

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE MEIO A BASE DE ESTERCO SUÍNO NO CULTIVO DE
Ankistrodesmus gracilis (CHLOROPHYTA) EM
LABORATÓRIO**

Tatiana Betioli Fioresi
Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE MEIO A BASE DE ESTERCO SUÍNO NO CULTIVO DE
Ankistrodesmus gracilis (CHLOROPHYTA) EM
LABORATÓRIO**

Tatiana Betioli Fioresi

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

Jaboticabal – SP

Abril - 2007

F518u Fioresi, Tatiana Betioli
 Uso de meio a base de esterco suíno no cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (CHLOROPHYTA) em laboratório / Tatiana Betioli Fioresi. – –
 Jaboticabal, 2007
 v, 55 f. : il. ; 28 cm

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007
 Orientadora: Lúcia Helena Sipaúba Tavares
 Banca examinadora: Luiz Augusto do Amaral, Márcia Noélia Eler
 Bibliografia

 1. Cultivo de alga. 2. *Ankistrodesmus gracilis*. 3. Esterco suíno I.
 Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

 CDU 582.263

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

TATIANA BETIOLI FIORESI - nascida em 19 de dezembro de 1981, em Jaboticabal, SP. Graduada em Biologia pelo Centro Universitário de Araraquara - UNIARA, Araraquara, em dezembro de 2004. Obteve Bolsa de Iniciação Científica FAPESP (Processo nº 04/00861-7) durante os meses de março a dezembro de 2004, no Centro de Aqüicultura da UNESP, no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton, Campus de Jaboticabal - UNESP - SP. Mestranda em Microbiologia Agropecuária junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal - UNESP - SP, desde março de 2005. Bolsista pelo CNPq durante os meses de abril de 2006 a abril de 2007.

A inteligência sem amor, te faz perverso.

A justiça sem amor, te faz implacável.

A diplomacia sem amor, te faz hipócrita.

O êxito sem amor, te faz arrogante.

A riqueza sem amor, te faz avaro.

A docilidade sem amor te faz servil.

A pobreza sem amor, te faz orgulhoso.

A beleza sem amor, te faz ridículo.

A autoridade sem amor, te faz tirano.

O trabalho sem amor, te faz escravo.

A simplicidade sem amor, te deprecia.

A oração sem amor, te faz introvertido.

A lei sem amor, te escraviza.

A política sem amor, te deixa egoísta.

A fé sem amor te deixa fanático.

A cruz sem amor se converte em tortura.

A vida sem amor... não tem sentido.....

Madre Tereza de Calcutá

OFEREÇO

À minha família Milton, Eliana, Thaíze e Alan

“Vocês foram..., são... e SEMPRE serão o alicerce da minha vida...

*Obrigado pelo apoio nos momentos em que pensei em desistir à vocês
ofereço este trabalho.”*

DEDICO

*Ao meu Amigo e Marido Adriano (Mitchu), por acreditar em mim
nos momentos em que eu mesma não acreditei. Estamos vivendo
muitas coisas boas juntos e para completar ainda mais nossa
felicidade fomos acariciados com o bem mais precioso com a
chegada da nossa filha Laura.*

AGRADECIMENTOS

À DEUS! pelo silêncio nos momentos de fúria, pela paciência nos momentos de desespero e por me fazer acreditar que nesta vida nada é impossível.

À Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares, pela oportunidade, orientação, ensinamentos e confiança, sem você acredito que não chegaria até aqui.

Ao Prof. Dr. Jorge de Lucas Júnior, pelo empréstimo do laboratório para realização das análises microbiológicas e fornecimento do meio de esterco suíno.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, pelo empréstimo dos reagentes necessários para realização das análises microbiológicas no início do experimento.

Aos membros da banca de qualificação e defesa Prof. Dr. Ely Nahas, Profa. Dra. Eliana de Gertrudes Macedo Lemos, Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral e Profa. Dra. Márcia Noélia Eler, pelas contribuições nas correções e sugestões que permitiram o aprimoramento deste trabalho.

Ao Prof. Berlingieri pelas análises químicas do esterco suíno.

Ao Prof. José Carlos Barbosa pela orientação na análise estatística.

Ao Plínio do Laboratório Central pela agilidade nos resultados das amostras.

À Ana Paula e ao Sr. Orlando do Laboratório de Nutrição e Pastagem pelas análises bioquímicas.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural da FCAV de Jaboticabal, pelos momentos de colaboração e alegria.

Aos funcionários do Centro de Aquicultura de Jaboticabal (CAUNESP), sempre prontos a me atender.

Aos meus amigos do Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton do CAUNESP de Jaboticabal, Missae, Daniela, Flávia, Rodrigo, Pedro, Emerson, Fernanda, Mariah, pelos momentos maravilhosos de colaboração e alegria.

À Ludmilla pelos ensinamentos, dicas e principalmente os cafezinhos e risadas na cozinha da Engenharia Rural.

Ao Julio Valentim Betioli, (Tio Kabide), pelos valiosos conselhos e idéias.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, na condução deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Importância da Alga na Alimentação de Organismos Aquáticos	3
2.2. Uso de Meio Alternativo no Cultivo de Algas.....	7
2.3. Uso de Esterco Suíno como Forma de Minimizar o Impacto Gerado ao Meio Ambiente.....	8
2.4. Descrição da Espécie <i>Ankistrodesmus gracilis</i>	16
3. OBJETIVOS GERAIS.....	19
4. REFERÊNCIAS.....	20
ARTIGO CIENTÍFICO.....	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	51

USO DE MEIO A BASE DE ESTERCO SUÍNO NO CULTIVO DE *Ankistrodesmus gracilis* (CHLOROPHYTA) EM LABORATÓRIO.

RESUMO - Um dos fatores importantes na criação de larvas de peixes é o uso de alimento natural, tal como o fitoplâncton, o qual pode ser cultivado em instalações especiais, a baixo custo com alto valor nutricional e elevada taxa de crescimento. Muitos fatores afetam o cultivo de algas como luz, nutrientes, temperatura e pH, sendo esses fatores complexos e difíceis de serem analisados separadamente, principalmente, as interações entre incidência de luz e limitação de nutrientes. Entretanto, a restrição à luz é mais impactante do que a limitação de nutrientes, desde que a luz afeta diretamente a utilização dos compostos disponíveis no meio de cultura. Estudos têm sido enfatizados focalizando o cultivo de algas para a produção de alimento, utilizando-se meios alternativos como forma de baratear o custo de produção. O objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar o efeito do esterco suíno no desenvolvimento de *Ankistrodesmus gracilis*, cultivada em laboratório em dois meios: com esterco “in natura” e esterco biodigerido. O experimento foi realizado no período de 22 dias nos volumes, de 2L e 250L, analisando a biologia, valor nutricional e a qualidade da água do meio de cultura. Biovolume, teor de cinzas, comprimento total e concentração de lipídeos foram significativos ($p < 0,05$) entre os volumes cultivados. O teor de proteína não foi significativo ($p > 0,05$) somente no meio com esterco biodigerido. As maiores densidades de *A. gracilis* foram observadas no volume de 2L, tendo a amostra cultivada em meio com esterco biodigerido ao longo do experimento maior densidade, com o pico ao redor do 5º dia, $6,2 \times 10^7$ células.mL⁻¹. Ortofosfato, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido e temperatura da água não foram significativos ($p > 0,05$) entre volumes e o nitrito não foi detectado em volume de 2L. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os meios foram observadas somente para DBO₅. O requerimento de luz também foi diferente entre os meios, com menor intensidade para tratamento biodigerido ($13,5 \mu\text{E.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$), indicando menor custo benefício. Os resultados sugerem que o meio a base de esterco suíno (“in natura” e biodigerido) é

economicamente viável como meio alternativo no cultivo de *A. gracilis* com adequado valor nutricional.

Palavras-Chave: cultivo de alga, crescimento, composição química, *Ankistrodesmus gracilis*, esterco suíno.

***Ankistrodesmus gracilis* (CHLOROPHYTA) FERTILIZED IN SWINE MANURE IN THE LABORATORY.**

ABSTRACT - One of the most important factors in successfully fish rearing is probably the use of natural feed, such as phytoplankton, which may be grown in specially designed installations. So that high nutritional algae could be produced at low cost it is important to reach light production of algae and high growing rate. Many factors affect algae culture growth such as light, nutrients, temperature and pH since they directly involve algae density interactions between light incidence and limitation of nutrients are very complex and the effect of factor can not be analyzed separately. However, light restriction caused more impact than limiting of nutrients, since energy affected directly the utilization of the compounds available in the medium. Several studies focus on the culture of algae for food production through alternative methods to lower production costs. The effect of swine manure fertilization in the development of *Ankistrodesmus gracilis* was mensured on two medium: "in natura" and biodigested, during 22 days, in two volumes, 2L and 250L. The biology, nutritional value and water quality of culture medium were analyzed. Biovolume, ash rate, total length and lipids were higher ($p < 0.05$) between treatments. Protein rate was different ($p > 0.05$) only in the biodigested treatment. Highest *A. gracilis* densities were reported in 2L throughout the experiment the biodigested treatment had the highest density, 6.2×10^7 cells.ml⁻¹, on the 5th day. Orthophosphate, pH, alkalinity, dissolved oxygen and water temperature were only different ($p < 0.05$) between volumes. Nitrite, however, was not reported in the 2L volume treatment. Significant differences ($p < 0.05$) between media were only reported for DBO₅. Light demand was also different between media, with lesser intensity for biodigested treatment ($13.5 \mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). In fact, the biodigested treatment is cheaper in terms of costs and benefits. The medium is economically possible, considering the low cost of swine manure "in natura" and biodigested used in the algae culture and improve the algae nutritional value.

Keywords: culture of algae, growth, biochemical composition, *Ankistrodesmus gracilis*, swine manure.

1. INTRODUÇÃO

Os organismos planctônicos constituem importante fonte de alimento para muitos peixes, principalmente, em seus primeiros dias de vida onde a alimentação com organismos vivos constitui o único procedimento adequado. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados focalizando o aspecto do cultivo de alga de água doce e seu valor nutricional com a finalidade de alimentar larvas e alevinos de peixes (SIPAÚBA-TAVARES et al., 1999).

As microalgas são componentes essenciais na dieta de moluscos bivalves marinhos, como ostras e mariscos, sendo mundialmente empregados na alimentação de muitas espécies de larvas de camarões e de peixes de água doce como tilápia, carpa prateada entre outros. Também podem ser empregadas de forma indireta pois servem de alimento aos herbívoros como rotíferos, cladóceros, copépodes e artemia, comumente utilizados em larvicultura (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

Com o aumento da produção e a alta demanda de larvas e alevinos de peixes o interesse do desenvolvimento de técnicas de cultivo de alimento em larga escala e com alto valor nutricional, são de extrema importância em trabalhos de aquicultura.

Produzir alimento natural requer técnicas e manejos a fim de desenvolver um produto de fácil digestão pelo peixe e de alto valor nutricional e preferencialmente a baixo custo de produção.

Neste sentido este trabalho foi desenvolvido a fim de averiguar o uso de esterco suíno como fonte alternativa de meio de cultura para o crescimento da alga Chlorophyceae, *Ankistrodesmus gracilis* em laboratório.

A espécie, *Ankistrodesmus gracilis*, geralmente é selecionada para o cultivo em massa e utilizada na alimentação de organismos zooplanctônicos, principalmente por apresentar parede celular mais fina e, portanto, uma qualidade de carbono inorgânico total em relação ao peso seco mais elevado do que as diatomáceas e outras algas marinhas (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

Fertilizante orgânico a base de esterco suíno foi utilizado de duas formas, “*in natura*” e biodigerido em 30 dias para o crescimento e desenvolvimento da alga *A.*

gracilis, sendo analisados os aspectos hidrológicos do meio de cultura, biológico e valor nutricional da alga.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da Alga na Alimentação de Organismos Aquáticos

A aquicultura destacou-se mundialmente como o setor que apresentou a maior taxa de crescimento em relação aos outros setores produtores de alimentos de origem animal, com taxa de crescimento de 9,2% desde 1970, frente ao setor de pesca extrativista com 1,4% e de produção de animais terrestres com 2,8% (FAO, 2003).

Na aquicultura, as microalgas são utilizadas como alimento para moluscos, peixes, crustáceos e organismos zooplancônicos, fornecidas em geral, na forma fresca (alimento vivo), sendo essenciais em algum estágio de desenvolvimento ou ainda, em todo ciclo de vida destes organismos (NUNES, 2005).

Nos primeiros dias de vida, um peixe é mantido pela reserva alimentar (saco vitelínico). Entretanto, o peixe pode viver de seu vitelo somente por um curto espaço de tempo, posteriormente passando ao consumo de alimento externo. A quantidade e qualidade do alimento ingerido por um peixe determinam a sua taxa de crescimento, o tempo de maturidade sexual e, conseqüentemente, o tempo de vida (NIKOLSKY, 1969 citado por SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1994).

A alimentação de larvas é considerada uma das etapas mais difíceis da aquicultura (NRC, 1993). Nesta etapa os organismos passam pela fase de diferenciação estrutural e funcional do sistema digestório. Sendo que na maioria das espécies, o indivíduo passa da alimentação endógena (vitelo) para a alimentação exógena. Por isto, a primeira alimentação apresenta dificuldades de adaptação, sendo recomendado o uso de alimento vivo, ao menos em parte da dieta. A transição do alimento vivo para dieta artificial deve ser gradual, pois, nesta fase, as larvas apresentam o trato digestório imaturo, e as dietas fornecidas podem apresentar-se de difícil digestão. Por outro lado, o alimento natural apresenta determinadas enzimas, hormônios e outros reguladores e fatores de crescimento não encontrados nos alimentos artificiais (PIEDRAS et al., 2004).

Um dos maiores problemas relacionados à baixa produção do pescado é a produção de um alimento que seja de alto valor nutricional e que cause um baixo impacto ambiental. Além disso, sabe-se que o tamanho reduzido da boca das larvas, assim como a distribuição das mesmas na coluna d'água também influenciam à captura e o aproveitamento do alimento natural.

O fitoplâncton é de fundamental importância na dinâmica dos sistemas aquáticos, constituindo o elo de ligação na transferência de energia solar e dos nutrientes, possibilitando a passagem destes aos consumidores (zooplâncton e peixes) e, muitas vezes, determinando a produtividade de um ambiente. Algumas espécies importantes na piscicultura, como a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), a carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e formas jovens de muitas outras espécies têm nas algas o principal item de sua dieta. O fitoplâncton pode ainda auxiliar na manutenção da qualidade de água em níveis adequados para a criação dos organismos aquáticos (FARIA et al., 2001).

A administração de uma alimentação adequada é fundamental para a larvicultura, afetando diretamente a sobrevivência e o tempo de desenvolvimento larval. É importante que mais de um alimento seja utilizado na dieta uma vez que os níveis de aminoácidos, vitaminas e demais nutrientes estejam numa composição adequada. Portanto, uma dieta alimentar é considerada ótima quando seus teores de proteínas, de lipídeos e de carboidratos estejam balanceados (THOMAZ et al., 2004).

A obtenção diversificada de uma grande biomassa de microalga de alta qualidade nutricional é primordial na aquicultura. Sua produção é um dos pontos críticos em muitos laboratórios, representando, em alguns casos, mais da metade dos custos totais na produção dos animais cultivados (NUNES, 2005).

RADÜNZ NETO (2003) salienta que o uso de alimento vivo pode apresentar alguns inconvenientes, dentre os quais o custo de produção em laboratório, variabilidade na produção em função das condições climáticas, riscos de introdução de predadores e patógenos. Com relação ao alimento artificial, verifica-se que este apresenta maior facilidade de aquisição e de estocagem, além da uniformidade dos ingredientes e agilidade no seu fornecimento.

A eficiência de utilização do alimento disponível é um requerimento vital para todos os animais e o cultivo de organismos em laboratório para obtenção de uma dieta definida é bastante adequado, pois as células em crescimento exponencial têm alta capacidade fotossintética e o principal produto da fotossíntese é a proteína (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

O crescimento da alga depende unicamente das propriedades intrínsecas das células, desde que cultivadas de forma adequada. No laboratório sob condições controladas as variações na atividade metabólica e nos produtos do metabolismo são muito pequenas e com isto a adaptação da alga a um novo meio aumenta de forma satisfatória, podendo, de acordo com técnicas e manejos corretos, produzir uma biomassa algal de alto valor nutricional (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

No intuito de selecionar espécies de microalgas como fonte de alimento na aquicultura, muitas espécies foram e continuam sendo estudadas. As preferidas são aquelas que reúnem qualidades ideais de nutrição, de digestibilidade e que apresentem tamanhos celulares compatíveis com a espécie criada nos seus diferentes estágios de desenvolvimento e que suportem as condições de cultivo (SILVA et al., 2004).

A utilização de plâncton, visando à obtenção de larvas com tamanho adequado e com altas taxas de sobrevivência, vem sendo indicada por diversos pesquisadores (NETO et al., 1995; SOARES et al., 1997; SA-JÚNIOR & SIPAÚBA-TAVARES, 1997; FURUYA et al., 1999 citados por FARIA et al., 2001). Experimentos que utilizaram diferentes fontes de alimentos na larvicultura de peixes mostram que a utilização de organismos planctônicos de forma isolada ou associadas à ração leva a um melhor desenvolvimento dos peixes (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993; SIPAÚBA-TAVARES et al. 1999; FARIA et al. 2001).

Além de alimento direto para larvas de peixes as algas são utilizadas na alimentação de organismos zooplânctônicos viabilizando o cultivo em massa desses organismos e, conseqüentemente diminuindo a mortandade de larvas e alevinos de peixes (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993).

No entanto, há necessidade de estudos comparativos sobre a qualidade nutricional do fitoplâncton e a utilização destes recursos por diferentes espécies zooplanctônicas (MACEDO & PINTO-COELHO, 2000).

De acordo com STERNER (1997) citado por MACEDO & PINTO-COELHO (2000), as diferenças na qualidade do alimento são mais importantes quando a quantidade é relativamente alta, mas há um longo caminho a ser percorrido para entender exatamente quando e onde a qualidade é vital para o zooplâncton. Segundo os mesmos autores, a qualidade do alimento pode ser extremamente importante para o estudo de muitos modelos na estrutura da comunidade zooplanctônica.

A disponibilidade de alimento com palatabilidade, atractabilidade, qualidade e quantidade adequada é de fundamental importância na sobrevivência e crescimento das larvas de peixes, conduzindo ao sucesso do forrageamento larval, o qual também pode ser resultante, não somente da abundância do alimento, mas também da distribuição e tamanho adequado disponível (CAVICCHIOLI, 2000).

A maioria das larvas de peixes logo que nascem não aceitam dietas artificiais e as que fazem não apresentam índices de desenvolvimento satisfatórios. A maioria das larvas depende da disponibilidade de organismos vivos para se desenvolverem satisfatoriamente (HUNG, 1989). Isso se dá pelo fato do alimento natural contribuir com nutrientes essenciais para o crescimento e sobrevivência, uma vez que, segundo DABROSKI (1991), as larvas da maioria das espécies de peixes não possuem sistemas digestório e enzimático completamente desenvolvidos. Dessa forma, a disponibilidade de alimento com alto valor nutricional, característico dos organismos planctônicos, é de grande importância para assegurar êxito durante a fase inicial de desenvolvimento (FURUYA et al., 1999).

A natureza oferece uma grande diversidade de alimento aos peixes, incluindo nutrientes em solução e uma quantidade de plantas e de animais diferentes, sendo que a qualidade e a quantidade de alimentos ingeridos determinam a taxa de crescimento, o tempo de maturidade sexual e conseqüentemente o tempo de vida (NIKOLSKY, 1969 citado por SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

Organismos vivos, em ambientes naturais, são ricos em vitaminas e minerais, podendo em ambientes artificiais, serem enriquecidos pela incorporação de vitaminas, aminoácidos, ácidos graxos essenciais e minerais; assim esses elementos poderão ser transferidos via cadeia alimentar para os consumidores finais (NAYAR et al., 1998).

A necessidade do alimento natural (fitoplâncton e zooplâncton) para os peixes no início do desenvolvimento é crucial para o crescimento, contendo proteínas essenciais à sobrevivência da larva de peixe. O alimento vivo pode ser introduzido em massa em locais específicos para este propósito, num tempo mais curto em área relativamente menor (SIPAÚBA-TAVARES, 2005).

2.2. Uso de Meio Alternativo no Cultivo de Algas

A biotecnologia das algas é reconhecida mundialmente como fonte de diferentes produtos de suma importância, mas nesse contexto, particularmente as microalgas constituem uma boa opção para o aporte de proteínas, vitaminas e minerais. Contudo, esta é uma tecnologia muito cara, investiga-se utilizar resíduos como uma possível fonte de nutrientes para o cultivo de microalgas e obter um consenso nos custos de produção (CABRALES & GONZALEZ, 2004).

São vários os meios alternativos para o cultivo de alga, em laboratório e todos foram desenvolvidos com a finalidade de diminuir os custos na produção obtendo organismos com alto valor nutricional em curto espaço de tempo.

Dentre alguns meios testados estão: esgoto doméstico esterilizado para o cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* (PIPES & GOTAAS, 1960); extrato de lodo ativado e lodo digerido acrescentando ou não outros resíduos, como folha de chá e soja para cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* (WONG & LAY, 1980); efluentes clarificados de biodigestores alimentados com esterco de suíno para cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* (RODULFO et al., 1980); despejos industriais purificados rico em nitrogênio para cultivo de *Chlorella vulgaris* (JUSIAK et al., 1984); resíduos líquidos de indústria de suco de laranja

concentrado utilizado no cultivo de algas clorofíceas (*Ankistrodesmus densus*, *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus bijugatus*) (BELTRÃO, 1992); NPK (20:5:20) para cultivo de *Chlamydomonas* sp., *Scenedesmus bijugatus* e *Ankistrodesmus gracilis* (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993); vinhaça de cana de açúcar para o cultivo de *Chlorella* sp. (OLIVEIRA, 1995); urina humana para cultivo de *Scenedesmus acuminatus* (ADAMSSON, 2000); água intersticial extraída dos sedimentos de tanques de criação de camarão para o cultivo de *Chaetoceros calcitrans*, *Nannochloropsis oculata* e *Oscillatoria* sp. (YUSOFF et al., 2001); efluente sintético de suíno para o cultivo de *Spirulina platensis* (BERTOLIN et al., 2005); meio enriquecido com substâncias inorgânicas como nitrato, fosfato, traços de minerais e vitaminas para o cultivo de *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana* (SEBASTIEN & KLEIN, 2006), entre outros.

O meio NPK (20:5:20) tem mostrado resultados satisfatórios como meio alternativo e menos dispendioso para a produção de *Ankistrodesmus gracilis* alcançando altas densidades num curto espaço de tempo, quando comparado ao meio tradicional CHU₁₂ (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993; SIPAÚBA-TAVARES et al., 1999; HARDY & CASTRO, 2000;).

Outro fator importante para o bom desempenho das algas é a adição de vitaminas do complexo B ao meio de cultura, proporcionando ótimo crescimento e um aumento significativo na produção (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2001; SIPAÚBA-TAVARES & BACHION, 2002).

2.3 Uso de Esterco Suíno Como Forma de Minimizar o Impacto Gerado ao Meio Ambiente

A suinocultura é uma atividade econômica importante no meio rural, tanto no ponto de vista social, como econômico, gerando multiplicação de renda e emprego em vários setores da economia. Na região Sul do país, uma das maiores produtoras de

suínos, grande volume de dejetos são lançados na natureza sem tratamento adequado, causando problemas de contaminação ambiental, eutrofização de rios e lagos, aumento das doenças de vinculação hídrica e ao solo e proliferação de insetos (DETTMER, 2003).

Estima-se que cerca de 753.000 pessoas dependem diretamente da cadeia produtiva de suinocultura e indiretamente cerca de 2,7 milhões de brasileiros (PORKWORLD, 2004).

Segundo PERDOMO (2004), a região Sul é do ponto de vista ambiental, por possuir uma grande densidade de suínos, uma das áreas que exige maior cuidado com a questão da emissão e utilização de dejetos suínos.

A problemática ambiental da suinocultura está relacionada à produção por regime de confinamento, o total de dejetos gerados, anteriormente distribuído na área destinada à exploração extensiva, ficou restrito a pequenas áreas. Além disso, houve aumento crescente da demanda por produtos de origem animal e aumento do emprego de tecnologia moderna (mecanização de operações, melhor alimentação do rebanho, controle mais eficiente de doenças, etc.), o que resultou em aumento efetivo do rebanho, acompanhado por índices elevadíssimos de produtividade (SILVA, 1973; KONZEN, 1983; OLIVEIRA, 1993 citados por SOUZA et al., 2005).

Com esse aumento crescente da população de suínos no Brasil, que hoje chega a contar com 36,5 milhões de animais alojados, com a perspectiva de crescimento para os próximos anos e com a implantação de novos projetos no setor suinícola, torna-se necessária a adoção de métodos e técnicas para manejar, estocar, tratar, utilizar e dispor dos resíduos, dentro do sistema de produção, com o objetivo da manutenção da qualidade ambiental, reutilização dos resíduos em outros sistemas agrícolas e maior rentabilidade na produção. Segundo LUCAS-JÚNIOR (1998), até a década de 1970, os resíduos da suinocultura não constituíam problema grave, pois o número de animais era bem menor e o destino dos dejetos era o solo, com a finalidade de adubação orgânica. No entanto, o aumento da produção e o manejo inadequado dos dejetos tornaram-se problemas ambientais significativos.

A suinocultura é uma das atividades da agropecuária que vem preocupando os ambientalistas nos últimos anos, por constituir fração importante da produção animal no país, gerando quantidades significativas de resíduos e de grande capacidade poluidora, em comparação, por exemplo, aos efluentes domésticos humanos (SOUZA, 2001).

Em uma granja de suínos, a quantidade diária de efluentes produzida depende, dentre outros fatores, do número e da idade dos animais e, principalmente, da quantidade de água gasta na higienização das baias. A associação desses fatores, por sua vez, vai definir a concentração de sólidos na água residuária, os custos com estruturas de tratamento ou de armazenamento e a necessidade de área para recebimento dessas águas, como forma de adubação orgânica, caso seja esta a maneira escolhida para disposição do resíduo (MIRANDA, 2005).

Os dejetos de suínos apresentam concentrações elevadas de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5), sólidos em suspensão e macronutrientes. A maioria dos suinocultores utilizam sistemas de produção que geram quantidades altas de efluente, variando de 1,4 a 27 L/dia/animal (de 10 a 12 vezes o volume gerado pelo ser humano e 4 vezes mais concentrado), dependendo da fase produtiva (DARTORA et al., 1998).

O poder poluente dos dejetos suínos é muito superior ao de outras espécies, pois enquanto a DBO_5 per capita de um suíno com 85 Kg de peso vivo varia de 189 a 208 g/animal/dia, a doméstica de 45 a 75 g/habitante/dia. De forma geral, estima-se que um suíno vivo, na faixa de 16 a 100 Kg de peso vivo, produza diariamente de 4,9% a 8,5% de seu peso corporal em urina e fezes. Segundo OLIVEIRA (1997), a DBO_5 do esgoto doméstico é cerca de 200 a 500 $mg.l^{-1}$, enquanto a DBO_5 dos dejetos de suínos varia de 30.000 a 52.000 $mg.l^{-1}$, ou seja, 260 vezes mais.

Nitrogênio e fósforo são considerados os principais poluentes dos recursos hídricos, devido à suplementação mineral oferecida aos animais, por meio de rações com doses elevadas desses macronutrientes. De acordo com LUDKE & LUDKE (2002), cerca de 45 a 60% de nitrogênio; 50 a 80% de fósforo e cálcio, aproximadamente 70 a 95% de cobre, zinco, potássio, sódio, magnésio, manganês e ferro, são excretados pelos suínos. Assim, é necessário melhor adequação nutricional da dieta, com correta

formulação, de forma a reduzir a quantidade desses nutrientes na alimentação, conseqüentemente, reduzindo suas proporções nos dejetos e ao mesmo tempo aumentando a eficiência de utilização.

O lançamento direto em cursos d'água, feito sem controle por longos anos, passou a ser considerado ameaça ao meio ambiente como um todo e, para a qualidade de vida da humanidade, tendo como principais conseqüências a mortalidade acentuada dos peixes e a eutrofização. Do ponto de vista ecológico, o termo “eutrofização” refere-se ao processo de degradação que sofrem os lagos e outros corpos d'água quando excessivamente enriquecidos de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, que limitam a atividade biológica (BRANCO, 1971).

As principais contribuições com o enriquecimento dos corpos d'água são as fontes de efluentes domésticos e industriais e a drenagem pluvial. Segundo SPERLING (1996), a construção de canais de desvio da drenagem pluvial para estações de tratamento melhoraria as condições do corpo receptor.

De acordo com a legislação vigente, o lançamento dos resíduos em cursos d'água somente pode ser feito após o tratamento dos mesmos, o que consiste na compatibilização da composição final ou remoção dos poluentes, de forma que tal procedimento não resulte em problemas ambientais tão acentuados (ITABORAHY, 1999).

Sabe-se que dejetos animais possuem altos teores de coliformes fecais e a possibilidade da presença de patógenos. Assim, a utilização da digestão anaeróbia possibilita o tratamento biológico dos dejetos proporcionando um aproveitamento dos mesmos em função da produção de biogás (MIRANDA, 2005).

Os mananciais e fontes d'águas podem ser contaminadas por dejetos de suínos. O acúmulo e o extravasamento de dejetos ou o despejo ilegal desses resíduos em rios e a construção de esterqueiras próximas a essas fontes tem contaminado a água e interferido no desenvolvimento da vida em rios e lagoas. Há um aumento significativo na quantidade de bactérias, principalmente coliformes fecais representados principalmente pela *Escherichia coli*). A *Escherichia coli* pode ainda ser considerada patogênica para seres humanos e animais. Ela é responsável por severas enterites em

humanos e pode também estar presente em alimentos de origem animal. Entre outros problemas microbiológicos oriundos dos dejetos suínos destaca-se a contaminação por *Salmonella*, sendo a salmonelose uma zoonose de importância mundial (WEISS et al., 2002 citado por RAMIREZ et al., 2003).

No entanto, os dejetos de animais podem, quando bem manejados, constituir-se em alternativa econômica para a propriedade rural, sem comprometimento com a qualidade ambiental. Atualmente, tem-se buscado alternativas para o aproveitamento de dejetos suínos na forma de adubo orgânico e de vermicomposto ou, simplesmente, aplicando-o em solos improdutivos.

Segundo PERDOMO (2004), o manejo de dejetos da suinocultura no Brasil dá-se sob a ótica da “armazenagem e distribuição no solo”, estratégia de controle da poluição que não tem sido totalmente correta.

SEGANFREDO (1999), mostrou que entre as alternativas para a destinação de grandes quantidades de dejetos originados pelos sistemas intensivos da criação de suínos está a utilização como fertilizante, com a mesma receptividade dos agricultores devido à fácil operacionalização na propriedade. A aplicação freqüente de grandes quantidades de dejetos no solo, considerada uma maneira “prática e econômica” para a retirada dos mesmos das instalações pode provocar um acúmulo de nutrientes no solo. Este comportamento resulta em prejuízos econômicos diretos aos agricultores sendo esta a pior opção para a diversificação das atividades agropecuárias, pela redução do número de espécies possíveis de serem cultivadas, em virtude da diferente suscetibilidade de cada espécie aos desequilíbrios químicos provocados no solo; a intoxicação de animais, ocasionada pelo acúmulo excessivo de determinados nutrientes na forragem, como por exemplo, o cobre, prejudicial a ovelhas.

Considerando-se a disposição desse material em solo, SILVA (1983) afirmou que o esterco de suíno funciona apenas como condicionador do solo, pois, na verdade, tem baixas concentrações de N, P e K, comparadas às dos adubos químicos. LOURES (1995) comentou sobre a possível salinização do solo, bem como, a contaminação por metais pesados em virtude dos componentes excedentes na dieta, dentre os quais ressaltou a presença de Cu e Zn, que são eliminados por meio das fezes dos suínos.

Várias têm sido as alternativas utilizadas no tratamento de efluentes da suinocultura, entretanto todas elas geram um custo adicional para o produtor que, na maioria das vezes, está impossibilitado de arcar com este ônus, pois são, geralmente, pequenos produtores rurais que já trabalham com pequena margem de lucro (RODRIGUES & BELLI FILHO, 2004).

Um dos grandes desafios da atualidade é proteger o meio ambiente manejando e dispondo os resíduos ou águas residuárias provenientes da agropecuária de forma correta, a fim de não comprometer a eficiência da produção de alimentos. Dentre as alternativas encontradas para solucionar ou minimizar os problemas ambientais causados pela grande quantidade de resíduos produzidos na agropecuária, destaca-se a biodigestão anaeróbia, a qual pode ser usada na reciclagem de resíduos sólidos e líquidos, para redução do poder poluente e riscos sanitários dos dejetos ao mínimo (MIRANDA, 2005).

Uma alternativa para o tratamento de resíduos da suinocultura seria o uso de biodigestores. No interior destes, a degradação da matéria orgânica, com atuação de grupos distintos de microrganismos, na ausência de oxigênio, e conseqüente geração do biogás, corresponde ao processo chamado de biodigestão anaeróbia (SOUZA, 2001).

A digestão anaeróbia é um procedimento microbiológico que ocorre naturalmente quando o ambiente apresenta condições favoráveis de umidade, temperatura, disponibilidade de nutrientes, para determinadas espécies de microrganismos, podendo ocorrer em vários ecossistemas. Sua aplicação consiste no tratamento dos resíduos sólidos, semi-sólidos ou líquidos de produção animal e/ou vegetal, gerando um subproduto efluente que pode ser utilizado como adubo ou alimento animal em outros sistemas produtivos, desde que isentos de substâncias tóxicas (RUIZ, 1992).

O uso de biodigestores além de tratar os resíduos da suinocultura fornece, ao final do tempo de degradação, um material que pode ser utilizado como fertilizante no cultivo de plantas e ou aumentando a produtividade primária em tanques de piscicultura.

A biodigestão anaeróbia representa importante papel, pois além de permitir a redução significativa do potencial poluidor, trata-se de um processo no qual não há geração de calor e a volatilização dos gases, considerando-se pH próximo da neutralidade, é mínima, além de se considerar a recuperação da energia na forma de biogás e a reciclagem do efluente (FISHER et al., 1979; LUCAS-JÚNIOR, 1998).

A biodigestão anaeróbia é uma tecnologia bem estabelecida para o tratamento de ampla variedade de resíduos gerados pelas atividades humanas. O tratamento anaeróbio de resíduos pode ser considerado como um dos principais métodos de proteção ambiental e preservação de recursos, podendo os resíduos tornarem-se importante fonte de nutrientes (LETTINGA et al., 1997; CALLAGHAN et al., 1999; LETTINGA & VAN LIER, 1999 citados por STEIL et al., 2002).

Ainda há muito o que ser feito, mas o desenvolvimento do conhecimento sobre a digestão anaeróbia é um dos mais promissores no campo da biotecnologia, uma vez que é fundamental para promover, com grande eficiência, a degradação dos resíduos orgânicos que são gerados em grandes quantidades nas modernas atividades rurais e industriais. À medida que os sistemas de produção animal se intensificam e se modernizam, também se intensificam as necessidades energéticas e de tratamento dos resíduos (LUCAS-JÚNIOR, 1987).

Dentre as diferentes atividades antrópicas, o complexo agropecuário, incluindo a suinocultura é responsável por grande parte da emissão dos gases de efeito estufa no Brasil e no mundo (OLIVEIRA et al., 2005).

MERKEL (1981) e VOERMANS et al. (1994) ainda fizeram referência à questão dos odores indesejáveis provenientes das instalações de criação de suínos, devido à grande quantidade de dejetos acumulados. A emissão de amônia é a principal responsável, além do que, a mesma contribui para a acidificação do solo, sendo tóxica para os organismos clorofilados.

Segundo VENKATARAMAN et al., (1982) citado por RODRIGUES & BELLI FILHO, 2004, os efluentes da atividade agropecuária podem ser eficientemente reciclados por algas, sem uso de nutrientes adicionais para o seu crescimento. Além

disso, as algas produzidas neste processo apresentam possibilidades promissoras para ração de peixes, suínos e aves.

Um problema bastante grave é a grande turbidez dos dejetos que inibe consideravelmente a penetração de luz, limitando assim o crescimento das algas. Além disso, a disponibilidade de nutrientes e CO₂, fruto da decomposição da matéria orgânica produzida pela comunidade bacteriana, são fatores que vão contribuir para definir a concentração adequada de dejetos, para otimização da produção de algas. (RODRIGUES, 2000).

O tratamento de resíduos produzidos pelas diferentes atividades agropecuárias é de vital importância para a saúde pública e para o combate à poluição das águas tendo levado a necessidade de desenvolver sistemas que combinem alta eficiência e custos baixos de construção e operação (STEIL et al., 2002).

Considerando-se a escassez de informações técnicas específicas relativas ao tratamento e aproveitamento agrícola de águas residuárias provenientes de atividades suinícolas, cabe à pesquisa o papel de geradora de conhecimentos que possam contribuir na solução de problemas ambientais, propondo alternativas que sejam técnica e economicamente viáveis para a propriedade rural e ambientalmente aceitas pela sociedade.

O meio de cultura a base de esterco suíno foi escolhido, pois possui grande concentração de nitrogênio, fósforo e potássio, essenciais ao desenvolvimento e crescimento das algas além de se tornar uma forma alternativa do uso de dejetos suínos, considerados fontes de degradação ambiental (LUCAS-JÚNIOR, 1994).

2.4. Descrição da Espécie *Ankistrodesmus gracilis*

Identificação (PARRA & BICUDO, 1995 e BICUDO & MENEZES, 2006)

Divisão: Chlorophyta

Classe: Chlorophyceae

Ordem: Chlorococcales

Família: Oocystaceae

Gênero: *Ankistrodesmus* sp

Espécie: *Ankistrodesmus gracilis*

A alga *Ankistrodesmus gracilis*, pertence à classe Chlorophyceae, pode-se dizer que é a maior classe de algas e detem maior diversidade de organismos, cerca de 17.000 espécies, tanto na estrutura, ciclo de vida e habitats. As principais características desta classe são algas unicelulares flageladas e não-flageladas, formam colônias móveis e não-móveis, filamentosas e ou formando lâminas celulares. Os membros desta classe vivem principalmente em água doce, embora poucas espécies planctônicas unicelulares ocorram em águas marinhas costeiras. Algumas Chlorophyceae são essencialmente terrestres, ocorrendo em habitats tais como neve, solo ou madeira (RAVEN et al., 2001).

A alga *A. gracilis*, quando isolada, caracteriza-se por ser unicelular imóvel e não produz zoósporos. Esta espécie apresenta célula alongada e pontiaguda em ambos os pólos (Figura 1). São comuns em água e solo, multiplicando-se abundantemente, podendo originar florescimentos, às vezes agregando-se em pequenos grupos (BOLD & WYNNE, 1985).

Dentre as algas cultivadas, as clorofíceas unicelulares têm sido amplamente utilizadas na alimentação de organismos planctônicos e particularmente, *Ankistrodesmus gracilis*, tem demonstrado um valor nutricional adequado e grande aceitação pelas larvas de peixes, sendo estudada alguns anos no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton (SIPAÚBA-TAVARES & BRAGA, 1999).

As clorófitas, também denominadas de algas verdes, possuem cor verde intensa devido as clorofilas **a** e **b** que mascaram os carotenos e xantofilas. Nos pirenóides situados nos cloroplastos o amido é armazenado como substância de reserva. Algumas clorófitas são desnudas, mas a maioria possui uma parede celular formada por duas ou mais capas, a interna é celulósica e a externa é pectínica.

Para poder ser consumida por filtradores, a alga deve ser de tamanho e forma tal que permitam a sua captura, manejo e ingestão. Uma vez ingerida, outras propriedades da alga, como a natureza e a espessura da parede celular, determinam sua digestibilidade e, portanto, seu valor nutritivo. O intervalo de tamanho, dentro do qual, as partículas algais são ingeridas pelos animais varia nos diferentes grupos de acordo com a espécie, a fase de desenvolvimento e época do ano (SIPAÚBA-TAVARES, 1988).

MACEDO & PINTO-COELHO (2000) testaram a influência de duas dietas algais, *Ankistrodesmus gracilis* e *Scenedesmus quadricauda*, no crescimento populacional de duas espécies de cladóceros planctônicos, *Daphnia laevis* e *Moina micrura*, e observaram que ambos os cladóceros alimentados com *A. gracilis*, tiveram uma produção de ovos maior e um maior índice lipídico.

SIPAÚBA-TAVARES & BACHION (2002) verificaram uma boa aceitação dessa alga por *Diaphanosoma birgei* e *Moina micrura*.

O estudo do crescimento das microalgas é um aspecto importante para incrementar o conhecimento da biologia da espécie, favorecendo sua posterior produção em ambientes controlados.

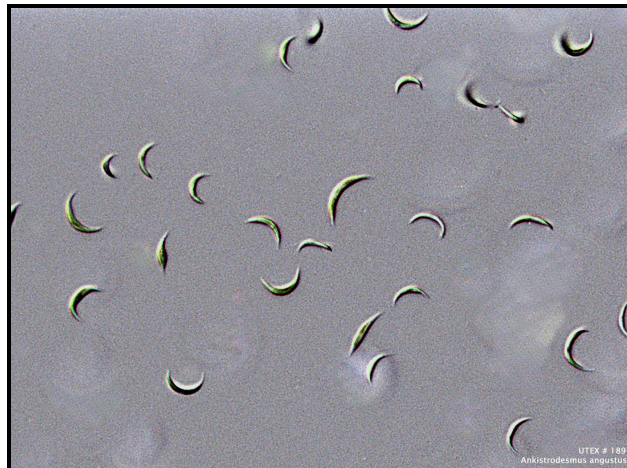
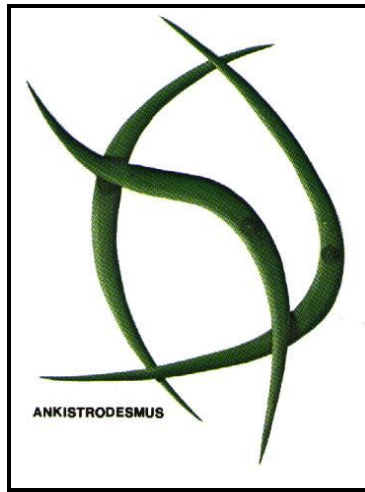


Figura 1 - *Ankistrodesmus gracilis*

3. OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a qualidade do meio de cultivo alternativo;
- Analisar o valor bioquímico de *A. gracilis*;
- Verificar o potencial do esterco suíno “in natura” e biodigerido como meios alternativos para crescimento de *A. gracilis*;
- Observar algumas variáveis físicas, químicas e biológicas das algas ao longo do desenvolvimento em função do meio utilizado;

4. REFERÊNCIAS

ADAMSSON, M. Potential use of human urine by greenhouse culturing of microalgae (*Scenedesmus acuminatus*), zooplankton (*Daphnia magna*) and tomatoes (*Lycopersicon*). **Ecological Engineering**, v. 16, n. 2, p. 243-254, 2000.

BELTRÃO, M. I. **Cultivo de algas clorofíceas (*Ankistrodesmus densus*, *Chorella vulgaris* e *Scenedesmus bijugatus*) em resíduos líquidos de indústria de suco de laranja concentrado**. 1992. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

BERTOLIN, T. B. P., COSTA, J. A. V., BERTOLIN, T. E., COLLA, L. M. & HEMKEMEIER, M. Cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis* a partir de efluente sintético de suíno. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 118-125, 2005.

BICUDO, C. E. de M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificações e descrições**. São Carlos: RiMa, 2006. 502 p.

BOLD, H. C.; WYNNE, M. J. **Introduction to the algae, structure e reproduction**. N. Jersey: Prentice Hall, 1985, 586 p.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária**. São Paulo: CETESB, 1971. 214 p.

CABRALES, M. M. Q.; GONZÁLEZ, M. F. Utilización de residual aviar como fuente de nutrientes en cultivos de microalgas. **Medisan**, Santiago de Cuba, v. 8, n. 3, p. 27-31. 2004. Disponível em: <http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_3_04/san05304.htm>. Acesso em: 10 de fev. 2007.

CAVICCHIOLI, M. **Mudanças na morfologia do trato digestório, dieta e seletividade alimentar de larvas de três espécies de peixes do reservatório de Itaipu, Brasil, Paraguai.** 2000. Tese (Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2000.

DARTORA, V.; PERDOMO, C. C.; TUMELERO, I. T. **Manejo de dejetos suínos.** Concórdia: EMBRAPACNPSA/EMATER/RS, 1998. 41 p.

DETTMER, C. A. **Destino dos dejetos suínos em algumas propriedades rurais do município de nova boa vista r/s, sob a ótica ambiental: estudo de caso.** 2003. 32 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2003.

DRABOSKI, K. Dietary requirement for freshwater fish larvae - in search of a common thread. In: FISH & CRUSTACEAN LARVICULTURE SIMPOSIUM, 1991, Bélgica, **Anais...**, p. 9-10.

FAO. **Estado mundial da pesca e aquicultura em 2002.** Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 10 de julho de 2005.

FARIA, A. C. E. A. de; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e variáveis físicas e químicas em tanques experimentais submetidos a diferentes adubações orgânicas. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 291-297, 2001.

FISCHER, J. R.; IANNOTTI, E. L.; PORTER, J. H.; GARCIA, A. Producing methane gas from swine manure in a pilot-size digester. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 22, n. 2, p. 370-4, 1979.

FURUYA, V. R. B.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M.; SOARES, C. M.; GALDIOLI, E. M. Influência de plâncton, dieta artificial e sua combinação sobre o crescimento e sobrevivência de larvas de curimatã (*Prochilodus lineatus*). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 3, p. 699-703, 1999.

HARDY, E. R.; CASTRO, J. G. D. Qualidade nutricional de três espécies de clorofíceas cultivadas em laboratório. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 30, n. 1, p. 39-47, 2000.

HUNG, M. Ensayo de cultivo de una cepa de rotífero *Brachionus plicatilis* aislada en Venezuela. **Revista Latinoamericana de Aqüicultura**, Peru, v. 40, p. 83-112, 1989.

ITABORAHY, C. R. **Desempenho de sistemas estático e dinâmico com aguapé (*Eichhornia crassipes*) no tratamento de águas residuárias da suinocultura**. 1999. 65 f. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 1999.

JUSIAK, M. P.; DUSZOTA, M.; MATUSIAK, K.; MYCIELSKI, R. Intensive culture of *Chlorella vulgaris* as the second stage of biological purification of nitrogen industry wastewaters. **Water Research**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 1984.

LOURES, E. G. Técnicas de tratamento de dejetos de suínos. In: SEMINÁRIO MINEIRO SOBRE MANEJO E UTILIZAÇÃO DE DEJETOS DE SUÍNOS, 2., 1995, Ponte Nova. **Resumos...** Ponte Nova: EPAMIG/EMATER/UFV/ASSUVAP, 1995. p. 32-44.

LUCAS-JÚNIOR, J. **Estudo comparativo de biodigestores modelo indiano e chinês**. 1987. 114 f. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1987.

LUCAS-JÚNIOR, J. **Algumas considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios**. 1994. 137 f. Tese (Livre – Docência Construções Rurais) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

LUCAS-JÚNIOR, J. Aproveitamento energético de resíduos da suinocultura. In: Energia, Automação e Instrumentação. Lavras: UFLA/SBEA, 1998, p. 81-7.

LUDKE, J. V.; LUDKE, M. C. M. M. Preservação ambiental. **Suinocultura Industrial**. São Paulo, v. 25, n. 2, p. 10-14, 2002.

MACEDO, C. F.; PINTO-COELHO, R. M. Efeito das algas *Ankistrodesmus gracilis* e *Scenedesmus quadricauda* no crescimento e no índice lipídico de *Daphnia laevis* e *Moina micrura*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 2 p. 397-401, 2000.

MERKEL, J.A. **Managing livestock wastes**. Connecticut: AVI Publishing, 1981. 419 p.

MIRANDA, A. P. **Influência da Temperatura e do tempo de retenção hidráulica em biodigestores alimentados com dejetos de bovinos e suínos**. 2005. 113 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

NAYAR, S.; HEGDE, S.; RAO, P. S.; SUDHA, P. Live organisms as feed in aquaculture. **INFOFISH International**, Malásia, v. 4, p. 36-40, 1998.

NRC. Nacional Research Council (U.S). Committee on Animal Nutrition. **1. Fishes - nutrition - requirements. 2. Fishes - feedings and feeds**. Washington, DC. : National Academy of Sciences, 1993. 114 p.

NUNES, M. **Avaliação da qualidade de pastas de microalgas produzidas em laboratório de larvicultura de moluscos no Sul do Brasil.** 2005. 35 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2005.

OLIVEIRA, H. T. de. Vinasse as substrate to culture *Chlorella vulgaris*. In: International Workshop on Microalgae and Aquatic Plants Culturing, 1995, **Anais...**, Habana, Cuba, 40 p.

OLIVEIRA, R. A. **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura.** 1997. 389 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, 1997.

OLIVEIRA, P. A. V. de; HIGARACHI, M. M.; NUNES, M. I. A. **Emissão de gases, na suinocultura, que provocam o efeito estufa.** Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.com.br>. Acesso em: 10 nov. 2005.

PARRA, O. O.; BICUDO, C. E. M. **Introducción a la biología y sistemática de las algas de aguas continentales.** Santiago-Chile: Gráfica Andes, 1995. 268 p.

PERDOMO, C. C. **A poluição ambiental por dejetos suínos.** Disponível em: <<http://www.Jornal do meio ambiente.com.br>>. Acesso em: 6 set. 2004

PIEDRAS, S. R. N.; POUEY, J. L. O. F. Alimentação de alevinos de peixe-rei (*Odontesthes bonariensis*) com dietas naturais e artificiais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1203-1206, 2004.

PIPES, W. O.; GOTAAS, H. B. Utilization of organic matter by *Chlorella* grown in sewage. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 8, p. 163-169, 1960.

PORKWORLD. **A suinocultura brasileira e mundial.** Disponível em:<www.porkworld.com.br/estatisticas/brasil/html>. Acesso em: 17 fev. 2004.

RADÜNZ NETO, J. **Alimento natural versus ração balanceada na larvicultura de peixes.** Disponível em:<www.sbz.org.br/eventos/PortoAlegre/homepagessbz/Radunz.htm>. Acesso em: 13 de ago de 2003.

RAMIREZ, O. P.; QUADRO, M. S.; ANTUNES, R. M.; KOETZ, P. R. Influência da carga orgânica volumétrica aplicada no pós-tratamento de águas residuárias de suinocultura por contactores biológicos rotatórios e reator anóxico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 4, p. 413-420, 2003.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

RODRIGUES, J. B. R. **Eficiência do crescimento da microalga *Chlorella minutissima* e sua aplicação em resíduos de suinocultura - valorização e tratamento.** 2000. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Área de Concentração: Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

RODRIGUES, J. B. R.; BELLI FILHO, P. Eficiência da microalga *Chlorella minutissima* no tratamento de resíduos de suinocultura enriquecido com uréia. **Biotemas**, Florianópolis, v. 17, n. 2, p. 7-26, 2004.

RODULFO, B. R. MARMOL, N. H.; EMRALINO, G. A. Production of *Chlorella* in clarified effluent from hog manure biogas digester. **Phillip Journal Science**, v. 109, p. 51-58, 1980.

RUIZ, R. L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: Roca, 1992. 314p.

SEBASTIEN, N. Y.; KLEIN, V. L. M. Efeito do meio Erd Schreiber no cultivo das microalgas *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana*. **Acta Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 149-152, 2006.

SEGANFREDO, M. A. Os dejetos de suínos são um fertilizante ou um poluente do solo? **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 16, n. 3, p. 175-190, 1999.

SILVA, N. A. **Manual de biodigestor: modelo chinês**. 2. ed. Brasília: EMATER, 1983. 90 p. (Manual, 26).

SILVA, F. C.; PEREIRA, A.; CANOZZI, M. B.; ARAÚJO, S. C. Cultivo de microalgas marinhas. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). **Aquicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora, 2004, p. 93-120.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Utilização do plâncton na alimentação de larvas e alevinos de peixes**. 1988. 191 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 1988.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I – algas clorofíceas. **Biotemas**, Florianópolis, v. 6, n. 1, p. 93-106, 1993.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Sobrevivência de larvas de *Piaractus mesopotamicus* (Holemborg, 1887) (Pacu) e *Colossoma macropomum* (Curvier, 1818) (Tambaqui) cultivadas em laboratório. **Biotemas**, Florianópolis, v. 7, n. 1 e 2, p. 46-56, 1994.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H., PELICIOLO, L. C.; OLIVERA, A. Use of inorganic (NPK) and the CHU₁₂ medium for cultivation of *Ankistrodesmus gracilis* in laboratory. **Brazilian Journal of Ecology**, Rio Claro, v. 01, p.10-15, 1999.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. & BRAGA, F. M. de S. Study on feeding habits of *Piaractus mesopotamicus* (pacu) larvae in fish ponds. **NAGA The ICARM Quarterly**, v. 22, n. 1, p. 24-29, 1999.

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

SIPAÚBA-TAVARES, L. H., BACHION, M. A. ; BRAGA, F. M. de S. Effects of food quality on growth and biochemical composition of a calanoid copepod, *Argyrodiaptomus furcatus*, and its importance as a natural food source for larvae of two tropical fishes. **Hydrobiologia**, v. 453/454, p. 393-401, 2001.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. ; BACHION, M. A. Population growth and development of two species of Cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*. **Brazilian Journal Biology**, Rio Claro, v. 62, n. 4, p. 701-711, 2002.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso racional da água: limnologia e plâncton**. 2005. 217 f. Tese (Livre - Docência) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 2005.

SOUZA, C. F. **Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos**: obtenção de dados e aplicação no desenvolvimento de um modelo dinâmico de simulação da produção de biogás. 2001. 140 f. Tese (Doutorado em Zootecnia - Área de Concentração em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 2001.

SOUZA, C. F.; LUCAS-JÚNIOR, J. de; FERREIRA, W. P. M. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato - considerações sobre a partida. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 530-539, 2005.

SPERLING, M. von. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243 p.

STEIL, L.; LUCAS-JUNIOR, J.; OLIVEIRA, R. A. de Avaliação do uso de inóculos na digestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frangos de corte e suínos. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p.146-159. 2002.

THOMAZ, L. A.; OSHIRO, L. M. Y.; BAMBOZZI, A. C.; SEIXAS FILHO, J. T. de; ROSADAS, L. A. S. Substituição de *Artemia* sp. pelo rotífero *Brachionus plicatilis* na larvicultura do camarão-d'água-doce (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1928-1933, 2004.

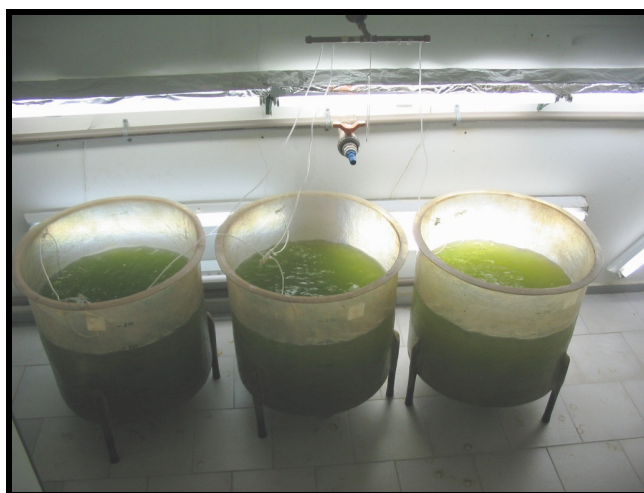
VOERMANS, J. A. M.; VERDOES, N.; HARTOG, L. A. Environmental impacts of pig farming. **Pig News and Information**, Farnham Royal, v.15, n.2, p.51n-54n, 1994.

WONG, M. H.; LAY, C. C. The comparison of soy-bean wastes, used tealeaves and sewage for growing of *Chlorella pyrenoidosa*. **Environmental Pollution**, v. 23, p.247-259, 1980.

YUSOFF, F. M.; MATIAS, H. B.; KHALID, Z. A.; PHANG, S. M. Culture of microalgae using interstitial water extrected from shrimp pond bottom sediments. **Aquaculture**, v. 201, p. 263-270, 2001.



*Cultivo
em 2L*



*Cultivo
em 250L*

ARTIGO CIENTÍFICO

Uso de meio a base de esterco suíno no cultivo de
Ankistrodesmus gracilis (CHLOROPHYTA) em laboratório.

USO DE MEIO A BASE DE ESTERCO SUÍNO NO CULTIVO DE *Ankistrodesmus gracilis* (CHLOROPHYTA) EM LABORATÓRIO.

RESUMO

Estudos têm sido realizados focalizando o cultivo de algas para a produção de alimento, utilizando-se meios alternativos como forma de baratear o custo de produção. O objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar o efeito do esterco suíno no desenvolvimento de *Ankistrodesmus gracilis*, cultivada em laboratório em dois tratamentos: “*in natura*” e biodigerido. O experimento foi realizado no período de 22 dias nos volumes, de 2L e 250L, analisando a biologia e o valor nutricional da alga e a qualidade da água do meio de cultura. Biovolume, teor de cinzas, comprimento total e concentração de lipídeos na alga foram significativos ($p < 0,05$) entre os volumes cultivados. O teor de proteína não foi significativo ($p > 0,05$) somente no meio a base de esterco biodigerido. As maiores densidades de *A. gracilis* foram observadas no volume de 2L, tendo o cultivo com esterco biodigerido ao longo do experimento maior densidade de algas, com o pico ao redor do 5º dia, $6,2 \times 10^7$ células.mL⁻¹. Ortofosfato, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido e temperatura da água não foram significativos ($p > 0,05$) entre os volumes de cultivo e o nitrito não foi detectado em volume de 2L. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os meios foram observadas somente para DBO₅. O requerimento de luz também foi diferente entre os meios, com menor intensidade para tratamento com esterco biodigerido ($13,5 \mu\text{E.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$), indicando menor custo benefício. Os resultados sugerem que o meio a base de esterco suíno (“*in natura*” e biodigerido) é economicamente viável como meio alternativo no cultivo de *A. gracilis* com adequado valor nutricional.

Palavras-chaves - *Ankistrodesmus gracilis*, cultivo de alga, crescimento, composição bioquímica, esterco suíno.

***Ankistrodesmus gracilis* (CHLOROPHYTA) FERTILIZED IN SWINE MANURE IN THE LABORATORY**

ABSTRACT

Several studies focus on the culture of algae for food production through alternative methods to lower production costs. The effect of swine manure fertilization in the development of *Ankistrodesmus gracilis* was measured on two treatments: “*in natura*” and biodigested, during 22 days, in two volumes, 2L and 250L. The biology, nutritional value and water quality of culture medium were analyzed. Biovolume, ash rate, total length and lipids were higher ($p < 0.05$) between treatments. Protein rate was different ($p > 0.05$) only in the biodigested treatment. Highest *A. gracilis* densities were reported in 2L throughout the experiment the biodigested treatment had the highest density, 6.2×10^7 cells.mL⁻¹, on the 5th day. Orthophosphate, pH, alkalinity, dissolved oxygen and water temperature were only different ($p < 0.05$) between volumes. Nitrite, however, was not reported in the 2L volume treatment. Significant differences ($p < 0.05$) between media were only reported for DBO₅. Light demand was also different between media, with lesser intensity for biodigested treatment ($13.5 \mu\text{E.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$). In fact, the biodigested treatment is cheaper in terms of costs and benefits. The medium is economically possible, considering the low cost of swine manure “*in natura*” and biodigested used in the algae culture and improve the algae nutritional value.

Key words: *Ankistrodesmus gracilis*, biochemical composition, culture of algae, growth, swine manure.

INTRODUÇÃO

Em cultivos controlados, os meios de cultura oferecem os nutrientes necessários para o crescimento ótimo de cada espécie. As algas variam nos seus requerimentos, exigências de diferentes meios e diferentes técnicas de cultivos, sendo o meio de cultura a base para o estabelecimento da qualidade nutricional da alga.

O estudo do crescimento das microalgas é um aspecto importante para incrementar o conhecimento da biologia das diferentes espécies, favorecendo a produção em ambientes controlados. Atualmente, diferentes espécies de microalgas são produzidas em escala comercial resultando numa atividade de grande interesse pelo aporte do desenvolvimento de diferentes campos como a Aqüicultura, sendo utilizada como fonte de alimento para larvas de peixes, camarões e rãs (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993).

A partir da década de 50, inúmeros trabalhos foram realizados, principalmente no sentido de obtenção de biomassa rica em proteínas para fins alimentares e, esta possibilidade tornou-se ainda mais atraente com a perspectiva de utilização de resíduos líquidos, urbanos e agroindustriais, como fonte de nutrientes, com custos sensivelmente menores que os requeridos para a produção de algas em meios quimicamente definidos (SOEDER, 1980).

O tratamento dos resíduos orgânicos através da fermentação anaeróbia em biodigestores, é interessante, pois além de reduzir a carga orgânica produzindo um fertilizante para plantas e algas, gerar a produção de biogás e produto energético contribui para a higiene sanitária do meio rural, uma vez que pode eliminar patógenos presente no resíduo.

O uso de esterco suíno como fonte alternativa para cultivo de algas em laboratório possui dois aspectos positivos, o primeiro é a grande disponibilidade do produto em virtude do crescimento da suinocultura no Brasil, ressalta-se, que os dejetos produzidos neste seguimento contaminam mananciais. Além disso, o produto gerado é de baixa reciclagem e o segundo aspecto, é a possibilidade da utilização de um produto de baixo custo, que propicie rápido crescimento algal e alto valor nutricional da alga cultivada.

A suinocultura, além de causar um grande impacto negativo nos mananciais, é também fonte de metano um dos gases responsáveis pelo efeito estufa. Sabe-se que a produção deste gás está associada ao metabolismo de decomposição anaeróbica de resíduos animais, fermentação entérica em ruminantes e lavouras de arroz inundada. Os biodigestores trataram os resíduos animais, controlando a emissão de metano e outros gases, pois o processo se desenvolve em um meio fechado com recuperação dos gases, conhecido como biogás (LIMA, 2002).

Um dos principais problemas no cultivo em massa de algas, utilizadas na alimentação direta ou indireta das larvas ou alevinos de peixes, refere-se ao custo das substâncias químicas necessárias para a preparação dos meios de cultura. A redução do custo de produção é necessária e algumas pesquisas têm sido direcionadas neste sentido (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993; HARDY & CASTRO, 2000; ADAMSSON, 2000; SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

Dentre as algas cultivadas, as clorofíceas têm sido amplamente utilizadas na alimentação de organismos aquáticos de água doce, particularmente *Ankistrodesmus gracilis*, mostrando-se bastante promissora como incremento da atividade aquícola (SIPAÚBA-TAVARES et al., 1999).

Sendo assim, este estudo objetivou obter informações sobre a biologia e valor nutricional de *Ankistrodesmus gracilis*, avaliando-se a qualidade do meio de cultura a base de esterco suíno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e Seleção da Alga *Ankistrodesmus gracilis*

A alga *Ankistrodesmus gracilis* foi proveniente da Universidade Federal de São Carlos, linhagem nº 005CH, isolada da Represa do Broa (SP, Brasil). Posteriormente, cultivada no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton (Universidade Estadual Paulista-UNESP, Centro de Aquicultura) em sistema de cultivo estático não axênico, com aeração constante, temperatura de $24,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ sob iluminação de lâmpadas fluorescentes, com intensidade de 13,5 a $20,7 \mu\text{E.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ no topo da cultura.

Inicialmente, foi mantida em meio de cultura CHU_{12} e NPK (20:5:20) até sua aclimação (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado teve como composição principal os dejetos de suíno, produto cedido no Sistema de Produção de Suínos do Departamento de Zootecnia da UNESP (Jaboticabal) em instalações de crescimento e terminação, compostas de baias de alvenaria com piso de concreto.

O meio de cultura biodigerido foi obtido por meio do armazenamento de esterco suíno em biodigestores do tipo batelada constituindo-se de dois cilindros retos, um dos quais, encontra-se inserido no interior do outro, de tal forma que o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comporte um volume de água que se convencionou denominar “selo de água”, esta propicia as condições anaeróbias sob as quais se desenvolve o processo de fermentação (ORTOLANI et al., 1991). O esterco permaneceu armazenado por um período de 30 dias.

Foram utilizados 23,12g do esterco suíno “*in natura*” (IN) e 80,8g do meio biodigerido em 30 dias (B30), ambos diluídos em 2000 ml de água destilada e posteriormente, autoclavados. Após o resfriamento, foi retirada uma subamostra de 100 ml, e completada para 1300 ml de água destilada e, mais 100 ml de inóculo de *A. gracilis* com densidade ao redor de 3×10^5 células. ml^{-1} . Para o cultivo em pequena escala (2L) (Figura 1). Quando o crescimento de *A. gracilis* atingiu a fase exponencial, foi transferido para volume maior (13L) totalizando 26L de inóculo para cada tanque de 250L, na densidade de 10×10^5 células. ml^{-1} para o meio IN e de $7,2 \times 10^6$ células. ml^{-1} para B30. No meio B30, foi adicionado $0,01 \text{ g.l}^{-1}$ de vitaminas do complexo B (SIPAÚBA-TAVARES & BACHION, 2002), com o objetivo de incrementar o crescimento da alga, cujos resultados não estavam sendo satisfatórios na ausência da vitamina. O experimento foi desenvolvido em triplicata com duração de 22 dias.

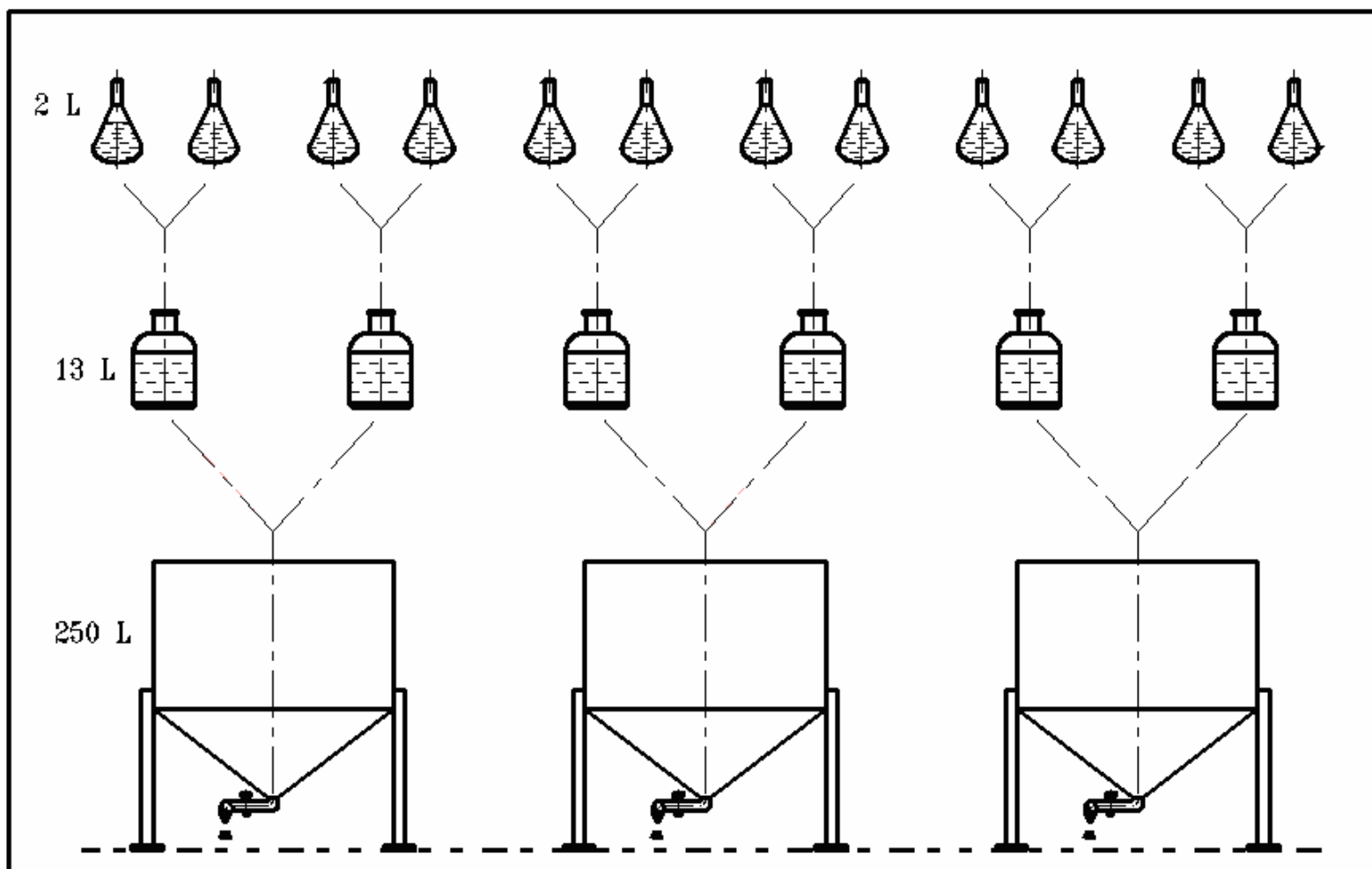


Figura 1. Esquema do cultivo da alga *Ankistrodesmus gracilis* em laboratório nos volumes de 2L e 250 L.

Crescimento

Para o experimento com meio a base de esterco suíno, a alga foi mantida em intensidade de luz no topo da cultura de $20,7 \pm 0,2 \mu\text{E}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para o meio IN e $13,5 \pm 1,2 \mu\text{E}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para o B30, em ciclo de 24 horas. Para o crescimento de *A. gracilis*, alíquotas de 1 ml foram removidas diariamente, ao longo de 22 dias de cultivo e $2 \times 1 \mu\text{l}$ de sub-amostras foram contados em hemocitômetro de Neubauer.

Composição Química

Ao final do experimento, ambos os cultivos (2L e 250L) de *A. gracilis* foram concentrados em desnatadeira, liofilizado para análises de lipídeo, fibra e proteína seguindo a metodologia proposta por A.O.A.C. (1990).

Dados Biológicos

O peso seco foi determinado obtendo-se 10 ml de cada réplica, sendo colhidas duas vezes por semana, com densidade média de $2,14$ e $1,99 \times 10^7$ células. ml^{-1} para IN e B30 em 2L e $6,6$ e $6,1 \times 10^6$ células. ml^{-1} para IN e B30 em 250L. As amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro (GFC $0,7 \mu\text{m}$ de diâmetro de poro), previamente lavado em água destilada. Posteriormente, o filtro foi seco a 60°C e submetidos a pesagem, até peso constante.

Para a determinação do conteúdo de cinzas da alga o material foi incinerado, em mufla a 500°C , por 4 horas.

O comprimento total (μm) de 50 indivíduos de cada tratamento foi determinado em microscópio Olympus BX 50, com uso de sistema de análise de imagens Pro-Plus versão 4.1, Media Cybernetics, U.S.A. com ocular micrométrica em um aumento de 400x. O cálculo do biovolume foi realizado a partir das dimensões médias das células usando a forma geométrica mais apropriada que corresponde a fórmula de dois cones acoplados (VOLLENWEIDER, 1974, BOTTREL et al., 1976).

Análise de Bacteriológica

No volume de 2L, foram colhidas amostras da água de cultivo duas vezes por semana, totalizando 7 amostragens, para cada meio de cultivo. Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos para detecção de coliformes totais e coliformes fecais, sendo expressos em número mais provável (NMP.ml⁻¹) e a técnica de plaqueamento em profundidade (pour plate) para microrganismos mesófilos expressos em unidade formadora de colônia (UFC.ml⁻¹) (APHA, 1998).

Características Hidrológicas

Para acompanhamento da qualidade do meio de cultivo, amostras da solução de água foram colhidas e analisadas três vezes por semana. As características hidrológicas como condutividade elétrica, pH e temperatura da água do meio foram medidas utilizando aparelho digital Corning PS17, PS15 e PS16, respectivamente. O oxigênio dissolvido, carbono inorgânico e alcalinidade foram determinados segundo GOLTERMAN et al., (1978) e MACKERETH et al., (1978). Amônia, nitrito, nitrato, fósforo total e ortofosfato foram determinados de acordo com KOROLEFF (1976) e GOLTERMAN et al., (1978). A clorofila-a foi avaliada segundo NUSH (1980) e a demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅), segundo metodologia descrita em APHA (1998).

Análise Estatística

Para a análise estatística, foi estabelecida a forma de um delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos, com 3 repetições para cada um. Os dados foram comparados aplicando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância utilizando-se para isto o Sistema para Análises Estatísticas (V.2,0) - ESTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dejetos de suínos apresentam uma considerável variação na sua composição, devido ao manejo nutricional adotado para os animais, porcentagem de diluição do dejetos, fase de vida que o animal se encontra e ainda o tipo de tratamento sofrido (PERDOMO et al., 2001).

A composição química do meio de cultura à base de esterco suíno é mostrada na Tabela 1. O meio “*in natura*” (IN) apresentou maiores concentrações de nutrientes quando comparado ao meio biodigerido (B30), principalmente, em relação ao nitrogênio, cálcio e ferro, o inverso foi observado para o magnésio. Em geral, as menores concentrações dos nutrientes no B30, podem estar associadas ao fato de sofrer biodigestão anaeróbia, ou seja, primeiramente, os compostos orgânicos complexos são hidrolisados a compostos orgânicos simples (hidrólise) formando ácidos graxos de cadeia longa (acidogênese) e, acetato (acetogênese) finalmente, ocorre a produção de metano (metanogênese) originando moléculas mais simples (CARVALHO, 1998).

Tabela 1. Teor de nutrientes contidos no meio de esterco suíno para os meios “*in natura*” (IN) e biodigerido em 30 dias (B30).

Composição	Meios	
	IN (mg.l ⁻¹)	B30 (mg.l ⁻¹)
Nitrogênio	10990	9380
Fósforo	6,89	4,18
Potássio	0,425	0,375
Enxofre	1,19	0,73
Magnésio	0,25	0,50
Cálcio	1100	500
Manganês	0,275	0,150
Ferro	1,575	0,600
Zinco	0,700	0,225
Cobre	0,900	0,275

A luz é o fator essencial ao crescimento das algas, sem a qual não pode processar suas atividades metabólicas. O uso do esterco suíno para o cultivo de *Ankistrodesmus gracilis*, promoveu alta concentração de alga na cultura e baixo requerimento de luz. Segundo BROWN et al., (1997) um dos maiores gastos na produção de algas em laboratório está relacionado à luz, cujas melhores condições estão entre 50 e 100 $\mu\text{E}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$, alternando de 12 em 12 horas. Neste estudo, a intensidade de luz foi em média de 13,0 a 20,7 $\mu\text{E}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ no período de 24 horas, revelando resultado satisfatório na redução do custo de produção e rápido crescimento algal. No entanto, a baixa intensidade de luz utilizada neste estudo e o uso de tanques de cultivo de fibra de vidro translúcidos, para o volume de 250L, pode ter afetado o crescimento da alga quando comparados com os volumes de 2L, cujos os cultivos foram realizados em frascos de vidro transparente promovendo maior biomassa (Figura 2).

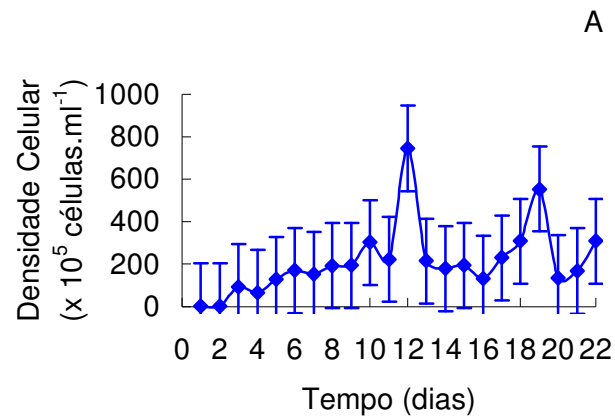
Além disso, a diferença na intensidade luminosa pode estar relacionada ao fato de que o meio “*in natura*” apresenta maior concentração de matéria orgânica tornando-o mais turvo, em contra partida o meio biodigerido apresenta menor concentração de matéria orgânica, devido à ação de bactérias anaeróbias que fermentam este meio, tornando-o menos turvo facilitando a passagem de luz nos recipientes de cultivo.

De acordo com MESEK et al., (2005) quanto maior o tempo de exposição à altas intensidades luminosas maior a produção de biomassa e completa utilização do nitrato e fosfato.

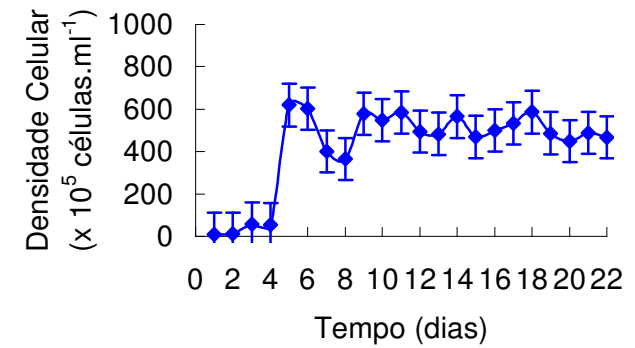
No meio IN em 250L no 5º dia ocorreu um pico, atingindo $7,1 \times 10^6$ células. ml^{-1} , oscilando ao longo do experimento. Esse mesmo padrão de comportamento foi observado no B30 em 2L com o pico no 5º dia, com maiores concentrações ($6,2 \times 10^7$ células. ml^{-1}) (Figura 2).

O cultivo no tratamento IN em 2L mostrou tendência de crescimento até o 12º dia tendo ocorrido, maior pico com $7,4 \times 10^7$ células. ml^{-1} , oscilando ao longo do experimento. Já no B30 em 250L a tendência foi decrescer até o final, com uma concentração algal de $3,7 \times 10^6$ células. ml^{-1} inferior ao IN em 250L com $7,0 \times 10^6$ células. ml^{-1} . Em geral, o B30 em 2L apresentou o melhor resultado (Figura 2).

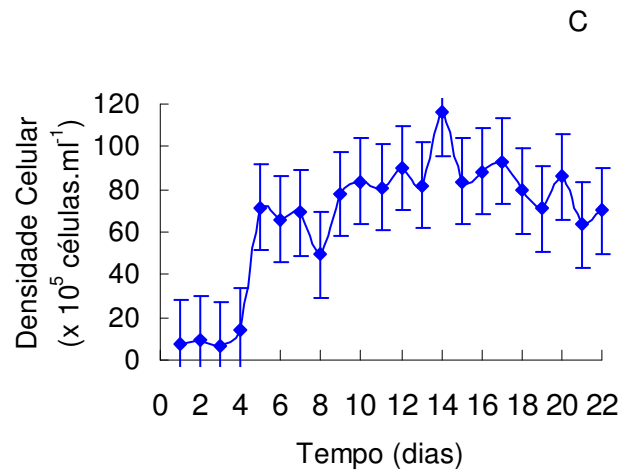
2L



B



250L



D

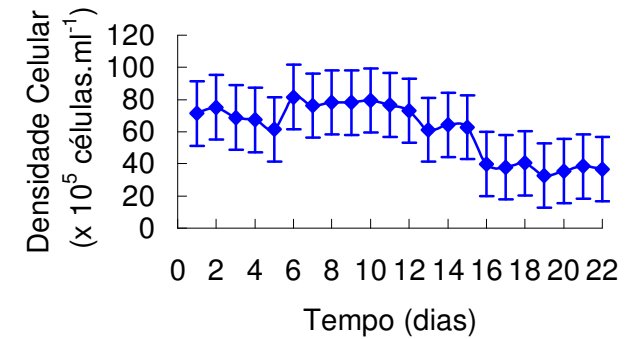


Figura 2. Crescimento da alga *Ankistrodesmus gracilis* cultivada em 2L e 250L em meios “*in natura*” (A, C) e biodigerido em 30 dias (B, D).

Carvalho (1998), trabalhando com esterco de poedeiras obteve um pico de crescimento no meio IN no 6º dia de cultivo com $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e, no meio com esterco biodigerido (20 dias) no 2º dia com aproximadamente $7,0 \times 10^5$ células.mL⁻¹. RODRIGUES & BELLI FILHO (2004), cultivaram *Chlorella minutissima* em meio de esterco suíno e obtiveram um pico de crescimento ao redor do 7º dia no entanto, em menor densidade ($2,1 \times 10^5$ células.mL⁻¹) quando comparados aos resultados deste estudo.

Uma das características utilizadas para avaliação das algas como alimento é o tamanho, devido a grandes variações na forma e dimensões da célula, indicando o biovolume disponível como alimento (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2001).

O biovolume (Figura 3) de *A. gracilis* em meio de esterco suíno variou de 70,33 a 427,86 μm^3 para o meio IN e 73,03 a 427,86 μm^3 para B30 sendo as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os meios utilizados e superiores aos encontrados por SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA (1993) e SIPAÚBA-TAVARES et al. (1999, 2001), porém similar ao obtido por HARDY & CASTRO (2000) utilizando meios tradicionais CHU₁₂ e NPK (20:5:20 g.l⁻¹).

O valor nutricional de um organismo é de extrema importância em estudos de alimentação. A composição química bruta de uma espécie de microalga referente a aminoácidos, grau de insaturação de ácidos graxos ou conteúdo de vitaminas depende das condições de cultivo e do período de crescimento, no entanto é possível generalizar a resposta de crescimento algal devido às alterações ambientais para as diferentes espécies (BROWN et al., 1997).

A porção mineral da alga indicada pelas cinzas variou de 4,21 a 7,53 pg.cél.⁻¹ para o meio IN e 3,2 a 3,36 pg.cél.⁻¹ para B30, sendo superior a obtida por SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA (1993) para a mesma alga cultivada em meio alternativo NPK (20:5:20 g.l⁻¹) e inferiores ao obtido por HABIB et al., (1997) para *Chlorella vulgaris* (18,6%) cultivada em efluente de moinho de óleo de palma (Tabela 2).

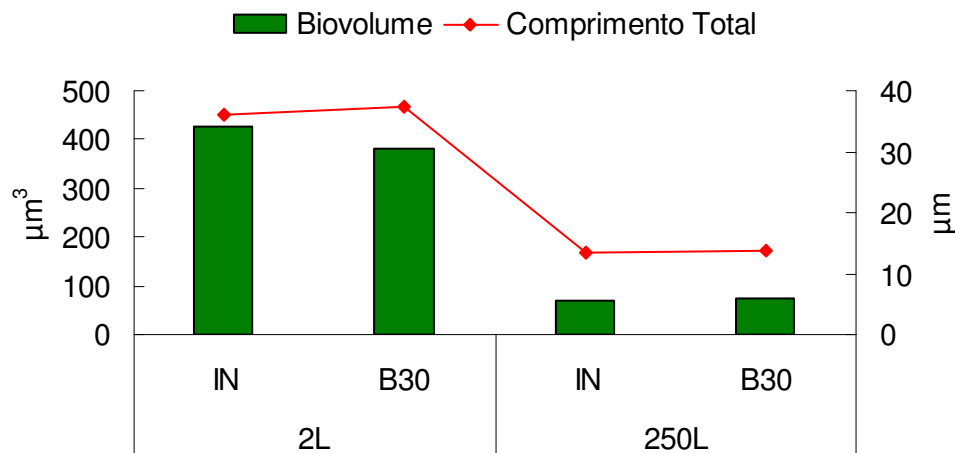


Figura 3. Características biológicas da alga *Ankistrodesmus gracilis* cultivada em 2L e 250L nos meios “*in natura*” (IN) e biodigerido em 30 dias (B30).

Os valores de proteína encontrados neste estudo estiveram acima de 30% de peso seco, com exceção do meio IN em 2L (19,3%) (Tabela 2) sendo significativo ($p < 0,05$) somente no meio B30 variando de 30,24% a 36,56%. BROWN et al., (1997) também observaram níveis de proteína acima de 30% de peso seco atribuindo estes valores à aeração do meio.

O peso seco celular varia tanto em função da fonte de nitrogênio como nas fases de crescimento. No caso de *A. gracilis* as células cultivadas no meio IN em 2L foi mais elevado ($85,0 \text{ pg.cel.}^{-1}$) quando comparado com o B30 no mesmo volume ($30,9 \text{ pg.cel.}^{-1}$), porém em larga escala (250L) o B30 ($70,8 \text{ pg.cel.}^{-1}$) foi mais elevado (Tabela 2).

Esses resultados foram superiores aos encontrados por SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA (1993) trabalhando com *A. gracilis* utilizando o meio CHU_{12} ($1,40 \text{ pg.célula}^{-1}$). Em contra partida, HARDY & CASTRO (2000) utilizando meio de cultura NPK (20:5:20 g.l^{-1}) para o cultivo de *A. gracilis* obtiveram resultados de peso seco superiores $125,0 \pm 13,1 \text{ pg.célula}^{-1}$ aos encontrados neste estudo.

Tabela 2. Composição química da alga *Ankistrodesmus gracilis* cultivada em 2L e 250L nos meios “*in natura*” (IN) e biodigerido em 30 dias (B30).

Características	2L		250L	
	IN	B30	IN	B30
Cinzas (pg.cél.⁻¹)	7,53 ± 1,72 ^a	3,20 ± 9,37 ^a	4,21 ± 3,20 ^b	3,36 ± 2,06 ^b
Peso Seco (pg.cél.⁻¹)	85,0 ± 1,49 ^a	30,9 ± 4,5 ^a	24,6 ± 3,37 ^a	70,8 ± 4,28 ^a
Fibra Bruta (% de PS)	15,77 ± 0,91 ^a	14,32 ± 0,91 ^a	21,43 ± 4,29 ^a	12,03 ± 8,24 ^a
Proteína Bruta (% de PS)	19,29 ± 0,5 ^a	30,24 ± 0,9 ^a	33,73 ± 2,7 ^a	36,56 ± 1,74 ^b
Lipídeo (% de PS)	16,98 ± 0,7 ^a	20,49 ± 2,0 ^a	7,97 ± 1,3 ^b	8,53 ± 1,01 ^b

As letras a e b, indicadas em duas das colunas, não coincidentes na mesma linha, representam diferenças significativas de $p < 0,05$. PS = Peso Seco.

NAYAR et al. (1998) avaliando a qualidade nutricional de *Chlorella vulgaris* utilizada como alimento vivo na aquicultura, verificaram níveis de proteína bruta e lipídeo ao redor de 12,2% e 5,4% respectivamente, inferiores aos obtidos neste estudo que variou de 19% a 33% em IN e 30% a 36% em B30 (Tabela 2).

O teor de fibra, constitui o resíduo orgânico insolúvel geralmente considerado como carboidrato não disponível numa dieta ou alimento, apresentando valores variando de 15,77% a 21,43% no meio IN e 12,03% a 14,32% em B30 (Tabela 2) sendo maiores do que os obtidos pela FAO (1983) para *Chlorella vulgaris* (8,0%).

Não foi observado a presença de coliformes fecais nos dois meios, sendo detectado coliformes totais na proporção de $6,0 \times 10^2$ e $5,1 \times 10^2$ NMP.mL⁻¹ para IN e B30, respectivamente ao final do experimento. Houve uma diferença considerável no número de unidade formadora de colônia entre o início e o final do experimento, sendo representadas pelos mesófilos com maior número de colônias no meio IN, apresentando uma variação de $1,9 \times 10^2$ a 8×10^3 UFC.mL⁻¹ e no B30 de $6,9 \times 10^3$ a $3,1 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹. Este aumento pode estar associado ao uso de culturas não axênicas e contaminação das condições do próprio laboratório. Sendo assim, a solução de cultivo apresentou o número mais provável de coliformes totais compatível com a classe 2 que corresponde a água destinada para aquicultura (RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, 2005).

Segundo LUCAS-JUNIOR (1994) o número mais provável de coliformes em dejetos de suínos é da ordem de $3,3 \times 10^6$ /g (coliformes fecais) e $8,9 \times 10^9$ /g (coliformes totais), sendo estes números superiores aos encontrados neste trabalho.

A qualidade da água do meio de cultivo é de fundamental importância no desenvolvimento e crescimento de organismos tais como temperatura, luz, oxigenação, entre outros. Foram observados altos valores de amônia, fósforo total e ortofosfato no meio de cultivo, associados à composição do esterco suíno (Tabela 4).

Entre os diversos componentes do meio de cultura a fonte ou concentração de nitrogênio pode afetar o crescimento e composição bioquímica das microalgas em cultivo, atingindo diretamente a produtividade e composição bioquímica da biomassa obtida (MOLINA et al., 1994).

Estudos prévios (BECKER, 1988; FIDALGO, 1995) mostraram algumas variações na composição bioquímica relacionando o aumento do teor de carboidratos e lipídios com a diminuição da proteína em meios de cultura com baixas concentrações de nitrogênio e fósforo. Neste estudo as baixas concentrações de nitrogênio e fósforo observadas no volume de 250L propiciaram teores de proteína mais elevados e de lipídio mais baixo, quando comparados ao volume de 2L, cujas concentrações de nitrogênio e fósforo foram extremamente elevadas (Tabelas 2 e 4).

Tabela 4. Características hidrológicas dos meios de cultivo “*in natura*” (IN) e biodigerido em 30 dias (B30) para o crescimento de *Ankistrodesmus gracilis*.

Características Hidrológicas	2L		250L	
	IN	B30	IN	B30
Temperatura da água (°C)	23,00 ± 2,25 ^a	21,14 ± 1,12 ^a	19,17 ± 2,32 ^b	20,00 ± 1,36 ^b
pH	7,21 ± 0,21 ^a	6,86 ± 0,45 ^a	6,29 ± 0,29 ^b	6,94 ± 0,31 ^b
Condutividade (µS.cm⁻¹)	73,48 ± 6,38 ^a	63,94 ± 9,90 ^a	59,54 ± 33,20 ^a	96,00 ± 58,87 ^a
Alcalinidade (mg.Γ¹)	43,81 ± 4,38 ^a	34,48 ± 8,17 ^a	34,39 ± 4,24 ^b	32,42 ± 13,17 ^b
OD (mg.Γ¹)	7,16 ± 0,77 ^a	7,00 ± 1,72 ^a	10,15 ± 2,93 ^b	8,99 ± 3,62 ^b
Carbonato (mg.Γ¹)	0,043 ± 0,221 ^a	0,018 ± 0,001 ^b	0,004 ± 0,002 ^b	0,019 ± 0,014 ^b
Bicarbonato (mg.Γ¹)	54,54 ± 7,50 ^a	42,02 ± 9,98 ^b	41,94 ± 5,18 ^b	39,50 ± 16,05 ^b
CO₂ livre (mg.Γ¹)	6,77 ± 3,43 ^a	14,98 ± 21,46 ^a	42,62 ± 26,95 ^b	10,88 ± 11,91 ^a
Nitrato (µg.Γ¹)	6,06 ± 5,16 ^a	4,80 ± 2,10 ^a	19,60 ± 1,64 ^a	45,25 ± 76,67 ^b
Nitrito (µg.Γ¹)	**	**	1,58 ± 1,66 ^a	2,53 ± 2,32 ^a
Amônia (µg.Γ¹)	410,02 ± 298,36 ^a	231,7 ± 102,1 ^b	5,49 ± 4,80 ^a	39,04 ± 22,62 ^a
Ortofosfato (µg.Γ¹)	494,62 ± 249,49 ^a	238,2 ± 144,8 ^a	4,27 ± 2,11 ^b	3,83 ± 1,28 ^b
Fósforo Total (µg.Γ¹)	507,45 ± 213,11 ^a	146,90 ± 148,80 ^b	22,67 ± 19,14 ^a	65,38 ± 12,60 ^a
DBO₅ (mg.Γ¹)	11,35 ± 0,60 ^a	8,67 ± 1,46 ^b	10,58 ± 2,43 ^a	9,33 ± 3,17 ^b
Clorofila-a (mg.Γ¹)	3,90 ± 5,68 ^a	7,11 ± 6,15 ^b	1,04 ± 0,11 ^a	0,60 ± 0,11 ^a

** Não detectado pelo método. As letras minúsculas na mesma coluna apresentam diferenças significativas de p<0,05. OD: Oxigênio Dissolvido e DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxigênio.

Comparando as concentrações de amônia na composição do meio a base de esterco suíno, os resultados obtidos foram baixos, o fator luz afetou a disponibilidade

deste componente no meio visto que, em geral *A. gracilis* em meio CHU₁₂ e NPK é cultivada ao redor de $21,48 \mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (SIPAÚBA-TAVARES et al., 1999), com esterco suíno a intensidade foi reduzida a $13,5 \mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, pois rapidamente entrava na fase senescente quando colocada em intensidades mais elevadas. Neste caso, como o rendimento algal foi satisfatório e, sendo a luz um dos custos mais elevados no cultivo (BROWN et al., 1997), o uso de esterco suíno como meio de cultura possui um ponto positivo em relação ao custo benefício da produção.

A aeração constante do meio promoveu altas concentrações de oxigênio dissolvido acima de $7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, promovendo o processo de nitrificação, com ausência total de nitrito no volume de 2L, ocorrendo o contrário no volume de 250L apresentando valores de $1,58$ e $2,53 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ no meio IN e B30, respectivamente. A condutividade elétrica não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os meios utilizados com concentrações acima de $59 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, devido a presença de matéria orgânica no meio de esterco (Tabela 4).

Os valores dos carbonos inorgânicos apresentaram oscilações entre os tratamentos, sendo o bicarbonato a forma predominante. O CO_2 livre do meio apresentou uma relação com o pH, obtendo a menor concentração ($6,77 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) em pH alcalino no meio IN em 2L (Tabela 4). Os valores de bicarbonato e CO_2 livre foram inferiores aos encontrados por CARVALHO (1998) no cultivo de *A. gracilis* com esterco de aves “*in natura*” e biodigerido em diferentes tempos de degradação.

A variação da concentração da clorofila-*a* acompanhou a curva de crescimento de *A. gracilis* com as menores concentrações no meio B30 em 250L e a maior no B30 em 2L (Tabela 4). A DBO_5 do meio foi relativamente baixa em função da aeração do meio e baixas concentrações de bactérias (Tabela 4).

O meio a base de esterco suíno testado, propiciou resultados satisfatórios em relação ao valor nutricional e crescimento quando comparado a outros meios alternativos para cultivo de *A. gracilis* como: NPK (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993; SIPAÚBA-TAVARES et al., 1999), urina humana (ADAMSSOM, 2000), esterco de poedeiras (CARVALHO, 1998), entre outros.

A eficiência do esterco suíno como adubo no cultivo de plâncton em tanques externos já foi constatado por SANTEIRO & PINTO-COELHO (2000), porém o uso de meio de cultura à base deste produto para cultivo em larga escala de alga clorofícea em laboratório é uma novidade, com possibilidade de ser fornecido como alimento vivo de alta qualidade para larvas e alevinos de peixes.

Os resultados mostraram que o esterco suíno pode ser utilizado como fonte alternativa de meio de cultura para *A. gracilis* sendo que o esterco com 30 dias de fermentação proporcionou melhor crescimento algal, em volume de 2L, demonstrando que o processo de biodigestão anaeróbia propiciou maior disponibilidade de nutrientes do resíduo para as algas. Volumes maiores ($\geq 250L$) são utilizados na produção de alimento vivo para larvas e alevinos de peixes como o nosso objetivo é produzir alimento de alta qualidade em larga escala como aporte nutricional para larvas de peixes ou organismos zooplancônicos, o meio utilizado apresentou bons resultados no volume de 250L principalmente o meio IN, em função de possuir maior quantidade de nutrientes do que o B30, porém os coliformes fecais e microrganismos mesófilos foram maiores no meio IN. As condições da água de cultivo no meio B30 em 250L apresentaram concentrações de amônia, nitrato e fósforo maiores que o meio IN com elevada condutividade, no entanto o teor de clorofila-a foi mais baixo devido ao decréscimo no crescimento e com isto disponibilizando os nutrientes para o meio.

O consumo de energia para o cultivo é um fator de alto empreendimento, no caso do meio a base de esterco suíno o requerimento de luz foi bem inferior ao meio usualmente utilizado neste procedimento (NPK), assim, estudos devem ser desenvolvidos para a obtenção de uma tecnologia de produção em massa dessa alga, utilizando esterco suíno como meio de cultura e avaliando o custo-benefício deste empreendimento.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que:

1. O meio a base de esterco suíno, “*in natura*” e biodigerido promoveu crescimento satisfatório da alga, *Ankistrodesmus gracilis*.
2. A luz foi o fator principal afetando o crescimento da alga, visto que em recipientes transparentes o rendimento foi bem superior, quando cultivado em tanques de fibra de vidro.
3. O esterco suíno tratado em biodigestor (B30) promoveu maior rendimento da alga em 2L do que em volume de 250L, demonstrando que o processo de biodigestão anaeróbia disponibilizou nutrientes do resíduo para a alga.
4. Não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) em termos de valor nutricional entre os dois meios “*in natura*” e biodigerido em 30 dias.
5. Devido à autoclavagem dos meios, não foi observada a presença de coliformes fecais, apresentando, no entanto, baixas concentrações de coliformes totais, indicando que a metodologia empregada no preparo do meio foi adequada.
6. Os meios “*in natura*” (IN) e biodigerido (B30) propiciaram altas concentrações de amônia, fósforo total e ortofosfato no meio de cultivo, associados à composição química do esterco suíno.
7. O uso de esterco suíno como meio para cultivo de *A. gracilis*, apresentou um ponto positivo em relação ao custo-benefício da produção, visto que, foi

utilizada intensidade de luz reduzida ao redor de $13,5 \mu\text{E}.\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$, com rendimento satisfatório.

REFERÊNCIAS

ADAMSSON, M. Potential use of human urine by greenhouse culturing of microalgae (*Scenedesmus acuminatus*), zooplankton (*Daphnia magna*) and tomatoes (*Lycopersicon*). **Ecological Engineering**, v. 16, p. 243-254, 2000.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standart methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington, 1998.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 15th. ed., Washington, 1990.

BECKER, E. W. Micro-algae for human and animal consupcion. In: **Micro-algal Biotechnology**. Cambridge University Press. 1988, p. 222-256.

BOTTREL, H. H.; DUNCAN, A.; GLIWICZ, Z.M.; GRYGIEREK, E.; HERZIG, A.; HILLBRICH-ILKOWSKA, A.; KURASAWA, H.; LARSSON, P.; WEGLENSKA, T. A review of problems in zooplankton production studies. **Norw. J.** v. 24, p.419-456, 1976.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J. K.; DUSTAN, G. A. Nutritional properties of microalgae for marine culture. **Aquaculture**, v. 151, p.315-331, 1997.

CARVALHO, D. D. G. **Avaliação da qualidade de água fertilizada com esterco de aves de postura in natura e tratado em biodigestores em diferentes fases de fermentação**. 1998. 112 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Zootecnia) -

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal- SP, 1998.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Padrões de Qualidade para os Parâmetros Monitorados na Rede de Monitoramento, segundo Resolução CONAMA 357/05, 2005.** Disponível em:<<http://www.cetesb.sp.gov.br/qualidadederios/anexo2>>. Acesso em 19/07/2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Fish feeds and feeding in developing countries.** Rome, 1983.

FIDALGO, P. **Variabilidad bioquímica de microalgas marinas en cultivo en función de la fuente de nitrógeno.** 1995. Tesis de Doctorado. Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidade de La Coruña, Espanha, 1995.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater.** London: Blackwell Sci. Publ, 1978.

HABIB, M. A. B.; YUSOFF, F. M.; PHANG, S. M.; ANG, K. J.; MOHAMED, S. Nutritional values of chironomid larvae grown in palm oil mill effluent and algal culture. **Aquaculture** v. 158, p.95-105, 1997.

HARDY, E. R.; CASTRO, J. G. D. Qualidade nutricional de três espécies de clorófitas cultivadas em laboratório. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 30, n. 1, p. 39-47, 2000.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In Grassno F, K. (Ed.). **Methods of seawater analysis**. New York: Verlag Cemie, Weinhein, 1976.

LIMA, M. A. Agropecuária brasileira e as mudanças climáticas globais: caracterização do problema, oportunidades e desafios. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 451-472, 2002.

LUCAS-JUNIOR, J. **Algumas considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios**. 1994. 137 f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water analysis**: some revised methods for limnologists. London: Scient, 1978.

MESECK, S. L.; ALIX, J. H.; WIKFORS, G. H. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chui* (PLY429). **Aquaculture**, v. 246, p. 393-404, 2005.

MOLINA, E.; SANCHEZ, J. A.; GARCIA, F.; FERNANDEZ, J. M.; ACIÉN, F. E. Effect of growth rate of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid content of *Isochrysis galbana* in chemostat culture. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 41, p. 23-27, 1994.

NAYAR, S.; HEGDE, S.; RAO, P. S.; SUDHA, P. Live organisms as feed in aquaculture. **INFOFISH International**, Malásia, v. 4, p. 36-40, 1998.

NUSH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Archiv für Hydrobiology**, v. 14, p.14-36, 1980.

ORTOLANI, A. F.; BENINCASA, M.; LUCAS-JUNIOR, J. **Biodigestores rurais modelos indiano, chinês e batelada**. Jaboticabal: FUNEP, 1991.

PERDOMO, C. C.; LIMA, G. J. M. M.; NONES, K. Produção de suínos e meio ambiente. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA SUINOCULTURA, 9, 2001. Gramado. **Anais....**, p.8-24.

RODRIGUES, J. B. R.; BELLI FILHO, P. Eficiência da microalga *Chlorella minutissima* no tratamento de resíduos de suinocultura enriquecido com uréia. **Biotemas**, Florianópolis, v. 17, n. 2, p. 7-26, 2004.

SANTEIRO, R. M.; PINTO-COELHO, R. M. Efeitos de fertilização na biomassa e qualidade nutricional do zooplâncton utilizado para alimentação de alevinos na estação de hidrobiologia e piscicultura de Furnas, MG. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 3, p. 707-716, 2000.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1995. (Boletim CAUNESP, 1).

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I – algas clorofíceas. **Biotemas**, Florianópolis, v. 6, n. 1, p. 93-106, 1993.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H., PELICIONI, L. C.; OLIVERA, A. Use of inorganic (NPK) and the CHU₁₂ medium for cultivation of *Ankistrodesmus gracilis* in laboratory. **Brazilian Journal of Ecology**, Rio Claro, v. 01, p.10-15, 1999.

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

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BACHION, M. A. Population growth and development of two species of Cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*. **Brazilian Journal Biology**, Rio Claro, v. 62, n. 4, p. 701-711, 2002.

SOEDER, C. J. Massive cultivation of microalgae: results and prospects. **Hidrobiologia**, v. 72, p. 197-209, 1980.

VOLLENWEIDER, R. A. **A manual on the methods for measuring primary production in aquatic environments**. Oxford: Blackwell Scientific Public, 1974.