). Due to the lack of literature on *M. amazonicum*, P and crude protein contents of *Macrobrachium rosenbergii* (in the same genus) were used for it: 0.226% and 18.11%, respectively (Sahu et al., 2013). Data for gaseous emissions were also extracted from the literature: methane emissions of $2.47 \text{ mg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ came from a refuge fish pond in a rice-fish experiment (Datta et al., 2009), while ammonia volatilization of 12.5% and denitrification of 17.4% of total N inputs were derived from channel catfish ponds (Gross et al., 2000). The model (assumptions and equations) used to determine the fate of the N and P in the systems is described in Supplementary data B, while the inputs and outputs used to build the inventories are presented in Supplementary data C.

$$\text{Inlet water} + \text{Rain water} = \text{Evaporation} + \text{Seepage} + \text{Drained water (harvest)} \quad (\text{Eq. 1})$$

Background data related to equipment, infrastructure materials, electricity, fuel and transport were obtained from the ecoinvent® v3.1 database (default option). For feed ingredients, the modeled data were extracted from life cycle inventories in the INRA UMR SAS and AGRIBALYSE databases after all ecoinvent processes in these inventories had been updated to ecoinvent v3.1. Distances for road transport were estimated using Google Maps®. We assumed that each ingredient was transported to the feed factory from the Brazilian city that produced the most of it. The only exceptions were fish oil and fish meal, which were assumed to come from the port of Callao, Peru. Data used for fish oil and fish meal, and the pelletizing and packing processes, were based on the study of Boissy et al. (2011). The fish feed factory is located in Pitangueiras, São Paulo, Brazil, and the prawn feed factory in Sales Oliveira, São Paulo. We also included transport of feed, equipment and materials used in the infrastructure from the cities where they were fabricated to the experimental site.

Data for the *M. amazonicum* pl inventory was collected at the experimental hatchery in CAUNESP during prawn pl production. The inputs included were feed, water, electricity, fuel, equipment and infrastructure for the three stages: broodstock maintenance, hatchery and nursery. Mass-balance modeling, used to identify the fate of nutrients during the experiment, was adapted for prawn pl production (Supplementary data C). The feed considered in each stage was the same as that used during the experiment: pellet feed for broodstock maintenance (38% crude protein, 7.5% lipid) and powder feed for the nursery (40% crude protein, 7.5% lipid); see Supplementary data A for more feed details. For the hatchery stage, only brine shrimp (*Artemia salina*) was considered as feed. Electricity consumption included the air blower responsible for aerating the tanks in the hatchery and nursery for 24 hours and the water heaters and lamps used to maintain the photoperiod.

Data for *C. macropomum* fry production were obtained from the literature (Guerreiro, 2012). Similar to prawn pl production, fish fry production was divided into the same three stages and included feed inputs for broodstock maintenance (32% crude protein, 4.5% lipid) and the nursery (45% crude protein, 7.0% lipid). The inputs were the same as those for prawn pl, excluding fuel, since no generator was used. For electricity, only consumption by the lights of the feed depot and the packing unit was included. For more information, see Supplementary data C.

2.4 Life cycle impact assessment

Life cycle impact assessment was based on the CML-IA version 3.02 method (Guinée et al., 2002). Seven impact categories were selected:

- climate change (kg CO₂ equivalent), which aggregates greenhouse gas emissions
- acidification (kg SO₂ equivalent), which aggregates substances that release hydrogen ions into the ecosystem
- eutrophication (kg PO₄ equivalent), which aggregates nutrient emissions that lead to oxygen depletion, impacting aquatic and terrestrial environments
- cumulative energy demand (MJ), which aggregates the energy used from renewable and non-renewable sources (Frischknecht et al., 2004)
- land occupation (m²year), which represents the land and time required to produce an output

- water dependence (m^3), which is the water that forms part of the system, passing through the system and returning to the environment unconsumed (Aubin et al., 2009)
- net primary production use (kg C), which aggregates terrestrial and aquatic net primary production that is unavailable for other uses (Papatryphon et al., 2004). According to a review by Cashion et al. (2016), this category is specific to aquaculture LCAs and is included in 11 of 26 of them that assess consumption of primary production. Other impact categories are available to evaluate similar issues, such as “Primary Production Required” (Pauly and Christensen, 1995), “Biotic Resource Use” (Pelletier and Tyedmers, 2007) and more recently “Specific Primary Production Required” (Luong et al., 2015). NPPU has been chosen for its generality and the ability to compare its results with those of previous studies.

According to the review of Aubin (2013), these categories are the most used in studies of aquaculture systems. To facilitate understanding and discussion of the results, we show the results of only four categories (climate change, eutrophication, cumulative energy demand and land occupation) in the main article (results of the other impact categories are given in supplementary data D and E). Acidification impact is frequently assessed in aquaculture studies (Aubin, 2013; Henriksson et al., 2012), but its patterns are similar to those of cumulative energy demand, which had more interesting discussion points for our study. The LCA was calculated with SimaPro® v8.0.5 software (Pré Consultants, Amersfoort, The Netherlands).

We also calculated the edible-protein energy return-on-investment (ep-EROI), which is the ratio of protein energy harvested to energy input to the system (Vázquez-Rowe et al., 2014). We assumed that energy input to the system equaled cumulative energy demand and adapted calculation of ep-EROI for each species in the polyculture systems (Supplementary data F).

2.5 Co-product handling approaches

The polyculture systems (PF and PH) delivered *C. macropomum* and *M. amazonicum* as co-products. Therefore, allocation was performed to quantify the impact of each species in the polyculture. Production of *C. macropomum* fry and *M. amazonicum* pl was separated from the system's common inputs, such as water, feed, equipment, etc., and associated with the corresponding species.

The ISO 14044 standard divides the choice of allocation into three successive approaches: (1) expanding the product system, (2) allocation via physical relationships or (3) allocation via other relationships (ISO, 2006a, b). We compared the use of these approaches to estimate impacts of each species in the polyculture systems. The first approach of the standard suggests avoiding allocation; therefore, the system was expanded using monoculture-system data for the species in the polyculture systems. In the second approach, if allocation cannot be avoided, physical relationships should be applied to divide co-product impacts; we selected mass- and energy-based allocation approaches. In the third approach, if the previous procedures cannot be applied, it is recommended to apply another relationship between the co-products. For this study, we selected economic allocation, which is widely used in aquaculture. We also calculated ep-EROI using both mass and economic allocations to compare the influence of allocation approach.

2.6 Uncertainty analysis

The process for determining uncertainty in the production systems included three steps. For primary data, the standard deviation of the three replicates was used in a normal distribution (as suggested by experiment results). For secondary data, the pedigree matrix of Ciroth et al. (2013) was used to quantify uncertainty in the values selected from the literature. We applied a lognormal distribution to results generated from the matrix. For P digestibility by *M. amazonicum* and economic allocation, maximum and minimum values were selected from a uniform distribution. Monte Carlo (MC) analysis was performed in SimaPro® v8.0.5. A list of the parameters, matrix outcomes and sales prices is given in Supplementary data G.

2.7 Data analysis

To compare systems while considering uncertainty, we ran 1,000 interactions in pairs in MC analysis. This method indicated the number of times that one system had higher impacts than the other. We considered that the two systems differed if one had higher impacts in at least 90% of the runs. This method was used to compare impacts of the following: the four systems (MM, MA, PF and PH) to each other; system expansion and allocation (mass, energy and economic) vs. the MM and MA monocultures; and the mass, energy and economic allocation approaches. This analysis was performed in SimaPro® v8.0.5.

Correlations among system inputs and between these inputs and the final biomass were not considered. We partially excluded them by running a comparative MC analysis. Although Bojacá and Schrevels (2010) concluded that ignoring correlations may overestimate uncertainty in certain impact categories, our results did not show high uncertainty (Supplementary data H). Because inputs such as electricity, infrastructure and equipment were the same in all systems, potential correlation was ignored. The volume of water used was related to evaporation and seepage, the latter of which differed among ponds and had no relation to other inputs or the final biomass. Strong correlations occurred, however, between initial biomass and feed, and between these two and final biomass. These correlations were expected because feed was adjusted monthly according to the biomass.

3. Results

For all seven impact categories selected, the MA system had the highest impacts (Fig. 2, and Supplementary data D). For eutrophication and water dependence, MA impacts were more than 8 and 7 times as high as those of PF and MM, respectively. PH had the second highest impacts in all categories except for net primary production use, for which MM, PF and PH had similar impacts. Overall, PF and MM had the lowest impacts. Differences between these systems were found for cumulative energy demand and water dependence, for which MM and PF, respectively, had the lowest impact.

Contributions of the rearing systems' key elements (rearing, fish fry, prawn pl, feed, equipment, infrastructure and electricity) varied according to the impact category and to the system (Fig. 3 and Supplementary data D and E). For eutrophication, land occupation and water dependence, the rearing stage itself contributed the most (75%, 77% and 97%, respectively). The second largest contributor for eutrophication and land occupation was feed for MM, MA and PF, and (at 6%) prawn pl for PH.

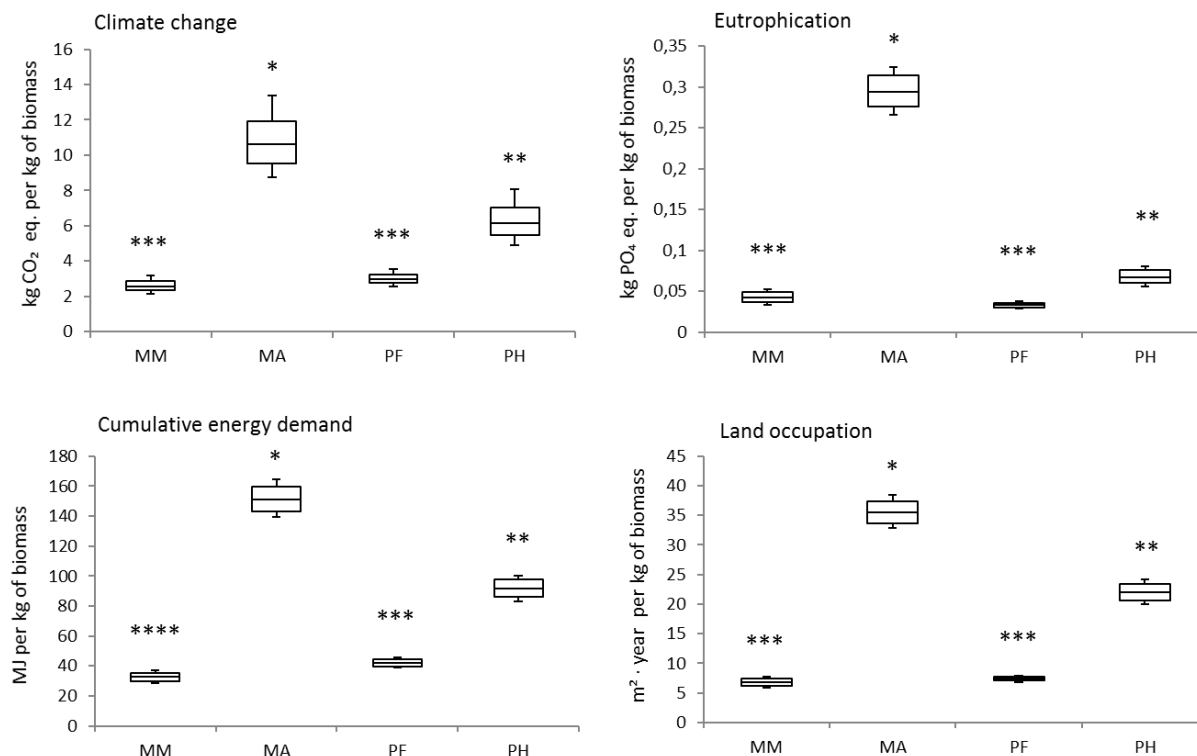


Figure 2. Climate change, eutrophication, cumulative energy demand and land occupation impacts of the production of 1 kg of biomass in aquaculture rearing systems. Whiskers represent one standard deviation. Groups of asterisks indicate systems with similar impacts. MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa cage and prawn were free in the pond; eq = equivalents.

For climate change, cumulative energy demand and acidification, the main contributors were feed, electricity, prawn pl, fish fry and rearing (the last only for climate change). For climate change, feed was largest contributor, followed by rearing, stocking animals and electricity for the MM, MA and PF systems. For PF, prawn pl and fish fry contributed 15% each. For PH, contributions were mainly rearing (27%), prawn pl (23%) and electricity (19%). For cumulative energy demand, feed contribution was followed by that of electricity for MM and PF; however, for MA and PH, prawn pl and electricity contributed the most.

Feed contributed 88-98% of net primary production use of systems, followed by stocking animals, prawn pl and fish fry. For acidification, feed was also the largest contributor for all systems (29-73%). It is important to highlight that prawn pl was the second highest contributor for MA and PH. For PF, prawn pl and fish fry had contributions of 12% each.

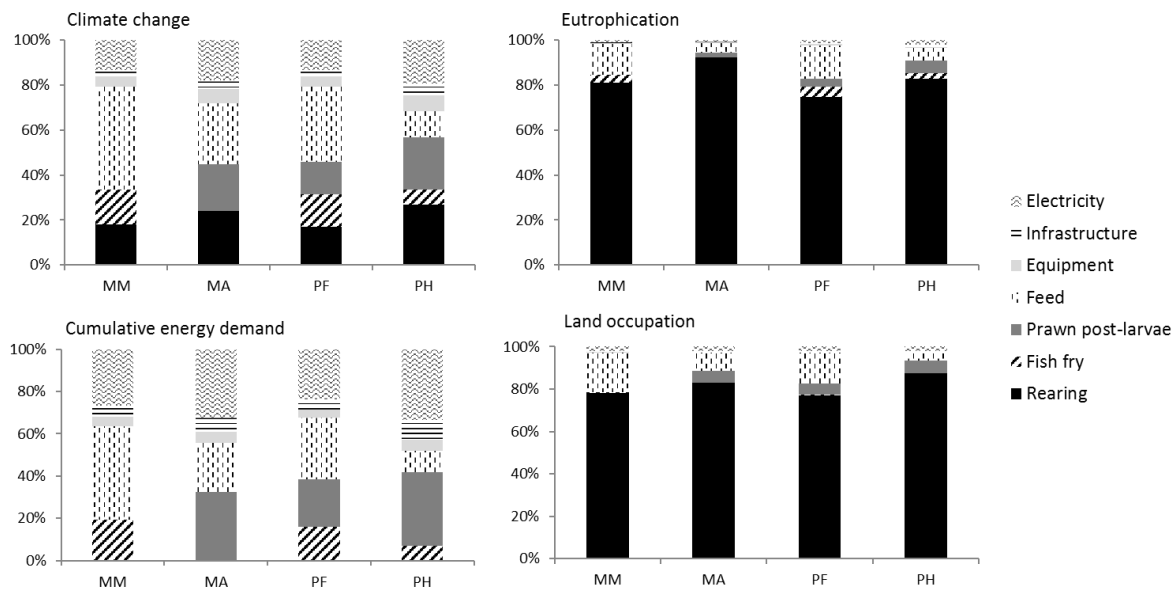


Figure 3. Contribution of key system elements in four aquaculture rearing systems for the production of 1 kg of biomass to climate change, eutrophication, cumulative energy demand and land occupation impacts. MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa cage and prawn were free in the pond.

The MM system had the highest ep-EROI (4.6%), followed by PF, PH and MA (3.6, 1.6% and 0.9%, respectively). For polyculture systems, the allocation approach (mass or economic) had little influence on ep-EROI (Supplementary data D).

3.1 Co-product handling approaches

Potential impacts estimated from applying system expansion and allocation approaches to polyculture co-products were divided by species to facilitate comparison to those of monoculture systems (Supplementary data I). Impacts of fish production differed for the two polyculture systems depending on the selected co-product handling approach. In general, impacts of fish from PF were lower or similar to those of MM (Table 2). Nevertheless, impacts of fish from PH were higher or similar to those of MM in most categories, except for eutrophication and net primary production use under system expansion, whose values were negative. For PH and PF, mass and energy allocation yielded similar impacts in all seven categories; however, both were higher than those using economic allocation.

For prawn, PF also had impacts lower than those of MA for all allocation approaches and system expansion (Table 2). For three categories (eutrophication, net primary production use and water dependence), impacts under system expansion were even negative; however, it is important to highlight its larger standard deviation. For PH, impacts of prawn were similar to or lower than those of MA when allocation was applied; relative impacts under system expansion varied from lower to higher according to the impact category (Supplementary data I). Both PF and PH impacts using economic allocation were higher than those using mass and energy allocation, the opposite of the results for fish.

Table 2. Comparison of impacts of producing 1 kg of fish *Colossoma macropomum* and 1 kg of prawn *Macrobrachium amazonicum* in polyculture systems (PF and PH) to those of their respective monoculture systems (MM and MA). The impacts of polyculture systems were obtained from system expansion and three allocation approaches (mass, energy and economic). Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

Co-product approach	<i>Colossoma macropomum</i>		<i>Macrobrachium amazonicum</i>	
	PF	PH	PF	PH
System expansion	Lower	Lower/Similar/Higher	Lower	Lower/Similar/Higher
Allocation	Similar/Lower	Higher/Similar *	Lower **	Higher/Similar *

* Exception: net primary production use impacts using mass and economic allocation were lower than those of fish monoculture.

** Exception: acidification impacts using economic allocation were similar to those of prawn monoculture (MA).

4. Discussion

4.1 Rearing systems

Results of environmental assessment (Figure 2) indicate the MA system had the highest impacts to produce 1 kg of biomass (considering prawn and fish together in the polyculture systems), followed by PH. The PF and MM systems had the lowest environmental impacts. These results were influenced mainly by the productivity (growth and survival rates), feed quantity and feed conversion ratio (FCR) in each system (Table 1). Productivity itself cannot be used as a parameter to define the most efficient system from an environmental viewpoint; otherwise intensive systems would always be more efficient and environmentally friendly. Studies have shown that intensive systems can have higher impacts per kg of aquatic product in

several categories despite having higher productivity (Ayer and Tyedmers, 2009; Cao et al., 2011; Dekamin et al., 2015; Samuel-Fitwi et al., 2013). It is important to highlight differences in rearing technologies and inputs of these production systems. For example, flow-through systems require more water and area than recirculating systems; however, their electricity consumption is much lower (Dekamin et al., 2015). In the present study, all systems used the same pond-rearing technology and had similar infrastructure and electricity use. Therefore, the impacts of these “fixed” inputs were diluted by the production level of each system, which made MA, which was the least productive, the least environmentally efficient.

In addition to productivity, feed use can explain the impacts. The importance of feed in pond aquaculture has been discussed and demonstrated (Bosma et al., 2011; Cao et al., 2011; Huysveld et al., 2013). Jerbi et al. (2012) found lower impacts from decreasing FCR. A lower FCR not only decreases the amount of feed delivered but also the nutrient losses released to the bottom and into the water. In non-fed aquaculture ponds, natural food is essential for reared animal nutrition (Spataru et al., 1983), while in fed ponds, it is a supplementary source of food, which reduces dependence on the feed and decreases the FCR. The importance of natural food is inversely proportional to system intensity; organisms in highly intensive systems rely only on feed as a nutrient source. According to stable isotope analysis, both species are able to rely on multiple sources of nutrients, such as formulated feed, plankton and, for prawn, also sediment and feces, (G. Costa, CAUNESP, pers. comm.). Therefore, the lower productivity and higher FCR of the MA system compared to the other systems explain its higher impacts.

The PH system, despite having the lowest FCR and quantity of feed delivered, did not have impacts similar to those of PF and MM, since its productivity was one-third as high as theirs. The only category for which PH had the lowest impact was net primary production use, because the small amount of feed and stocking fish fry compensated for low productivity. Differences between PF and MM lay in the amount of feed and FCR (both higher in MM) and stocking animals (higher in PF), since PF added the impacts of prawn pl to those of fish fry. Despite the differences, PF and MM had similar environmental impacts overall to produce 1 kg of biomass.

Fish was the key player in this experiment. Despite similar FCR for fish in PF, PH and MM (Table 1), the final biomass was much lower in PH. Similar fish production in PF and MM led to similar environmental impacts. Adding more hapas to PH to produce as much fish biomass as in PF and MM would probably reduce impacts of PH; however, this strategy should be tested to

assess system performance. MA had the highest productivity considering only prawn biomass; however, production of this species alone is not justified from an environmental viewpoint. *M. amazonicum* has great aquaculture potential (Moraes-Valenti and Valenti, 2010), and the present results encourage adding it as a secondary species in polyculture systems. Nevertheless, more studies are necessary to improve the results of *M. amazonicum* in captive-rearing conditions.

Differences in ep-EROI among systems also demonstrate the importance of fish in the system, mainly because fish have a higher percentage of edible meat than prawn (61% vs. 45%, respectively). The ep-EROI in this study (0.9-4.6%) were lower than those of other aquaculture fish, such as trout (9.1-14.1%) (Lasner et al., 2016) and salmon (7.8-17.8%) (Pelletier and Tyedmers, 2007), but they lay within the range (0.8-14.9%) of those of seafood caught with a variety of fishing techniques (Vázquez-Rowe et al., 2014). Comparisons should be made carefully, since energy inputs to systems vary among studies, as do energy concentrations of protein (e.g. 16.7 MJ kg⁻¹ (this study), 16.73 MJ kg⁻¹ (Vázquez-Rowe et al., 2014), 23.6 MJ kg⁻¹ (Lasner et al., 2016; Pelletier and Tyedmers, 2007)).

4.2 Specific characteristics of the experiment

The study was conducted at the Freshwater Prawn Sector of CAUNESP, dedicated to experiments of different stages of prawn production. Unlike a commercial farm, in which the infrastructure and equipment are installed to produce specific amounts of products, the experimental lab was built to study production at multiple scales. The main equipment in this study was anti-bird nets, a platform (to measure water parameters and deliver feed) and aerators. The first two are not commonly used on commercial fish farms, and the latter has the capacity to aerate a 500 m² pond (a small scale pond). The pond infrastructure (inlet channel, monk and outlet pipes) is designed to support a pond five times as large. Therefore, some impacts related to infrastructure may be higher than those of a commercial facility. Some LCA aquaculture studies exclude impacts related to infrastructure (Bosma et al., 2011; Dekamin et al., 2015; Huysveld et al., 2013). Doing so in this study would have changed the magnitudes of certain impacts because infrastructure and equipment together contribute 7-12% of climate change, 9-15% of cumulative energy demand and 7-18% of acidification. Scaling up the system would probably reduce certain impacts, as observed in the study of Gavankar et al. (2014); however, the advantages of scaling up depend on the type of industry (Canbäck et al., 2006). In aquaculture, especially in pond systems, scaling up to a 1 ha pond would probably decrease infrastructure and equipment

impacts, but may also decrease system efficiency. In larger ponds, it is more challenging to determine fish appetite and the amount of feed to deliver. Mistakes in feed management could decrease fish growth and overall system performance, since feed is a key contributor to several impact categories.

The impact of fish fry was probably higher than that on commercial *C. macropomum* farms, since delivery included air and road transport. Air transport was necessary because the hatchery (Presidente Figueiredo, Amazonas) lies more than 3,600 km by road from the experimental station (Jaboticabal, Sao Paulo). Farms are usually located near hatcheries to reduce the cost and stress of transport; consequently, shorter distances indicate lower environmental impacts. The air transport in this study contributed more than 85% of fish fry impacts for climate change, cumulative energy demand and acidification. In these impact categories, the contribution of fish fry to the total impact ranged from 7-16%, 7-19% and 8-12%, respectively (Figure 3). Impacts of fish fry production vary greatly in the literature. Jerbi et al. (2012) found large contributions from the hatchery (> 10% of the three impact categories), but impacts were lower in other studies (Aubin et al., 2015; Dekamin et al., 2015; Pelletier and Tyedmers, 2010). None of the studies considered air transport; therefore, the differences in impact are related to the differences in rearing technology of the species and choices in the life cycle inventory.

For prawn pl production, contribution to impacts for 1 kg of final product varied among systems: 15-23% of climate change, 23-35% of cumulative energy demand and 12-27% of acidification (Figure 3). These contributions were higher than those of marine shrimp hatcheries in monoculture (Cao et al., 2011) and polyculture rearing systems (Aubin et al., 2015), for which impacts were less than 5% and 8%, respectively, in all categories. Prawn pl production was highly influenced by the electricity consumed; its contribution was high to climate change (70%), cumulative energy demand (82%) and acidification (60%). The high electricity consumption can be explained by the system's efficiency; as previously mentioned, the facility was not specifically designed to perform this experiment.

4.3 Co-product handling approaches

Defining the most appropriate allocation approach for systems producing two or more co-products still generates discussion. Studies addressing the reasons to select a given allocation approach have already been published (Ayer et al., 2007; Pelletier and Tyedmers, 2011; van der Werf and Nguyen, 2015). The aim of this study was not to debate the best form of allocation, but

to discuss the results from the three co-product handling approaches proposed by the ISO (ISO, 2006b) standard.

Despite the ISO standard recommendation to consider system expansion first, it is not frequently used in seafood LCA. Most studies use allocation rules. In the present study, impacts of monoculture systems (MM and MA) were used to expand those of the polyculture systems. The results differed according to the allocation approach applied (considering fish and prawn as a single output). Producing 1 kg of fish in MM and 1 kg of biomass in PF (prior allocation) had similar impacts; however, 1 kg of fish in PF without the impact of prawn had, in general, lower impacts than that in MM. It is important to highlight that applying system expansion to polyculture systems remains questionable. Because LCA was created originally for industry, it does not consider potential synergies generated by interactions between species.

Impacts using mass and energy allocation were similar for all categories because the animals differed little in energy concentration (Table G.2 in Supplementary data). Some authors suggest that allocation based on energy content is the most appropriate for LCA (Ayer et al., 2007; Pelletier and Tyedmers, 2011), but when species have similar energy concentrations, simple mass allocation provides similar results. Economic allocation, despite being the last option in the standard, is the most frequently used for seafood production. This allocation is driven by the market price of each species. In the present study, prawn cost more than three times as much per kg as fish (Table G.2 in Supplementary data). Therefore, impacts of producing 1 kg of fish using economic allocation were lower than those using mass and energy allocation; the opposite was observed for 1 kg of prawn. A similar situation was described in the polyculture study of Aubin et al. (2015). Using economic allocation in the present study, PF had lower impacts than MM to produce 1 kg of fish.

In the present study, differences in impact among allocation approaches were clear. The lower impacts of PF than MM using economic allocation were not found when using mass and energy allocation (system expansion impacts were not considered). However, it is important to note that the price of a given species can differ by region, season and year, which can influence results. Studies using economic allocation should be compared with caution.

4.4 Uncertainty

The uncertainty in this study was in a range similar to that described by Dekamin et al. (2015) and lower than that found by Aubin et al. (2015). These differences can be explained by

homogeneity in rearing practices; Aubin et al. (2015) found that sources of uncertainty included differences between farm practices in the same system (size, productivity and species mix). Dekamin et al. (2015) analyzed production systems in which species and conditions in each system were relatively similar. In the present study, less uncertainty was found for the PF and MM systems.

Sources of uncertainty for all impact categories include variability among the three replicates of each system, the inherent variability already present in the ecoinvent database and the assumptions made for mass-balance modeling. For net primary production use and water dependence, uncertainty was related to the variability among replicates. Water dependence was directly influenced by water use, which is linked to the evaporation and seepage rates of each pond. One of the ponds in the MA and PH systems had higher seepage rates than average, which increased the uncertainty in water dependence but did not change the overall results.

Another system uncertainty relates to the model used. Digestibility determines the fate of nutrients and the amounts of nutrients in the water column (digestible wastes) and sediment (non-digestible wastes) (Guillaume et al., 1999). The lack of literature data on P digestibility for prawn species reduces the accuracy of estimates of the fate of P. However, the overall impacts of the system remain the same, since water and sediment were not reused as a nutrient source for other activities; both were considered waste in the system.

The parameters with higher uncertainties in the pedigree matrix were gaseous emissions to the atmosphere. The three processes considered were denitrification, ammonia volatilization and methane emissions, the first two of which directly influence eutrophication and the last of which influences climate change. Denitrification and ammonia volatilization rates were based on Gross et al. (2000), who measured a loss of 40% of N inputs through these processes. In the literature, variability in gaseous emissions from ponds is huge: Páez-Osuna et al. (1999) found them equal to 66% of total N inputs, while they were < 5% in other studies (Adhikari et al., 2014; Rahman et al., 2008). Jiménez-Montealegre et al. (2005) even closed the N cycle with no N emissions to the air.

Methane emissions had the highest uncertainty in the pedigree matrix due to their huge variability. In a review of rice fields in India, their methane emissions ranged from 5-1,650 kg·ha⁻¹ (Jain et al., 2004). High variability in methane emissions is also expected in aquaculture ponds. To our knowledge, no published studies exist about emissions in fed aquaculture ponds.

Due to this limitation, we used a value from a refuge fish pond in a rice-fish experiment (Datta et al., 2009) in which the pond was 1.75 m deep, no rice plants grew, and fish were fed (Supplementary data J). The uncertainty was determined by the variability in emissions from the integrated rice-fish system (Bhattacharyya et al., 2013; Datta et al., 2009; Frei and Becker, 2005; Frei et al., 2007). Differences in production system, species density, type of feed, and fish species might influence methane emissions. Despite differences between rice-fish fields and fish ponds, the characteristics required for methane production described by Jain et al. (2004), such as temperature, humidity and anaerobic soil conditions, are relatively similar in both systems. Aquatic environments such as lakes and mangroves are known as methane emission hotspots (Bastviken et al., 2004; Purvaja and Ramesh, 2000; Xing et al., 2005). The high probability that aquaculture ponds are a source of methane, in addition to methane's significant role in climate change (IPCC, 2014), led us to include its emission. In our study, methane emissions represent the total contribution of the rearing stage to climate change (17-27%). If we omit them, the main contributors to climate change become feed, electricity, fish fry and prawn pl. Although excluding methane emissions would decrease climate change impacts, MM and PF would remain the most efficient systems, while MA would remain the least efficient system. The overall conclusions of this study would not change if methane emissions were excluded; however, due to their importance to climate change, it is important to include them in calculations to stimulate consideration of them in future studies.

5. Conclusion

The LCA helped determine that the *C. macropomum* monoculture and the polyculture in which both *C. macropomum* and *M. amazonicum* were reared free in the pond are the systems with lower environmental impacts per kg of biomass produced. However, when the species were analyzed separately using economic allocation, the polyculture had lower impacts than the monoculture. The *M. amazonicum* monoculture had the highest impacts for all categories, which indicates there is room for improvement in the domestication of this species and in the rearing system. In addition, LCA enabled identifying the system elements that were the main contributors to impacts: feed and the rearing system. Impacts of these production systems can be significantly reduced if these elements are improved.

Small-scale experiments do not always represent the reality of a commercial farm; therefore, application of LCA at a commercial scale would tend to decrease overestimates of infrastructure, equipment and stocking animals. Moreover, additional measurements of gaseous emissions from aquaculture ponds would improve estimates of emission rates and reduce the uncertainty in them.

LCA offers a wide range of options and decisions to its practitioners regarding the scope, inventory data, impact categories and allocation approach. This freedom of choice has a huge impact on the final results, rendering comparison of different studies difficult. The scientific community should reach a consensus to strengthen LCA studies and increase the acceptance of LCA.

Acknowledgments

The authors thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Project: 10/51271-6) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support. We also would like to thank Prof. Dr. Wagner Cotroni Valenti, head of the Freshwater Prawn Sector, Prof. Dr. Sergio Ricardo Batlouni, coordinator of the FAPESP project and all the students who contributed to the experiment. The authors thank Michelle and Michael Corson for proofreading the manuscript's English.

References

- Adhikari, S., Sahu, B.C., Mahapatra, A.S., Dey, L., 2014. Nutrient budgets and effluent characteristics in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) culture ponds. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 92, 509–513. doi:10.1007/s00128-014-1227-4
- Aubin, J., 2013. Life Cycle Assessment as applied to environmental choices regarding farmed or wild-caught fish. CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour. 8. doi:10.1079/PAVSNNR20138011
- Aubin, J., Baruthio, A., Mungkung, R., Lazard, J., 2015. Environmental performance of brackish water polyculture system from a life cycle perspective: A Filipino case study. Aquaculture 435, 217–227. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.09.019
- Aubin, J., Papatryphon, E., van der Werf, H.M.G., Chatzifotis, S., 2009. Assessment of the environmental impact of carnivorous finfish production systems using life cycle assessment. J. Clean. Prod. 17, 354–361. doi:10.1016/j.jclepro.2008.08.008
- Ayer, N.W., Tyedmers, P.H., 2009. Assessing alternative aquaculture technologies: life cycle assessment of salmonid culture systems in Canada. J. Clean. Prod. 17, 362–373. doi:10.1016/j.jclepro.2008.08.002
- Ayer, N.W., Tyedmers, P.H., Pelletier, N.L., Sonesson, U., Scholz, A., 2007. Co-product allocation in life cycle assessments of seafood production systems: Review of problems and strategies. Int. J. Life Cycle Assess. 12, 480–487. doi:10.1007/s11367-006-0284-2

- Bastviken, D., Cole, J., Pace, M., Tranvik, L., 2004. Methane emissions from lakes: Dependence of lake characteristics, two regional assessments, and a global estimate. *Global Biogeochem. Cycles* 18, 1–12. doi:10.1029/2004GB002238
- Bhattacharyya, P., Sinhababu, D.P., Roy, K.S., Dash, P.K., Sahu, P.K., Dandapat, R., Neogi, S., Mohanty, S., 2013. Effect of fish species on methane and nitrous oxide emission in relation to soil C, N pools and enzymatic activities in rainfed shallow lowland rice-fish farming system. *Agric. Ecosyst. Environ.* 176, 53–62. doi:10.1016/j.agee.2013.05.015
- Boaventura, R., Pedro, A., Coimbra, J., Lencastre, E., 1997. Trout farm effluents: characterization and impact on the receiving streams. *Environ. Pollut.* 95, 379–387.
- Boissy, J., Aubin, J., Drissi, A., van der Werf, H.M.G., Bell, G.J., Kaushik, S.J., 2011. Environmental impacts of plant-based salmonid diets at feed and farm scales. *Aquaculture* 321, 61–70. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.033
- Bojacá, C.R., Schrevels, E., 2010. Parameter uncertainty in LCA: Stochastic sampling under correlation. *Int. J. Life Cycle Assess.* 15, 238–246. doi:10.1007/s11367-010-0150-0
- Bosma, R., Anh, P.T., Potting, J., 2011. Life cycle assessment of intensive striped catfish farming in the Mekong Delta for screening hotspots as input to environmental policy and research agenda. *Int. J. Life Cycle Assess.* 16, 903–915. doi:10.1007/s11367-011-0324-4
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Canbäck, S., Samouel, P., Price, D., 2006. Do diseconomies of scale impact firm size and performance? A theoretical and empirical overview. *J. Manag. Econ.* 4, 27–70.
- Cao, L., Diana, J.S., Keoleian, G.A., Lai, Q., 2011. Life cycle assessment of Chinese shrimp farming systems targeted for export and domestic sales. *Environ. Sci. Technol.* 45, 6531–6538. doi:10.1021/es104058z
- Cashion, T., Hornborg, S., Ziegler, F., Hognes, E.S., Tyedmers, P., 2016. Review and advancement of the marine biotic resource use metric in seafood LCAs: a case study of Norwegian salmon feed. *Int. J. Life Cycle Assess.* 21, 1106–1120. doi:10.1007/s11367-016-1092-y
- Ciroth, A., Muller, S., Weidema, B., Lesage, P., 2013. Empirically based uncertainty factors for the pedigree matrix in ecoinvent. *Int. J. Life Cycle Assess.* 1–11. doi:10.1007/s11367-013-0670-5
- Costa, G., 2013. Rastreabilidade de camarão amazônico proveniente de cultivo e ambiente natural utilizando a técnica de isótopos estáveis. UNESP.
- Datta, A., Nayak, D.R., Sinhababu, D.P., Adhya, T.K., 2009. Methane and nitrous oxide emissions from an integrated rainfed rice-fish farming system of Eastern India. *Agric. Ecosyst. Environ.* 129, 228–237. doi:10.1016/j.agee.2008.09.003
- de Araujo, M.C., Valenti, W.C., 2007. Feeding habit of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* larvae. *Aquaculture* 265, 187–193. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.01.016
- Dekamin, M., Veisi, H., Safari, E., Liaghati, H., Khoshbakht, K., Dekamin, M.G., 2015. Life cycle assessment for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production systems: A case study for Iran. *J. Clean. Prod.* 91, 43–55. doi:10.1016/j.jclepro.2014.12.006
- Diana, J.S., 2009. *Aquaculture Production and Biodiversity Conservation*. Bioscience 59, 27–38. doi:10.1525/bio.2009.59.1.7
- Efole Ewoukem, T., Aubin, J., Mikolasek, O., Corson, M.S., Tomedi Eyango, M., Tchoumboue, J., Van Der Werf, H.M.G., Ombredane, D., 2012. Environmental impacts of farms integrating aquaculture and agriculture in Cameroon. *J. Clean. Prod.* 28, 208–214.

- doi:10.1016/j.jclepro.2011.11.039
- El-Haroun, E.R., Goda, A.M.A.S., Kabir Chowdhury, M.A., 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquac. Res.* 37, 1473–1480. doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01584.x
- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome.
- FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. doi:92-5-105177-1
- FAO, 2001. Human energy requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Rome.
- Fernandes, T., Doria, C., Menezes, J., 2010. Characteristics of carcass and performance of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Curvier, 1818) in different times of cultivation and fed with commercial diets. *Bol. do Inst. Pesca* 36, 45–52.
- Frei, M., Becker, K., 2005. Integrated rice-fish production and methane emission under greenhouse conditions. *Agric. Ecosyst. Environ.* 107, 51–56. doi:10.1016/j.agee.2004.10.026
- Frei, M., Razzak, M.A., Hossain, M.M., Oehme, M., Dewan, S., Becker, K., 2007. Methane emissions and related physicochemical soil and water parameters in rice-fish systems in Bangladesh. *Agric. Ecosyst. Environ.* 120, 391–398. doi:10.1016/j.agee.2006.10.013
- Frischknecht, R., Jungbluth, N., Althaus, H.J., Doka, G., Dones, R., Hirschier, R., Hellweg, S., Humbert, S., Margni, M., Nemecek, T., Speilmann, M., 2004. Implementation of Life Cycle Impact Assessment Methods, Ecoinvent report. Dübendorf.
- Gavankar, S., Suh, S., Keller, A.A., 2014. The role of scale and technology maturity in life cycle assessment of emerging technologies: A case study on carbon nanotubes. *J. Ind. Ecol.* 19, 51–60. doi:10.1111/jiec.12175
- Goda, A.M.A.S., 2008. Effect of dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth indices, feed utilization and body composition of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae. *Aquac. Res.* 39, 891–901. doi:10.1111/j.1365-2109.2008.01947.x
- Gross, a, Boyd, C.E., Wood, C.W., 2000. Nitrogen transformations and balance in channel catfish ponds. *Aquac. Eng.* 24, 1–14. doi:10.1016/S0144-8609(00)00062-5
- Guerreiro, L.R., 2012. Custos de produção, análise econômica e gerencial em unidade de produção de alevinos de peixes reofílicos: estudo de caso em Rondônia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Métailler, R., 1999. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. INRA, Paris.
- Guinée, J.B., Gorée, M., Heijungs, R., Huppes, G., Kleijn, R., de Koning, A., van Oers, L., Wegener Sleeswijk, A., Suh, S., Udo de Haes, H.A., de Bruijn, H., van Duin, R., Huijbregts, M.A.J., 2002. Handbook on Life Cycle Assessment: Operational guide to ISO standards. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Henriksson, P.J.G., Guinée, J.B., Heijungs, R., De Koning, A., Green, D.M., 2014. A protocol for horizontal averaging of unit process data - Including estimates for uncertainty. *Int. J. Life Cycle Assess.* 19, 429–436. doi:10.1007/s11367-013-0647-4
- Henriksson, P.J.G., Guinée, J.B., Kleijn, R., De Snoo, G.R., 2012. Life cycle assessment of aquaculture systems - A review of methodologies. *Int. J. Life Cycle Assess.* 17, 304–313.

- doi:10.1007/s11367-011-0369-4
- Hua, K., Bureau, D.P., 2010. Quantification of differences in digestibility of phosphorus among cyprinids, cichlids, and salmonids through a mathematical modelling approach. *Aquaculture* 308, 152–158. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.07.040
- Huysveld, S., Schaubroeck, T., De Meester, S., Sorgeloos, P., Van Langenhove, H., Van Linden, V., Dewulf, J., 2013. Resource use analysis of *Pangasius* aquaculture in the Mekong Delta in Vietnam using Exergetic Life Cycle Assessment. *J. Clean. Prod.* 51, 225–233. doi:10.1016/j.jclepro.2013.01.024
- IBGE, 2014. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro.
- IPCC, 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva, Switzerland.
- ISO, 2006a. ISO 14040: Environmental Management - Life Cycle Assessment - Principles and Framework. Geneva.
- ISO, 2006b. ISO 14044: Environmental Management - Life Cycle Assessment - Requirements and Guidelines. Geneva.
- Jain, N., Pathak, H., Mitra, S., Bhatia, A., 2004. Emission of methane from rice fields - A review. *J. Sci. Ind. Res. (India)*. 63, 101–115.
- Jegatheesan, V., Shu, L., Visvanathan, C., 2011. Aquaculture effluent: Impacts and remedies for protecting the environment and human health. *Encycl. Environ. Heal.* 123–135.
- Jerbi, M.A., Aubin, J., Garnaoui, K., Achour, L., Kacem, A., 2012. Life cycle assessment (LCA) of two rearing techniques of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Eng.* 46, 1–9. doi:10.1016/j.aquaeng.2011.10.001
- Jiménez-Montealegre, R., Avnimelech, Y., Verreth, J.A.J., Verdegem, M.C.J., 2005. Nitrogen budget and fluxes in *Colossoma macropomum* ponds. *Aquac. Res.* 36, 8–15. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01174.x
- Joyini, M.J., Kurup, B.M., Avnimelech, Y., 2011. Bioturbation as a possible means for increasing production and improving pond soil characteristics in shrimp-fish brackish water ponds. *Aquaculture* 318, 464–470. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.05.019
- Kadir, A., Wahab, M.A., Milstein, A., Hossain, M.A., Seraji, M.T.I., 2007. Effects of silver carp and the small indigenous fish mola *Amblypharyngodon mola* and punti *Puntius sophore* on fish polyculture production. *Aquaculture* 273, 520–531. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.07.012
- Lasner, T., Brinker, A., Nielsen, R., Rad, F., 2016. Establishing a benchmarking for fish farming – Profitability, productivity and energy efficiency of German, Danish and Turkish rainbow trout grow-out systems. *Aquac. Res.* 1–15. doi:10.1111/are.13144
- Lorenzen, K., Struve, J., Cowan, V.J., 1997. Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. *Aquac. Res.* 28, 493–507. doi:10.1111/j.1365-2109.1997.tb01068.x
- Luong, A.D., Schaubroeck, T., Dewulf, J., De Laender, F., 2015. Re-evaluating Primary Biotic Resource Use for Marine Biomass Production: A New Calculation Framework. *Environ. Sci. Technol.* 49, 11586–11593. doi:10.1021/acs.est.5b02515
- Maciel, C.R., Valenti, W.C., 2009. Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. *Nauplius* 17, 61–79.
- Meer, M.B. Van Der, Machiels, M., Verdegem, M., 1995. The effect of dietary protein level on

- growth , protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). Aquaculture 26, 901–909. doi:10.1111/j.1365-2109.1995.tb00885.x
- Moraes-Valenti, P.M., Valenti, W.C., 2010. Culture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*, in: New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., Kutty, M.N. (Eds.), Freshwater Prawns — Biology and Farming. Blackwell Publishing Ltd, pp. 485–501.
- Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405, 1017–1024. doi:10.1038/35016500
- New, M.B., 2005. Freshwater prawn farming: Global status, recent research and a glance at the future. Aquac. Res. 36, 210–230. doi:10.1111/j.1365-2109.2005.01237.x
- Páez-Osuna, F., Guerrero-Galván, S., Ruiz-Fernández, A., 1999. Discharge of Nutrients from Shrimp Farming to Coastal Waters of the Gulf of California. Mar. Pollut. Bull. 38, 585–592.
- Papatryphon, E., Petit, J., Kaushik, S.J., van der Werf, H., 2004. Environmental impact assessment of salmonid feeds using life cycle assessment (LCA). AMBIO A J. Hum. Environ. 33, 316–323.
- Pauly, D., Christensen, V., 1995. Primary production required to sustain global fisheries. Nature 374, 255–257.
- Pelletier, N., Tyedmers, P., 2011. An ecological economic critique of the use of market information in life cycle assessment research. J. Ind. Ecol. 15, 342–354. doi:10.1111/j.1530-9290.2011.00337.x
- Pelletier, N., Tyedmers, P., 2010. Life cycle assessment of frozen tilapia fillets from indonesian lake-based and pond-based intensive aquaculture systems. J. Ind. Ecol. 14, 467–481. doi:10.1111/j.1530-9290.2010.00244.x
- Pelletier, N., Tyedmers, P., 2007. Feeding farmed salmon: Is organic better? Aquaculture 272, 399–416. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.06.024
- Phong, L.T., de Boer, I.J.M., Udo, H.M.J., 2011. Life cycle assessment of food production in integrated agriculture-aquaculture systems of the Mekong Delta. Livest. Sci. 139, 80–90. doi:10.1016/j.livsci.2011.03.015
- Purvaja, R., Ramesh, R., 2000. Human impacts on methane emission from mangrove ecosystems in India. Reg. Environ. Chang. 1, 86–97. doi:10.1007/PL00011537
- Rahman, M.M., Jo, Q., Gong, Y.G., Miller, S.A., Hossain, M.Y., 2008. A comparative study of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and calbasu (*Labeo calbasu* Hamilton) on bottom soil resuspension, water quality, nutrient accumulations, food intake and growth of fish in simulated rohu (*Labeo rohita* Hamilton) ponds. Aquaculture 285, 78–83. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.08.002
- Sahu, B.C., Adhikari, S., Mahapatra, A.S., Dey, L., 2013. Carbon, nitrogen, and phosphorus budget in scampi (*Macrobrachium rosenbergii*) culture ponds. Environ. Monit. Assess. 185, 10157–10166. doi:10.1007/s10661-013-3320-2
- Samuel-Fitwi, B., Nagel, F., Meyer, S., Schroeder, J.P., Schulz, C., 2013. Comparative life cycle assessment (LCA) of raising rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in different production systems. Aquac. Eng. 54, 85–92. doi:10.1016/j.aquaeng.2012.12.002
- Santos, A.A.O., Aubin, J., Corson, M.S., Valenti, W.C., Camargo, A.F.M., 2015. Comparing environmental impacts of native and introduced freshwater prawn farming in Brazil and the influence of better effluent management using LCA. Aquaculture 444, 151–159.

- doi:10.1016/j.aquaculture.2015.03.006
- Schneider, O., Amirkolaie, A.K., Vera-Cartas, J., Eding, E.H., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2004. Digestibility, faeces recovery, and related carbon, nitrogen and phosphorus balances of five feed ingredients evaluated as fishmeal alternatives in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquac. Res. 35, 1370–1379. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01179.x
- Spataru, P., Wohlfarth, G.W., Hulata, G., 1983. Studies on the natural food of different species in intensively manured polyculture ponds. Aquaculture 35, 283–298. doi:10.1016/0044-8486(83)90101-1
- Teshima, S.I., Koshio, S., Ishikawa, M., Alam, M., Hernandez, L., 2006. Protein requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* evaluated by the factorial method. J. world Aquac. Soc. 37, 145–153.
- van der Werf, H.M.G., Nguyen, T.T.H., 2015. Construction cost of plant compounds provides a physical relationship for co-product allocation in life cycle assessment. Int. J. Life Cycle Assess. 20, 777–784. doi:10.1007/s11367-015-0872-0
- Vázquez-Rowe, I., Villanueva-Rey, P., Moreira, M.T., Feijoo, G., 2014. Edible protein energy return on investment ratio (ep-EROI) for Spanish seafood products. Ambio 43, 381–394. doi:10.1007/s13280-013-0426-2
- Wahab, M.A., Kadir, A., Milstein, A., Kunda, M., 2011. Manipulation of species combination for enhancing fish production in polyculture systems involving major carps and small indigenous fish species. Aquaculture 321, 289–297. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.09.020
- Whitmarsh, D.J., Cook, E.J., Black, K.D., 2006. Searching for sustainability in aquaculture: An investigation into the economic prospects for an integrated salmon-mussel production system. Mar. Policy 30, 293–298. doi:10.1016/j.marpol.2005.01.004
- Xing, Y., Xie, P., Yang, H., Ni, L., Wang, Y., Rong, K., 2005. Methane and carbon dioxide fluxes from a shallow hypereutrophic subtropical Lake in China. Atmos. Environ. 39, 5532–5540. doi:10.1016/j.atmosenv.2005.06.010

Supplementary data A

Table A.1 Feed used in the experiment at the initial stage of MM, PF and PH systems. Ingredient and composition values were based on the feed label. The relative quantity of each ingredient was adapted from Guillaume et al. (1999) to achieve the label composition. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

Fish feed 1				
Ingredients	Quantity (%)	Composition (%)	Min.	Max.
Soybean meal	28	Moisture	-	9
Viscera meal	23	Crude protein	45	-
Fish meal	16	Lipids	7	-
Sunflower meal	13	Ash	-	10
Maize starch	11	Fiber	-	4
Wheat bran	5	Phosphorus	1	-
Fish oil	3			
Premix (vitamins and minerals)	1			

Table A.2 Feed used in the experiment in the second stage of MM, PF and PH systems. Ingredient and composition values were based on the feed label. The relative quantity of each ingredient was adapted from Guillaume et al. (1999) to achieve the label composition. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

Fish feed 2				
Ingredients	Quantity (%)	Composition (%)	Min.	Max.
Sorghum meal	20	Moisture	-	12
Soybean meal	19.5	Crude protein	35	-
Wheat bran	16	Lipids	7	-
Rice bran	9	Ash	-	12
Bone meal	9	Fiber	-	6
Viscera meal	9	Phosphorus	0.6	-
Fish meal	7			
Sunflower meal	3			
Maize starch	3			
Soybean oil	1.5			
Fish oil	1			
Soybean protein concentrate	1			
Premix (vitamins and minerals)	1			

Table A.3 Feed used in the experiment in the final stage of MM, PF and PH systems. Ingredient and composition values were based on the feed label. The relative quantity of each ingredient was adapted from Guillaume et al. (1999) to achieve the label composition. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

Fish feed 3				
Ingredients	Quantity (%)	Composition (%)	Min.	Max.
Sorghum meal	23	Moisture	-	12
Soybean meal	23	Crude protein	32	-
Wheat bran	21	Lipids	4.5	-
Viscera meal	12	Ash	-	12
Rice bran	8	Fiber	-	9
Soybean protein concentrate	5	Phosphorus	0.6	-
Maize starch	4			
Sunflower meal	3			
Premix (vitamins and minerals)	1			

Table A.4 Feed used in the experiment in the initial stage of MA system. Ingredient and composition values were based on the feed label. The relative quantity of each ingredient was adapted from Guillaume et al. (1999) to achieve the label composition. Note: MA = monoculture of *M. amazonicum*.

Shrimp feed 1				
Ingredients	Quantity (%)	Composition (%)	Min.	Max.
Soybean meal	39	Moisture	-	10
Wheat bran	19	Crude protein	40	-
Maize starch	18	Lipids	7.5	-
Fish meal	11	Ash	-	13
Calcium carbonate	5	Fiber	-	5
Soy lecithin	3	Phosphorus	1.45	-
Rice bran	3			
Fish oil	1			
Premix (vitamins and minerals)	1			

Table A.5 Feed used in the experiment in the final stage of MA system. Ingredient and composition values were based on the feed label. The relative quantity of each ingredient was adapted from Guillaume et al. (1999) to achieve the label composition. Note: MA = monoculture of *M. amazonicum*.

Shrimp feed 2				
Ingredients	Quantity (%)	Composition (%)	Min.	Max.
Soybean meal	33	Moisture	-	10
Wheat bran	18	Crude protein	38	-
Maize starch	15	Lipid	7.5	-
Fish meal	9	Ash	-	13
Rice bran	8	Fiber	-	5
Calcium carbonate	5	Phosphorus	1.45	-
Soybean lecithin	4			
Meat meal	3			
Viscera meal	3			
Fish oil	1			
Premix (vitamins and minerals)	1			

Table A.6. Percentage of each feed delivered in each system and the total amount delivered (mean $\pm$ SD). Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

System	Fish feed 1 (%)	Fish feed 2 (%)	Fish feed 3 (%)	Shrimp feed 1 (%)	Shrimp feed 2 (%)	Total feed (kg)
MM	19.54 $\pm$ 0.43	31.76 $\pm$ 0.46	48.7 $\pm$ 0.7	-	-	82.7 $\pm$ 14.7
PF	20.31 $\pm$ 1.77	30.13 $\pm$ 1.05	49.56 $\pm$ 2.21	-	-	60.7 $\pm$ 5.0
PH	26.11 $\pm$ 2.08	28.68 $\pm$ 2.38	45.21 $\pm$ 0.4	-	-	14.4 $\pm$ 3.3
MA	-	-	-	6.97 $\pm$ 0.96	93.03 $\pm$ 0.96	35.4 $\pm$ 5.2

Supplementary data B

The following assumptions were used to determine the fate of nutrients in the systems:

- (a) N concentration in protein = 0.16.
- (b) *C. macropomum*: P = 0.7% and crude protein = 15% (Meer et al., 1995).
- (c) *M. amazonicum*: P = 0.226% and crude protein = 18.1% (obtained by Sahu et al. (2013) for *M. rosenbergii*).
- (d) Methane emissions of 2.47 mg m⁻² h⁻¹ (Datta et al., 2009).
- (e) Ammonia volatilization = 12.5% and denitrification = 17.4% of total N inputs (Gross et al., 2000).
- (f) 5% of the feed was not consumed and sank in the MM, PF and PH systems.
- (g) Feed consumption ratio (FCR) of *M. rosenbergii* is 2.0-3.0 (New, 2005); thus, 2.0 was considered the ideal FCR. The difference between the experimental and ideal FCR was 0.8, which represents 28% of the total feed delivered. This value was considered to be the percentage of feed uneaten in MA.
- (h) Digestibility of protein and P for *C. macropomum* was 90.3% and 63.8%, respectively (obtained by Schneider et al. (2004) for *Oreochromis niloticus*). These values were used for the MM, PF and PH systems.
- (i) Digestibility of protein for *M. amazonicum* was 90.3% (obtained by Teshima et al. (2006) for *M. rosenbergii*). No values were found for digestibility of P in freshwater prawn or marine shrimp. In a review of digestibility of P for tilapia and carp species, values varied from 15-80% (Hua and Bureau, 2010). Most of the P delivered to a prawn culture end up in the sediment (Sahu et al., 2013). Therefore, we selected a value of 40% for digestibility of P for the MA system.

Equation inputs:

Eq. (B.1) N inlet water = Volume of inlet water × N concentration in water

Eq. (B.2) N feed = Amount feed × Crude protein % in feed × N concentration in protein

Eq. (B.3) N stocking animals = Initial biomass × Crude protein % in carcass × N concentration in protein

Eq. (B.4) N inputs = N inlet water + N feed + N stocking animals

Eq. (B.5) P inlet water = Volume of inlet water × P concentration in water

Eq. (B.6) P feed = Amount of feed × P % in feed

Eq. (B.7) P stocking animals = Initial biomass × P % in carcass

Eq. (B.8) P inputs = P inlet water + P feed + P stocking animals

Equation outputs:

Eq. (B.9) N biomass = Final biomass × Crude protein % in carcass × N concentration in protein

Eq. (B.10) N volatilization = N inputs × % ammonia volatilization

Eq. (B.11) N denitrification = N inputs × % denitrification

$$\text{Eq. (B.12) } N_{\text{air}} = N_{\text{volatilization}} + N_{\text{denitrification}}$$

$$\text{Eq. (B.13) } N_{\text{uneaten}} = N_{\text{feed}} \times \% \text{ uneaten feed}$$

$$\text{Eq. (B.14) } N_{\text{feces}} = (N_{\text{feed}} - N_{\text{uneaten}}) \times (100\% - \text{Digestibility of protein})$$

$$\text{Eq. (B.15) } N_{\text{sediment}} = N_{\text{uneaten}} + N_{\text{feces}}$$

$$\text{Eq. (B.16) } N_{\text{water}} = ((N_{\text{feed}} - N_{\text{uneaten}}) \times \text{Digestibility of protein}) - (N_{\text{biomass}} - N_{\text{stocking animals}}) + N_{\text{inlet water}}$$

$$\text{Eq. (B.17) } N_{\text{outlet water}} = N_{\text{water}} - N_{\text{air}}$$

$$\text{Eq. (B.18) } N_{\text{output}} = N_{\text{biomass}} + N_{\text{outlet water}} + N_{\text{sediment}} + N_{\text{air}}$$

$$\text{Eq. (B.19) } P_{\text{biomass}} = \text{Final biomass} \times P \% \text{ in carcass}$$

$$\text{Eq. (B.20) } P_{\text{uneaten}} = P_{\text{feed}} \times \% \text{ uneaten feed}$$

$$\text{Eq. (B.21) } P_{\text{feces}} = (P_{\text{feed}} - P_{\text{uneaten}}) \times (100\% - \text{Digestibility of P})$$

$$\text{Eq. (B.22) } P_{\text{sediment}} = P_{\text{uneaten}} + P_{\text{feces}}$$

$$\text{Eq. (B.23) } P_{\text{water}} = ((P_{\text{feed}} - P_{\text{uneaten}}) \times \text{Digestibility of P}) - (P_{\text{biomass}} - P_{\text{stocking animals}}) + P_{\text{inlet water}}$$

$$\text{Eq. (B.24) } P_{\text{output}} = P_{\text{biomass}} + P_{\text{water}} + P_{\text{sediment}}$$

Note: N = nitrogen; P = phosphorus; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond.

Supplementary data C

Table C.1 Main inputs and outputs used to build the experiment LCA inventory. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond.

<i>Inputs</i>	System			
	MM	MA	PF	PH
Feed (kg) ^a	82.7	35.4	60.1	14.4
Nitrogen (kg)	4.69	2.16	3.42	0.84
Phosphorus (kg)	0.58	0.51	0.17	0.11
Fish fry (kg) ^b	0.73	0	0.68	0.21
Nitrogen (kg)	0.018	0	0.016	0.005
Phosphorus (kg)	0.005	0	0.005	0.001
Prawn post-larvae (kg) ^c	0	0.153	0.144	0.16
Nitrogen (kg)	0	0.0044	0.0042	0.0046
Phosphorus (kg)	0	0.0003	0.0003	0.0004
Water (m ³) ^d	1,367.6	1,703.1	917.3	1,383.7
Nitrogen (kg)	0.54	0.68	0.37	0.57
Phosphorus (kg)	0.25	0.32	0.17	0.26
Electricity (kWh) ^e	99.8	99.8	99.8	99.8
Infrastructure	See Table C.4			
Equipment	See Table C.4			
<i>Outputs</i>				
Fish biomass (kg)	73.3	0	54.6	12.9
Prawn biomass (kg)	0	12.8	8.4	7.8
Emissions to water				
Nitrogen (kg)	1.26	0.74	0.63	0.34
Phosphorus (kg)	0.10	0.44	0.03	0.22
Emissions to soil				
Nitrogen (kg)	0.67	0.88	0.49	0.12
Phosphorus (kg)	0.23	0.37	0.17	0.04
Emissions to air				
Nitrogen (kg)	1.57	0.85	1.14	0.43
Methane (kg)	1.39	1.37	1.28	1.43

^a The types and percentages of feed used in each system are shown in Supplementary data A.

^b For more information on impacts related to fish fry, see Table C.2.

^c For more information on impacts related to prawn post-larvae, see Table C.3.

^d Inlet water volume, excluding water from rain. During the experiment, 747 mm of rain fell.

^e Electricity required by aerators during the experiment.

Table C.2 Main inputs and outputs used to determine impacts of fish fry.

Fish fry production			
Inputs		Outputs	
Feed (kg) ^a	22,683	Fish fry (kg)	10323
Nitrogen (kg)	1,397.9	Emissions to water	
Phosphorus (kg)	136.1	Nitrogen (kg)	676.09
Broodstock (kg)	4128	Phosphorus (kg)	10.32
Water (m ³) ^b	188,106	Emissions to soil	
Electricity (kWh) ^c	2,574	Nitrogen (kg)	198.71
Infrastructure	Broodstock and fry ponds, hatchery and packing buildings	Phosphorus (kg)	325.05
Equipment	Plastic tanks, air blower, harvest net and plastic buckets	Emissions to air	
		Nitrogen (kg)	275.5
Transport ^d	Air and road transport	Methane (kg)	155.08

^a Two types of fish feed used: fish feed 1 and fish feed 3 (50% of each). More information on feed is found in Supplementary data A, Table A.1 and A.3.

^b Water requirements for the fish hatchery, broodstock and fish fry ponds

^c Electricity for light and the air blower. Energy in generator fuel was converted to kWh.

^d Two types of transport were considered: air transport from Manaus to São Paulo (2,600 km) and road transport from Presidente Figueiredo to Manaus and São Paulo to Jaboticabal (475 km).

Table C.3 Main inputs and outputs used to determine impacts of prawn post-larvae.

Prawn post-larvae production			
Inputs		Outputs	
Feed (kg) ^a	150.9	Prawn post-larvae (kg)	22.15
Nitrogen (kg)	9.37	Emissions to water	
Phosphorus (kg)	1.68	Nitrogen (kg)	2.72
Broodstock (kg)	11.76	Phosphorus (kg)	0.82
Water (m ³) ^b	6,098	Emissions to soil	
Electricity (kWh) ^c	12,348	Nitrogen (kg)	2.34
Infrastructure	Broodstock ponds, larviculture and nursery buildings	Phosphorus (kg)	0.80
Equipment	Tanks, water heaters, air blower, plastic buckets and harvest net	Emissions to air	
		Nitrogen (kg)	2.18
Transport ^d	No transport required	Methane (kg)	9.09

^a Two types of shrimp feed used: shrimp feed 1 and shrimp feed 2 (43% and 57%, respectively). More information on feed is in Supplementary data A, Table A.4 and A.5.

^b Water requirements for broodstock ponds, larviculture and nursery tanks.

^c Electricity for light, the air blower and the water heater. Energy in generator fuel was converted to kWh.

^d No transport was needed since post-larvae were produced at the experiment site.

Table C.4 List of the main infrastructure and equipment. Note: PVC = polyvinyl chloride; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond.

Infrastructure	Equipment
Pond	Aerator
Monk (concrete)	Nylon anti-bird net
Inlet channel (concrete)	Nylon rope
Outlet PVC pipes	Wooden sticks
Building (feed storage)	Hapa ^a
	Nylon harvest net ^b
	Plastic buckets ^b

^a Hapa were used only in the PH system, one hapa per pond

^b Shared by all the ponds

Supplementary data D

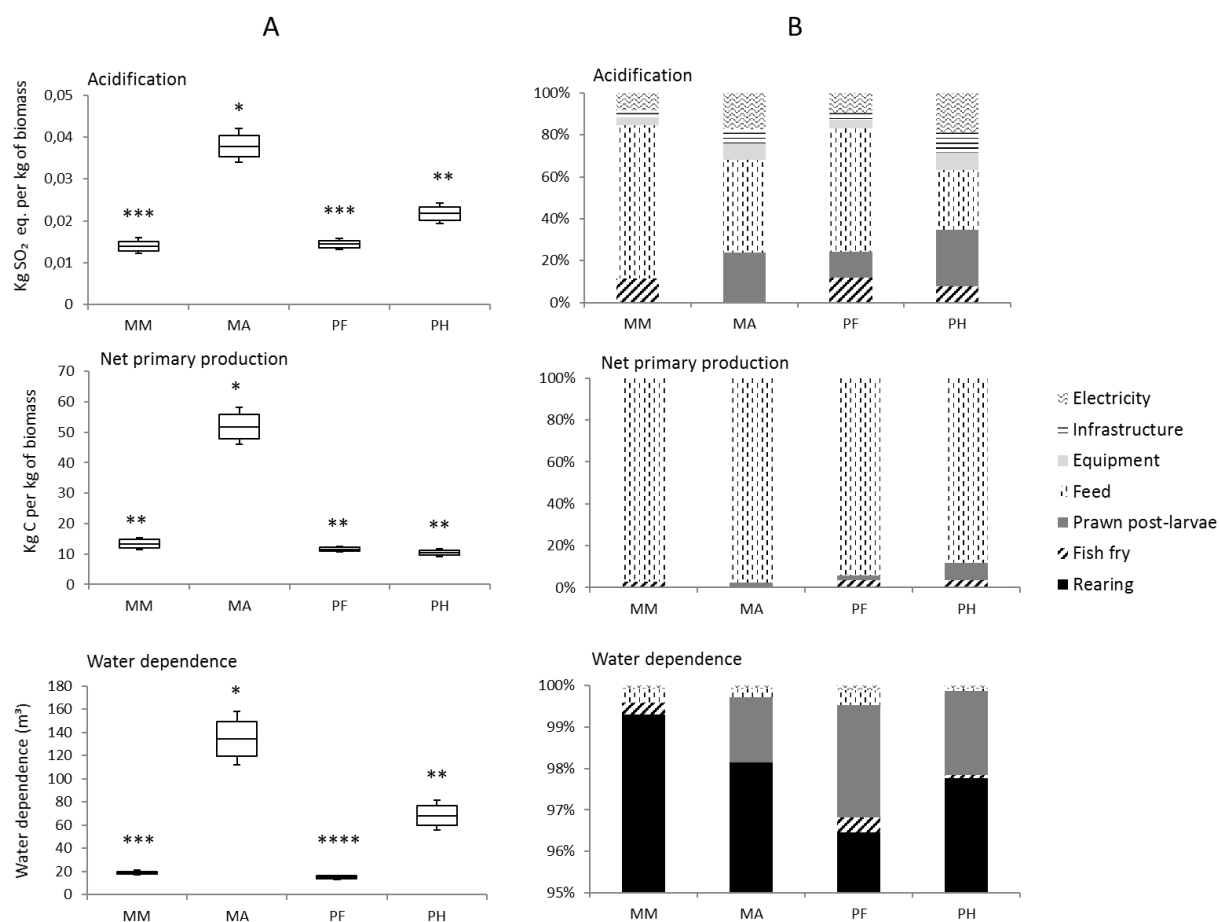


Figure D.1 (A) Impacts of producing 1 kg of biomass in aquaculture rearing systems according to the acidification, net primary production and water dependence impact categories. Whiskers represent one standard deviation. Groups of asterisks indicate systems with similar impacts. MM = monoculture of *C. macropomum*. (B) Contribution of systems' key elements in the aquaculture rearing systems to produce 1 kg of biomass for the acidification, net primary production use and water dependence impact categories. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond; eq. = equivalents.

Supplementary data E

Table E.1 Contributions (%) of key system elements to impacts in each system. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond.

[illegible][illegible]

Supplementary data F

Equations:

Eq. (F.1) energy output (MJ) = edible meat × protein content × energy concentration of protein

Eq. (F.2) ep-EROI = energy output / cumulative energy demand (CED)

Eq. (F.3) ep-EROI (mass allocation) = [(fish energy output × fish biomass) + (prawn energy output × prawn biomass)] / CED

Eq. (F.4) proportion fish value = fish biomass × fish price / [(fish biomass × fish price) + (prawn biomass × prawn price)]

Eq. (F.5) proportion prawn value = prawn biomass × prawn price / [(fish biomass × fish price) + (prawn biomass × prawn price)]

Eq. (F.6) ep-EROI (economic allocation) = [(fish energy output × proportion fish value) + (prawn energy output × proportion prawn value)] / CED

Table F.1 Characteristics of *Colossoma macropomum* and *Macrobrachium amazonicum* used to calculate the edible-protein energy return-on-investment (ep-EROI) of 1 kg harvested biomass.

Species	Edible meat (%)	Protein content (%)	Energy per kg protein (MJ)	Energy output (MJ)	Sales price (R\$)
<i>C. macropomum</i> (fish)	61 ^a	15 ^c	16.7 ^e	1.528	5.00 ^f
<i>M. amazonicum</i> (prawn)	45 ^b	18 ^d	16.7 ^e	1.353	17.00 ^f

^a Fernandes et al. (2010), ^b Costa (2013), ^c Meer et al. (1995), ^d Sahu et al. (2013), ^e FAO (2001), ^f Average price per kg in northern Brazil from 2013-2015.

Table F.2 Cumulative energy demand (CED) and edible-protein energy return-on-investment (ep-EROI), of the four rearing systems according to mass and economic allocations. The functional unit used is 1 kg of biomass. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond.

Systems	CED (MJ)	<i>C. macropomum</i> biomass (%)	<i>M. amazonicum</i> biomass (%)	ep-EROI (%)	
				Mass allocation	Economic allocation
MM	33	100	-	4.6%	4.6%
MA	152	-	100	0.9%	0.9%
PF	42	87	13	3.6%	3.5%
PH	92	62	38	1.6%	1.5%

Supplementary data G

Table G.1 Values taken from the literature to design the life cycle inventory and values obtained from the pedigree-matrix protocol.

Experimental data				
Parameter	Literature value	Literature Reference	Pedigree matrix result	Pedigree matrix observation
<i>C. macropomum</i> crude protein in carcass (%)	15.0	(Meer et al., 1995)	1.16	Based on variation in protein composition in <i>O. niloticus</i>
<i>C. macropomum</i> phosphorus in carcass (%)	0.70	(Meer et al., 1995)	1.28	Based on variation in ash composition in <i>O. niloticus</i>
<i>M. amazonicum</i> crude protein in carcass (%)	18.1	(Sahu et al., 2013)	1.18	Based on variation in protein composition in <i>M. rosenbergii</i>
<i>M. amazonicum</i> phosphorus in carcass (%)	0.27	(Sahu et al., 2013)	1.35	Based on variation in ash composition in <i>M. rosenbergii</i>
<i>C. macropomum</i> protein digestibility (%)	90.3	(Schneider et al., 2004)	1.30	Based on variation of protein digestibility in <i>O. niloticus</i>
<i>C. macropomum</i> phosphorus digestibility (%)	63.8	(Schneider et al., 2004)	1.33	Based on variation of phosphorus digestibility in <i>O. niloticus</i>
<i>M. amazonicum</i> protein digestibility (%)	81.9	(Teshima et al., 2006)	1.13	Based on variation of protein digestibility in <i>O. niloticus</i>
<i>M. amazonicum</i> phosphorus digestibility (%)	40.0	No reference	No value	Varies from 15% to nearly 80% for tilapia and carp species (Hua and Bureau, 2010). Values used as intervals in SimaPro®.
Methane emissions (mg m ⁻² h ⁻¹)	2.47	(Datta et al., 2009)	3.95	Based on variation of rice and fish experiments
Ammonia volatilization (%)	12.5	(Gross et al., 2000)	2.60	Based on gas emissions of aquaculture rearing systems
Denitrification (%)	17.4	(Gross et al., 2000)	2.60	Based on gas emissions of aquaculture rearing systems

Table G.2 Values from the literature used for energy-based allocation and values obtained from the pedigree-matrix protocol. Farm-gate sales prices (and their ranges) used for economic allocation. Note: R\$ = Brazilian reais.

Energy-based allocation				
Parameter	Literature value	Literature Reference	Pedigree matrix result	Pedigree matrix observation
<i>C. macropomum</i> energy content (kcal 100g ⁻¹)	158.6	(El-Haroun et al., 2006)	1.59	Based on variation in lipid composition of <i>O. niloticus</i>
<i>M. amazonicum</i> energy content (kcal 100g ⁻¹)	130.6	(Goda, 2008)	1.77	Based on variation in lipid composition of <i>M. rosenbergii</i>

Economic allocation				
Parameter	Value used	Minimum	Maximum	Observation
Sales price of <i>C. macropomum</i> (R\$)	5.00	4.00	8.00	Prices per kg in northern Brazil from 2013-2015
Sales price of <i>M. amazonicum</i> (R\$)	17.00	13.00	20.00	Prices per kg in northern Brazil from 2013-2015

Supplementary data H

Table H.1 Results of Monte Carlo analysis applied to four systems for each impact category. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond; eq = equivalents. SD = standard deviation, CV = coefficient of variation, SEM = standard error of the mean.

	Treat.	Mean	Median	SD	CV	2.50%	97.50%	SEM
Climate change (kg CO ₂ eq.)	MM	2.65855	2.57522	0.52396	19.70851	1.93772	3.87646	0.01657
	MA	11.08272	10.61611	2.31512	20.8895	8.04243	16.9479	0.07321
	PF	3.04447	2.96125	0.4816	15.81882	2.36553	4.15119	0.01523
	PH	6.47405	6.16663	1.58871	24.53966	4.50348	10.66652	0.05024
Eutrophication (kg PO ₄ eq.)	MM	0.04304	0.04221	0.00974	22.63026	0.02623	0.06413	0.00031
	MA	0.29525	0.29427	0.02931	9.92842	0.24232	0.35708	0.00093
	PF	0.03313	0.03304	0.00444	13.3942	0.02442	0.04248	0.00014
	PH	0.06799	0.06726	0.01245	18.30361	0.04501	0.09383	0.00039
Cumulative energy demand (MJ)	MM	32.9457	32.5884	4.3739	13.2759	25.7716	43.1742	0.1383
	MA	152.0665	151.4073	12.7902	8.4109	129.5795	180.108	0.4045
	PF	42.0946	41.956	3.3385	7.931	35.8677	48.758	0.1056
	PH	91.8796	91.5364	8.5473	9.3027	75.6582	109.3399	0.2703
Land occupation (m ² · year)	MM	6.81136	6.74894	0.8757	12.85642	5.22464	8.61772	0.02769
	MA	35.71366	35.56202	2.78414	7.79571	30.69115	41.54096	0.08804
	PF	7.38233	7.35318	0.50594	6.85334	6.46854	8.41983	0.016
	PH	22.09173	22.06095	2.13257	9.65326	18.31207	26.3915	0.06744
Acidification (kg SO ₂ eq.)	MM	0.01402	0.01386	0.00188	13.3917	0.01069	0.01855	0.00006
	MA	0.03809	0.03779	0.00403	10.58482	0.03101	0.04659	0.00013
	PF	0.01448	0.01441	0.0013	8.99888	0.01216	0.01733	0.00004
	PH	0.02183	0.02177	0.00243	11.13217	0.01765	0.02675	0.00008
Net primary production use (kg C)	MM	13.4089	13.3108	2.0084	14.9783	9.9621	17.9618	0.0635
	MA	51.9801	51.7129	6.0559	11.6504	40.7659	64.1308	0.1915
	PF	11.5692	11.5267	0.8497	7.3442	10.0089	13.3887	0.0269
	PH	10.4545	10.4092	1.3865	13.2623	7.9148	13.2622	0.0438
Water dependence (m ³)	MM	18.991	18.7526	1.8859	9.9304	15.8919	23.3247	0.0596
	MA	134.9086	134.5483	23.1866	17.1869	89.4022	182.0611	0.7332
	PF	15.0894	15.03	1.543	10.2256	12.1658	18.2742	0.0488
	PH	68.5213	68.2904	12.6842	18.5113	44.4928	94.3771	0.4011

Supplementary data I

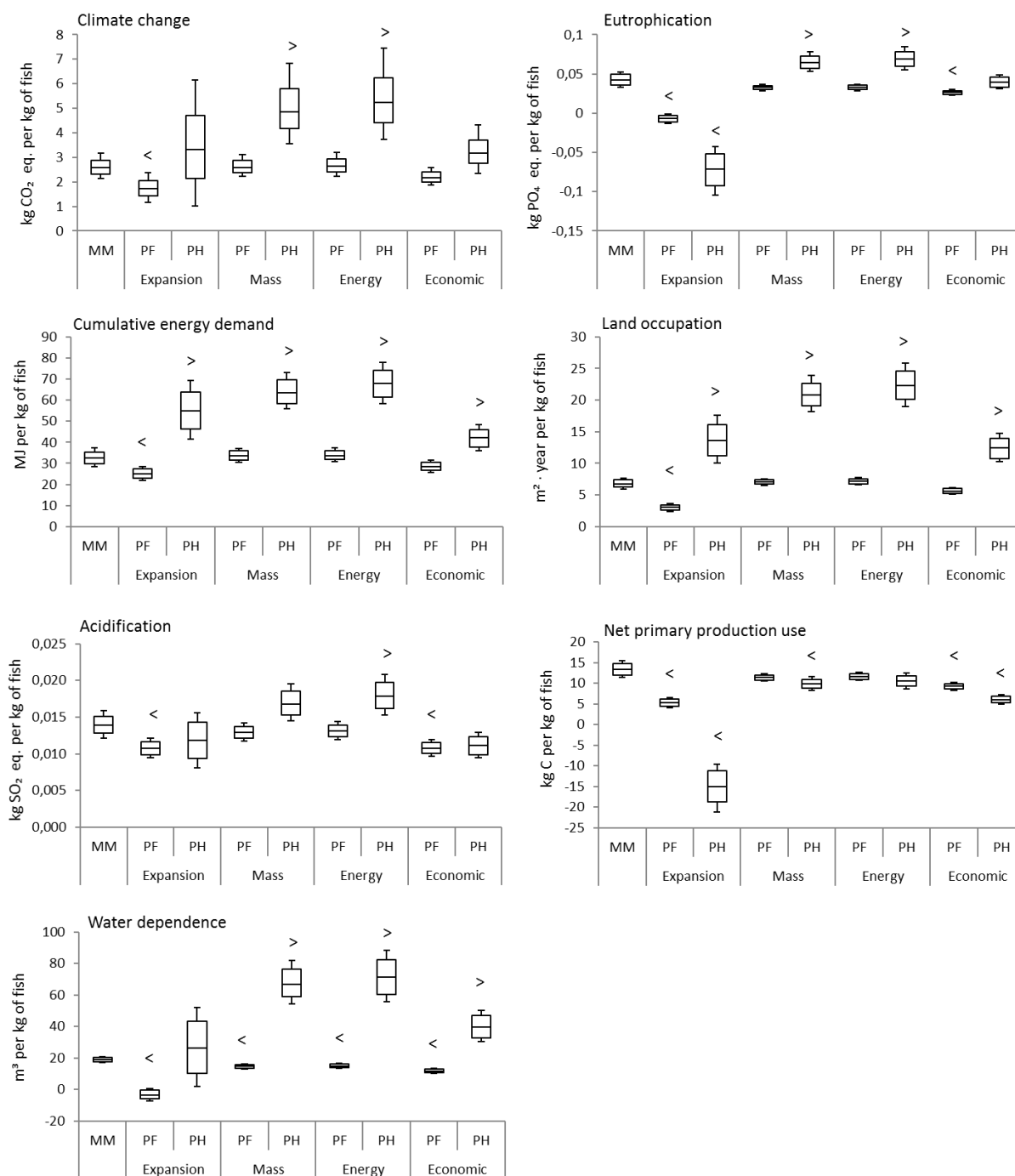


Figure I.1 Allocated impacts of producing 1 kg of fish *C. macropomum* in polyculture systems (PF and PH) compared to the impacts in MM. System expansion and three allocation approaches (mass, energy and economic) are applied for comparison. Whiskers represent one standard deviation. “<” indicates lower impacts than MM; “>” indicates higher impacts than MM; no symbol indicates similar impacts to MM. MM = monoculture of *C. macropomum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond; eq. = equivalents.

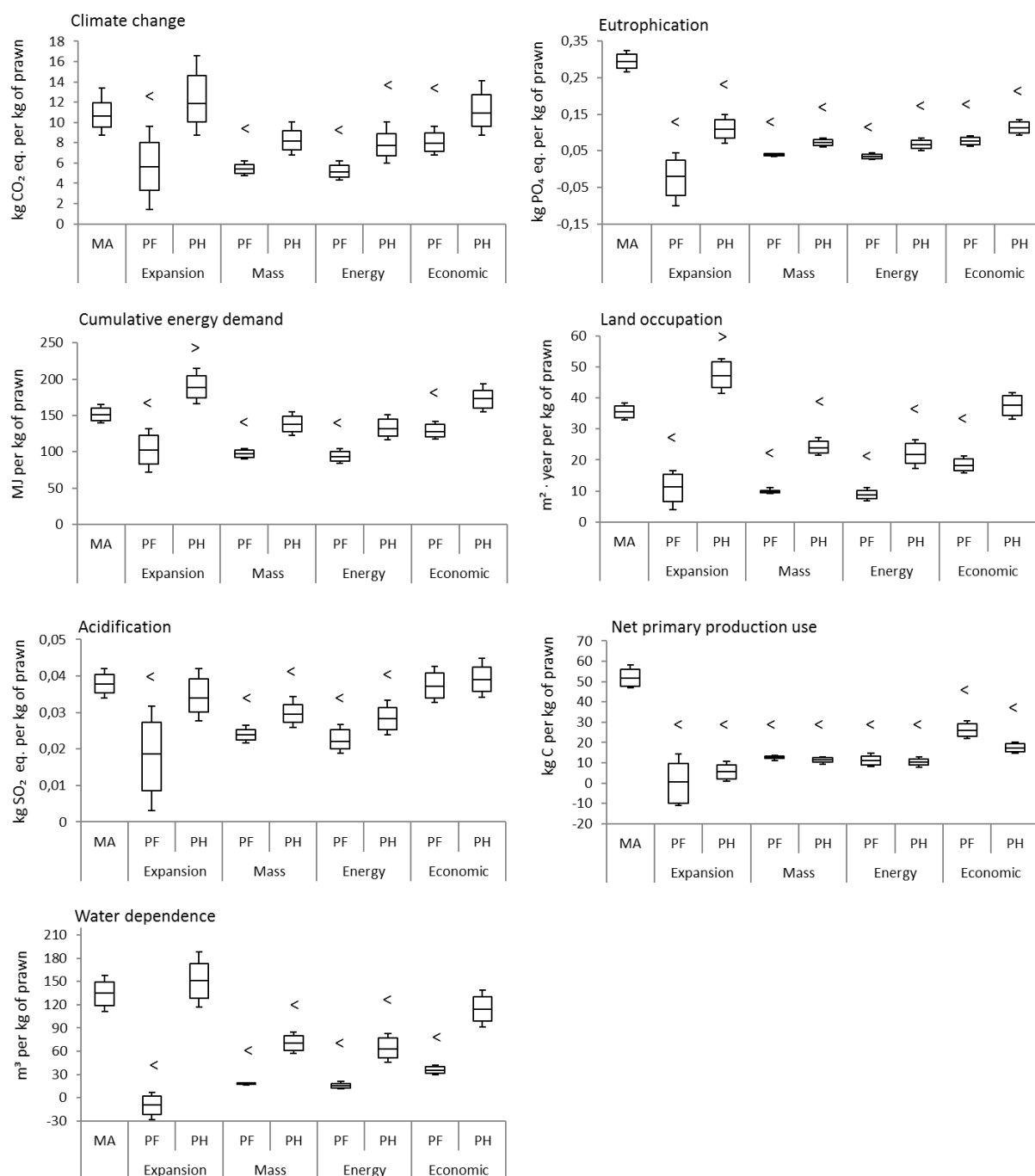


Figure I.2 Allocated impacts of producing 1 kg of prawn *M. amazonicum* in polyculture systems (PF and PH) compared to the impacts in MA. System expansion and three allocation approaches (mass, energy and economic) are applied for comparison. Whiskers represent one standard deviation. “<” indicates lower impacts than MA; “>” indicates higher impacts than MA; no symbol indicates similar impacts to MA. Note: MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and prawn were free in the pond. eq. = equivalents.

Supplementary data J

Table J.1. Characteristics of the present study and those of an experiment by Datta et al. (2009) that served as the source of methane emissions data used in the present study. Note: MM = monoculture of *C. macropomum*; MA = monoculture of *M. amazonicum*; PF = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which both species were free in the pond; PH = polyculture of *C. macropomum* and *M. amazonicum* in which fish were reared inside a hapa and the prawn free in the pond.

	Present study	Datta et al. (2009)
Country	Brazil	India
Latitude	21°15' S	20°25' N
Climate Köppen-Geiger	Cwa	Aw
Structure	Earthen ponds	Rice field + Refugee fish pond (earthen)
System	Polyculture and monocultures (fish and prawn)	Rice and fish polyculture
Species	<i>Colossoma macropomum</i> <i>Macrobrachium amazonicum</i>	<i>Catla catla</i> <i>Labeo rohita</i> <i>Cirrhinus mrigala</i> <i>Puntius gonionotus</i>
Productivity (kg·ha ⁻¹)	953 - 5386	444
Depth (m)	0.85 - 1.19	1 - 1.75
Area	Ponds 110 - 170 m ²	Plots (10 x 10 m)
Feeding	Commercial feed	Oil cake and rice bran (1:1)
Feed (% biomass daily)	3 – 6 ^a 3 – 10 ^b	2
Water used	Eutrophic	Fertilized
Period (days)	170	224

^a Feeding regime of monoculture of *C. macropomum* (MM) and polyculture systems (PF and PH)

^b Feeding regime of monoculture of *M. amazonicum* (MA)

Considerações finais

Considerações finais

A presente tese teve como meta contribuir com o desenvolvimento sustentável da aquicultura brasileira, em particular de duas espécies nativas, o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Na etapa da produção, o policultivo com ambas as espécies livres no viveiro foi o mais eficiente. Apesar de não apresentar redução na eutrofização da água de cultivo, os impactos gerados por quilo de biomassa produzida foram menores quando comparada aos monocultivos. A adição de uma terceira ou quarta espécie nestes sistemas de policultivo podem melhor aproveitar os nutrientes presentes no sistema e aumentar a biomassa produzida. O camarão-da-amazônia mostrou-se uma espécie favorável ao cultivo como segunda espécie, no entanto a produção ainda requer desenvolvimento.

A etapa do tratamento do efluente se mostrou imprescindível para redução da carga de nutrientes. O simples processo de sedimentação foi responsável pela melhora na qualidade de água do efluente, uma vez que a assimilação dos nutrientes por parte das macrófitas ficou abaixo do esperado. O período de 48 horas foi prazo mínimo para a água do efluente atingir características semelhantes à água de entrada.

Esta tese mostrou que medidas simples como a adição de uma segunda espécie aos monocultivos e o tratamento de efluente podem colaborar com a redução dos impactos ambientais. O baixo custo e a simplicidades destas medidas testadas podem facilitar a adoção das mesmas por parte dos produtores. Mais estudos são necessários para aperfeiçoar esses sistemas de cultivo e de tratamento de efluente, a fim de reduzir os impactos gerados pela aquicultura ao meio ambiente.