

## Nutrient removal using two species of mangrove (*Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa*) in experimental shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds

### Remoción de nutrientes con dos especies de mangle (*Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*) en estanques experimentales de cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*)

L Moroyoqui-Rojo<sup>1,2</sup>, FJ Flores-Verdugo<sup>2</sup>, G Hernández-Carmona<sup>1\*</sup>, M Casas-Valdez<sup>1</sup>, R Cervantes-Duarte<sup>1</sup>, EH Nava-Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, CICIMAR-IPN, Av. Instituto Politécnico 9 Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, Apartado postal 592, CP 23096, La Paz, BCS, México.

<sup>2</sup> Laboratorio de Ecosistemas Costeros, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad Académica Mazatlán, Av. Joel Montes Camarena s/n, Col. Playa Sur, Apartado postal 811, CP 82000, Mazatlán, Sinaloa, México.

\* Corresponding author. E-mail: gcarmona2007@gmail.com; gcarmona@ipn.mx

**ABSTRACT.** The nutrient removal capacity of two species of mangrove (*Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa*) was assessed in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds. One pond contained *R. mangle* seedlings and another *L. racemosa* seedlings, while a third (control pond) was left without seedlings. Treatment ponds contained 20 floating platforms with 720 mangrove seedlings. Water was pumped from the estuary into the ponds. Nutrient ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , and  $\text{PO}_4^{3-}$ ) concentrations from the pond effluents were analyzed during the water exchange every 10 days. The results showed that *L. racemosa* removed 83.4% of dissolved inorganic nitrogen (DIN) and 45% of  $\text{PO}_4$  and *R. mangle* removed 79% of DIN and 40% of  $\text{PO}_4$ , while 30% of DIN and 23% of  $\text{PO}_4$  was removed in the control pond. The flux of nutrients from the influent water to the ponds was 7269 g of N and 3095 g of P. In the ponds with mangroves, the nutrients were reduced to 1018–1071 g of N and 609–724 g of P. In the control pond, the effluent water nutrient concentrations were 5564 g of N and 1583 g of P. The nutrients accumulated in the mangrove tissue were 18,014–16,711 g of N and 5976–5832 g of P. Volatilization of ammonium and adsorption of phosphorus by sediments were 17,298–18,570 g of N and 6249–6268 g of P, and in the control pond, 30,022 g of N and 10,922 g of P, respectively. The final length for *L. racemosa* was 48 cm and the root length was 54 cm. For *R. mangle*, the final length was 38 cm and the root length was 46 cm. Shrimp survival was 70%, with individuals reaching 10.4 g in weight and 12.2 cm in length. We concluded that the nutrient removal percentage in ponds with mangrove seedlings was higher than in the pond without seedlings, improving water quality and reducing nutrients in the effluent.

**Key words:** mangrove, nutrients, water quality, hydroponic, aquaculture effluent.

**RESUMEN.** Se evaluó la capacidad de remoción de nutrientes de dos especies de mangle (*Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*) en estanques de cultivo con camarón (*Litopenaeus vannamei*). Los estanques se sembraron con *R. mangle*, con *L. racemosa* y sin plántulas (control). Cada estanque contenía 20 plataformas flotantes con 720 plántulas. El agua se bombeó del estuario hacia los estanques. Se analizó la cantidad de nutrientes ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ ) de los efluentes durante el recambio de agua, cada 10 días. Los resultados mostraron que *L. racemosa* removió 83.4% del nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y 45% de  $\text{PO}_4$ , y *R. mangle* removió 79% del NID y 40% de  $\text{PO}_4$ . En el estanque control el NID fue 30% y el  $\text{PO}_4$  fue 23%. La concentración de nutrientes en el agua de entrada fue de 7269 g de N y 3095 g de P. En los estanques con mangle los nutrientes disminuyeron a 1018–1071 g de N y 609–724 g de P. En el estanque control la concentración de nutrientes en el agua de salida alcanzó hasta 5564 g de N y 1583 g de P. Los manglares acumularon nutrientes en sus tejidos, entre 18,014 y 16,711 g de N y entre 5976 y 5832 g de P. La volatilización de amonio y la adsorción por los sedimentos de fósforo variaron de 17,298 a 18,570 g de N y de 6249 a 6268 g de P, respectivamente. En el estanque control éstas fueron 30,022 g de N y 10,922 g de P. La longitud final de *L. racemosa* fue de 48 cm y 54 cm de raíz y de *R. mangle*, 38 cm y 46 cm de raíz. La supervivencia del camarón fue de 70%, y los individuos alcanzaron un peso de 10.4 g y una longitud de 12.2 cm. Se concluye que el porcentaje de remoción fue mayor en los estanques con plántulas de mangle que sin plántulas, lo que mejoró la calidad del agua y redujo los nutrientes en el efluente.

**Palabras clave:** mangle, nutrientes, calidad de agua, hidroponía, efluentes de acuacultura.

## INTRODUCTION

Shrimp aquaculture contributes about 43% (2.6 million tons) of the annual world shrimp production (~6 million tons), and represents the most important aquaculture activity in Mexico (CONAPESCA 2007, FAO 2009). One of the obstacles for shrimp aquaculture development is the impact on the environment of the effluents, which are a source of eutrophication (Primavera 2006). The main concern is the increase of nutrients (nitrogen and phosphorus) that can cause eutrophication. Of the total nitrogen introduced to the ponds to feed shrimp, 46.7% is converted to biomass and 53.3% is released to the environment. In the case of phosphorus, 20.4% is recovered as biomass and 79.6% is discharged to the sea (Páez-Osuna 2001). Biological processes such as submerged biofilters, trickling filters, rotating biological contactors, and fluidized bed reactors are employed for oxidation of organic matter or denitrification. These treatment methods have the disadvantage of producing sludge, requiring more energy and frequent maintenance. Freshwater wetlands are a viable technology to treat the wastewater from aquaculture and regulate water quality through biological processes (Van Rijn 1996); however, little is known about the seawater systems. Mangroves have special adaptations to stressful environments and a huge demand for nutrients because of rapid growth and high primary productivity, metabolism, and turnover (Ye *et al.* 2001).

The objective of this study was to determine the nutrient removal capacity of two species of mangrove (*Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa*) to improve the water quality in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds, in terms of residual nutrients that may be discharged into the estuary.

## MATERIAL AND METHODS

Propagules of red (*R. mangle*) and white (*L. racemosa*) mangrove were collected from Urías Lagoon, Mazatlán (Sinaloa, Mexico; 23°13'–23°11' N, 106°23'–106°21' W). Eight hundred red mangrove hypocotyls were placed in buckets with water for 12 months to allow the growth of the root system. Eight hundred white mangrove seeds were sown in polyurethane trays (68 × 34 cm) for germination, using dolomite (30%) and vermiculite (70%) as substrate. The trays were placed in 600-L water tanks during 12 months. Three experimental ponds of 10 × 10 m (100 m<sup>2</sup>, mean depth of 1 m) were constructed using a mechanical digger, in a seasonal floodplain some 50 m from Urías Lagoon. These ponds simulated a semi-intensive shrimp farm. The water was drawn through a 2-inch hose and sent to the ponds through a 1.5-inch hose. The water to the ponds passed through a filter to detain any organisms (fish larvae, crustaceans, etc.) that could compete with the shrimp in the ponds. The gates were made of PVC pipes with a 4-inch diameter valve, where the wastewater was drained at the time of the water exchange.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de camarón contribuye con aproximadamente 43% (2.6 millones de toneladas) de la producción anual de camarón a nivel mundial (~6 millones de toneladas) y representa la actividad acuacultural más importante en México. (CONAPESCA 2007, FAO 2009). Uno de los obstáculos para el desarrollo de la acuicultura del camarón es el impacto que ésta tiene en el medio ambiente por los efluentes, que son una fuente de eutrofización (Primavera 2006). La principal inquietud es el aumento de nutrientes (nitrógeno y fósforo) que pueden causar la eutrofización. Del total del nitrógeno introducido en los estanques para alimentar a los camarones, el 46.7% se convierte en biomasa y el 53.3% es liberado al medio ambiente. En el caso del fósforo, el 20.4% se recupera como biomasa y el 79.6% se descarga en el mar (Páez-Osuna 2001). Los procesos biológicos tales como biofiltros sumergidos, filtros percoladores, contactores biológicos rotativos y reactores de lecho fluidizado se emplean para la oxidación de materia orgánica o la desnitrificación. Estos métodos de tratamiento tienen las desventajas de producir lodos, que requieren más energía y un mantenimiento frecuente. Los humedales de agua dulce son una tecnología viable para el tratamiento de aguas residuales procedentes de la acuicultura y la regularización de la calidad del agua a través de procesos biológicos (Van Rijn 1996). Sin embargo, poco se sabe acerca de los sistemas de agua de mar. Los manglares tienen adaptaciones especiales para ambientes estresantes y una gran demanda de nutrientes debido a un rápido crecimiento, una alta productividad primaria, un acelerado metabolismo y una alta tasa de retorno (Ye *et al.* 2001).

El objetivo de este estudio fue determinar la capacidad de eliminación de nutrientes de dos especies de mangle (*Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*) para mejorar la calidad del agua en estanques de cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*), en términos de los nutrientes residuales que podrían ser descargados al estuario.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron propágulos de mangle rojo (*R. mangle*) y mangle blanco (*L. racemosa*) en el estero de Urías, Mazatlán (Sinaloa, México) (23°13'–23°11' N y 106°23'–106°21' W). Se colocaron 800 hipocótilos de mangle rojo en baldes con agua durante 12 meses para permitir el crecimiento del sistema radicular. Se sembraron 800 semillas de mangle blanco en bandejas de poliuretano (68 × 34 cm) para su germinación, utilizando como sustrato dolomita (30%) y vermiculita (70%). Las bandejas se colocaron en tanques de 600 L de agua durante 12 meses. Se construyeron tres estanques experimentales de 10 × 10 m (100 m<sup>2</sup>, con una profundidad promedio de 1 m), utilizando una excavadora mecánica, en una llanura de inundación estacional localizada a 50 m del estero de Urías. Los estanques simulaban una granja semi-intensiva de camarón. El agua se bombeaba a través de una

Forty-one square wood platforms were constructed on which 7-cm-thick polyurethane germinating trays ( $68 \times 34$  cm) were placed. One pond contained seedlings of *R. mangle*, a second pond contained seedlings of *L. racemosa*, and a third pond was left without seedlings (control pond). The floating platforms were placed on the surface water at the periphery of the pond. Each side of the pond contained five platforms, 20 per pond, with 36 seedlings per platform, so that each pond contained a total of 720 mangrove seedlings. Both mangrove species were one year of age at the starting time. The length of the seedling and of the root system was recorded from November 2007 to December 2008.

A total of 3600 white shrimp (*L. vannamei*) postlarvae (PL-17, 0.002 g mean weight) were acclimated to salinity of 24 to 26. Each pond was stocked at a density of 10 PL m<sup>-2</sup>. During culture, shrimp were fed three times daily (08:00, 14:00, and 20:00) using a commercial feed (Camaronina 35) composed of 8% lipids and 35% proteins. During the first two weeks, milled food was supplied by spreading across the pond. In the third week, coarsely-milled food was supplied. From the fourth week on, whole food was supplied as pellets. Part of the food was spread across the pond and the rest was placed on food trays. Three circular feed trays (90 cm diameter) made of plastic mosquito netting were used for each pond. One week before stocking, each pond was fertilized with a liquid fertilizer (Fertisol, 20% nitrogen, 8% phosphorus) at a rate of 700 mL per pond. During the culture cycle, additional fertilizer was applied when water transparency in the pond was increased (>40 cm Secchi depth), suggesting a decrease in primary productivity. The first water exchange was carried out 10 days after introducing the shrimp. The water exchange was carried out during 24 h at 1.2 L s<sup>-1</sup>, discharging 4320 L of water. The ponds were refilled with a flow of 2 L s<sup>-1</sup> during one hour, reaching 7200 L of new water. This procedure was repeated every 10 days during the culture cycle. The shrimp population was sampled using a fish net to determine the number, length, and weight of the shrimp. Mean shrimp weight was determined at stocking and harvesting time. A subsample of 60 shrimp was taken from each pond every 10 days. The total body weight and length of the shrimp were measured. The feed conversion ratio (dry weight of the total feed offered/total wet weight of shrimp produced) was 0.8:1.05. A total of 43.2 kg of balanced food was provided per pond throughout the culture cycle. The duration of the study was 101 days (September–December 2008).

Water temperature was monitored during the morning (08:00) and evening (16:00) using a mercury thermometer. Salinity was determined daily with an Atago refractometer (10:00). Oxygen concentrations were measured three times per day (08:00, 16:00, and 03:00) using an oxymeter (YSI-DO). Water samples were collected from the ponds' outflow at the outlet valve as they were filled with Urias Lagoon water (pond water exchange). At the same time, Urias Lagoon water was sampled 20 cm below the surface. The

manguera de 2 pulgadas y se enviaba hacia los estanques a través de una manguera de 1.5 pulgadas. El agua que se bombeaba hacia los estanques pasaba por un filtro para detener a los organismos (larvas de peces, crustáceos, etc.) que pudieran competir con los camarones de los estanques. Las compuertas se construyeron con tubos de PVC de 4 pulgadas de diámetro en la válvula, donde se drenaba el agua residual al momento del intercambio de agua. Se construyeron 41 plataformas cuadradas de madera donde se colocaron unas bandejas de poliuretano ( $68 \times 34$  cm) de 7 cm de espesor. Un estanque contenía semillas de *R. mangle*, un segundo plántulas de *L. racemosa* y el tercero se dejó sin manglares (estanque control). Las plataformas flotantes fueron colocadas en la superficie del agua, en la periferia del estanque. Cada lado del estanque contenía cinco plataformas, 20 por estanque, con 36 plantas por plataforma, de modo que cada estanque contenía un total de 720 plántulas de mangle. La edad de las dos especies de mangle era de un año al inicio del experimento. La longitud de las plántulas y del sistema radicular se midió de noviembre de 2007 a diciembre de 2008.

Un total de 3600 postlarvas (PL) de camarón blanco (*L. vannamei*) (PL-17, 0.002 g de peso promedio) fueron aclimatadas a una salinidad de 24 a 26. Cada estanque se llenó a una densidad de 10 PL m<sup>-2</sup>. Durante el cultivo, los camarones se alimentaron tres veces al día (08:00, 14:00 y 20:00) con un alimento comercial (Camaronina 35) compuesto de 8% de lípidos y 35% de proteínas. Durante las dos primeras semanas se les suministró comida molida esparcida por todo el estanque. La tercera semana se cambió la comida a molido grueso. A partir de la cuarta semana, se suministró la comida en forma peletizada. Una parte del alimento se esparció en el estanque y el resto se colocó en bandejas de comida. Para cada estanque, se utilizaron tres bandejas de alimento circulares (90 cm de diámetro) con malla mosquitera de plástico. Una semana antes de la siembra, cada estanque se fertilizó con 700 mL de un fertilizante líquido (Fertisol, 20% de nitrógeno y 8% de fósforo). Durante el ciclo de cultivo, se adicionó más fertilizante cuando la transparencia del agua se incrementó (> 40 cm de profundidad Secchi), ya que sugería una disminución de la productividad primaria. El primer intercambio de agua se realizó 10 días después de haber introducido los camarones. El intercambio de agua se llevó a cabo durante 24 h a una velocidad de 1.2 L s<sup>-1</sup>, descargando 4320 L de agua. Los estanques se llenaron con un flujo de 2 L s<sup>-1</sup> durante una hora, hasta alcanzar 7200 L de agua nueva. Este procedimiento se repitió cada 10 días durante el ciclo de cultivo. La población de camarones se muestreó mediante una red de pesca para determinar el número, la longitud y el peso de los camarones. El peso promedio del camarón se determinó al momento de la siembra y durante la cosecha. Se tomó una submuestra de 60 camarones de cada estanque cada 10 días. Se midió el peso total del cuerpo y la longitud de los camarones. La tasa de conversión alimenticia (peso seco del total de alimento añadido/peso húmedo total de camarón producido) fue de 0.8–1.05. En

sampling schedule was every 10 days, with samples taken over 24 h at 00:00, 08:00, 16:00, and 24:00. All samples were stored in 500-mL plastic bottles and transported to the laboratory. Samples were filtered (Whatmann GF/F) to determine the dissolved nutrients (nitrate,  $\text{NO}_3^-$ ; nitrite,  $\text{NO}_2^-$ ; and orthophosphate,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) was analyzed using 10 mL of unfiltered water within 24 h. The analysis was conducted according to the methods described by Strickland and Parsons (1972). All analyses were done in triplicate. The three inorganic nitrogenous forms ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) were combined to determine dissolved inorganic nitrogen (DIN) and orthophosphate.

To calculate nutrient removal efficiency, the average entry and exit nutrient concentrations in the ponds were computed according to the equation described by Kadlec and Knight (1996) and IWA (2000). Nitrite (diazotization method), nitrate (cadmium reduction followed by diazotization), phosphate (phosphomolybdenum blue procedure), and ammonium were determined by the phenate technique (Solórzano 1969). Samples were read using a Thermo Spectronic GENESYS 2 spectrophotometer. Fluxes of nutrients were estimated in the constructed wetland for one cycle of production, which included shrimp feeding, fertilization, stocking of shrimp, mangrove seedlings, harvesting, water exchange, filling, and drainage. Nitrogen and phosphorus were determined following the methods described by Páez-Osuna *et al.* (1991, 1993). The nutrients in root tissues and seedling foliage were measured by Kjeldahl acid digestion (Page 1982). Analyses of sediments with reactive nitrogen were made according to Stumm and Morgan (1981) and the spectrophotometric molybdenum blue method (Strickland and Parsons 1972). The influent and effluent water quality of the ponds was compared. Mean values of initial and final body weight, growth, survival, feed conversion ratio, and production of *L. vannamei* were computed (Páez-Osuna *et al.* 1997, Casillas-Hernández *et al.* 2007).

Due to economic constraints, it was not possible to build replicates of the ponds. Hence, the samples obtained during the experiment could not be analyzed statistically using analysis of variance to evaluate the differences between treatments. Instead, we show the mean data ( $\pm$  one standard deviation) and the evidence obtained to show the changes in nutrients during the experiment.

## RESULTS

Mean nutrient concentrations were lower in the ponds with mangroves than in the control pond. Similar values were obtained when the ponds containing mangrove seedlings were compared (fig. 1). The mean percentage of DIN removal was higher in the ponds with seedlings of *L. racemosa* (83%) and *R. mangle* (79%), than in the control pond (30%) during the shrimp culture cycle. Small differences were found in each of the ponds during the sampling months (fig. 2). The mean percentage of orthophosphate

total se suministraron 43.2 kg de alimento balanceado por estanque en todo el ciclo de cultivo. La duración del estudio fue de 101 días (septiembre–diciembre de 2008).

La temperatura del agua se registró en la mañana (08:00) y en la tarde (16:00) con un termómetro de mercurio. La salinidad se midió diariamente (10:00) con un refractómetro Atago. La concentración de oxígeno se midió tres veces al día (08:00, 16:00 y 03:00) con un oxímetro (YSI-DO). Se recolectaron muestras de agua de los efluentes de los estanques en la válvula de salida a medida que se llenaban con agua del estero de Urías (agua de recambio de los estanques). Al mismo tiempo, se tomaron muestras de agua del estero de Urías, a 20 cm por debajo del nivel de agua. El programa de muestreo se realizó cada 10 días tomando muestras en un periodo de 24 h, a las 00:00, 08:00, 16:00 y 24:00. Todas las muestras se almacenaron en botellas de plástico de 500 mL y se transportaron al laboratorio. Las muestras se filtraron (Whatmann GF/F) para determinar los nutrientes disueltos (nitrito,  $\text{NO}_2^-$ ; nitrito,  $\text{NO}_3^-$ ; y ortofosfato,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). El amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se analizó usando 10 mL de agua sin filtrar dentro de las primeras 24 h. El análisis se llevó a cabo de acuerdo con los métodos descritos por Strickland y Parsons (1972). Todos los análisis se realizaron por triplicado. Las tres formas orgánicas nitrogenadas ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ , y  $\text{NH}_4^+$ ) se combinaron para determinar el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y el ortofosfato.

Para calcular la eficiencia en la remoción de nutrientes, se calculó la concentración promedio de entrada y salida de nutrientes, de acuerdo con la ecuación descrita por la IWA (2000) y Kadlec y Knight (1996). Se determinó la concentración de nitrito (método de diazonización), nitrato (reducción de cadmio, seguida por diazonización), fosfato (procedimiento de azul de fosfomolibdeno) y amonio por la técnica de fenato (Solórzano 1969). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro Thermo Spectronic GENESYS 2. Se estimaron los flujos de nutrientes en el humedal artificial para un ciclo de producción, que incluyó la alimentación de los camarones, la fertilización, la siembra de camarón, los manglares, la cosecha de camarón, el recambio de agua, el llenado y el drenaje. El nitrógeno y el fósforo fueron analizados siguiendo los métodos descritos por Páez-Osuna *et al.* (1991, 1993). Los nutrientes en los tejidos de la raíz y el follaje de las plántulas se determinaron mediante la digestión ácida de Kjeldahl (Page 1982). Los análisis de sedimentos con nitrógeno reactivo se realizaron con el método de Stumm y Morgan (1981) y el método espectrofotométrico de azul de molibdeno (Strickland and Parsons 1972). Se comparó la calidad del agua del afluente y efluente de los estanques. Se calcularon los valores promedio del peso corporal inicial y final, el crecimiento, la supervivencia, la tasa de conversión alimenticia y la producción de *L. vannamei* (Páez-Osuna *et al.* 1997, Casillas-Hernández *et al.* 2007).

Debido a limitaciones económicas, no fue posible la construcción de réplicas de los estanques. En consecuencia, las muestras obtenidas durante el experimento no pudieron

removal in the ponds with *L. racemosa* (45%) and *R. mangle* seedlings (40%) was also higher than in the control pond (23%). In the three ponds, the mean was different over the sampling period (fig. 3).

The flux of nutrients from the influent water to the ponds was 7269 g of N and 3095 g of P. The input of these nutrients from shrimp food was 28,252 g of N and 9452 g of P. In the outlet water the total N-P in the *L. racemosa* pond was 1018 g of N and 609 g of P, while in the *R. mangle* pond it was 1071 g of N and 724 g of P. In the control pond, the nutrient accumulation was 5564 g of N and 1583 g of P. The concentration of nutrients in *L. racemosa* tissues was 18,014 g of N and 5976 g of P, and in *R. mangle* tissues it was 16,711 g of N and 5832 g of P. Volatilization of ammonium (17,298 g of N) and adsorption of phosphorus by sediments (6249 g of P) in the *L. racemosa* pond was an important output; in the *R. mangle* pond the values were 18,570 g of N and 6268 g P, while in the control pond the values were higher, 30,022 g of N and 10,922 g of P (table 1).

During the shrimp culture cycle, the length of *L. racemosa* increased from 37.7 to 88.2 cm, and the root from 39.5 to 53.8 cm. For *R. mangle*, the length increased from 28.1 to 36.6 cm and the root from 33 to 46 cm. The final mean and root lengths for *L. racemosa* were greater than for *R. mangle*. At the end of the culture cycle, the mean shrimp length was similar for all three culture ponds, increasing from 2.1 to 12.2 cm. Shrimp weight was also similar between ponds, increasing from 0.08 to 10.4 g at the end of the experiment. The shrimp survival rate was similar for the *L. racemosa* pond (76%), the *R. mangle* pond (70%), and the control pond (70%) (mean = 73%, table 2).

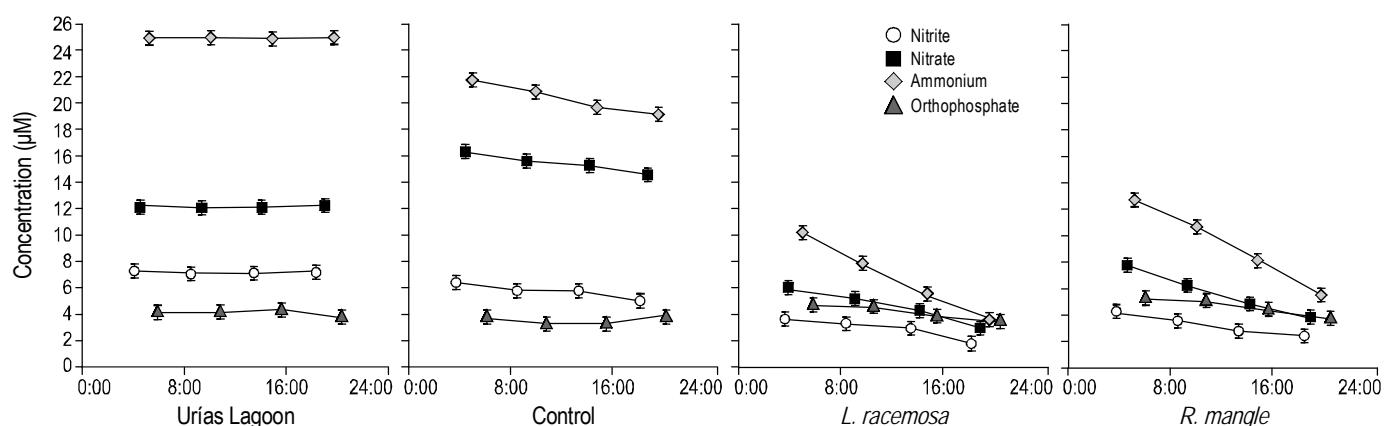
Salinities were similar among the lagoon (33.3–33.8), the control pond (32.4–33.2), and the two experimental treatment ponds with *L. racemosa* and *R. mangle* (32.1–32.8), and showed small variations during the experiment (table 3). Mean water temperature decreased gradually during the

ser analizadas estadísticamente mediante un análisis de varianza para evaluar las diferencias entre los tratamientos. En su lugar, se presentan los datos promedio ( $\pm$  una desviación estándar) y la evidencia obtenida para demostrar los cambios en los nutrientes durante el experimento.

## RESULTADOS

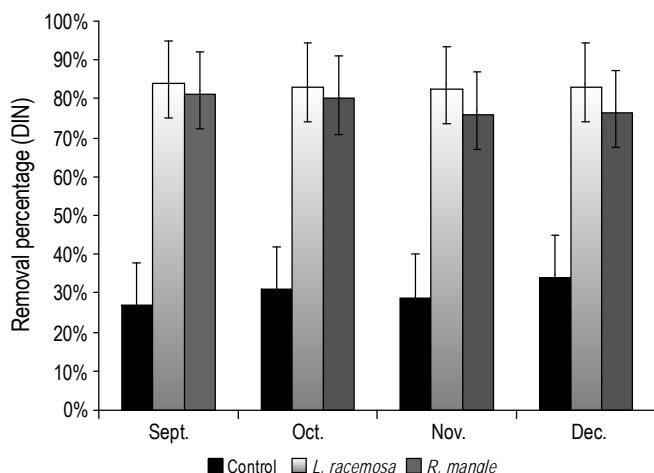
Las concentraciones promedio de los nutrientes fueron menores en los estanques con manglares que en el estanque control. Se obtuvieron valores similares cuando se comparó entre los estanques con plántulas de mangle (fig. 1). El porcentaje promedio de remoción de NID fue mayor en los estanques con plántulas de *L. racemosa* (83%) y *R. mangle* (79%) que en el estanque control (30%) durante el ciclo de cultivo de camarón. Se encontraron ligeras diferencias en cada uno de los estanques con plántulas a lo largo de los meses de muestreo (fig. 2). El porcentaje promedio de remoción de ortofosfato en los estanques con plántulas de *L. racemosa* (45%) y *R. mangle* (40%) también fueron más altos que en el estanque sin plántulas (23%). En los tres estanques, el promedio fue diferente durante el periodo de muestreo (fig. 3).

Los flujos de nutrientes de la entrada de agua a los estanques fueron 7269 g de N y 3095 g de P. La entrada de estos nutrientes a través del alimento de camarón fue de 28,252 g de N y 9452 g de P. En la salida de agua, en el estanque con *L. racemosa*, estas concentraciones fueron de 1018 g de N y 609 g de P. En el estanque con *R. mangle* fueron de 1071 g de N y 724 g de P. En el estanque control, la acumulación de nutrientes fue de 5564 g de N y 1583 g de P. Los nutrientes acumulados en el tejido de *L. racemosa* fueron de 18,014 g de N y 5976 g de P. La acumulación en el tejido de *R. mangle* fue de 16,711 g de N y 5832 g de P. La volatilización de amonio (17,298 g de N) y la absorción de fósforo por sedimentos (6249 g P) en el estanque con *L. racemosa* constituyó



**Figure 1.** Concentration of nutrients at the pumping station and experimental ponds with and without mangrove (*Laguncularia racemosa* and *Rhizophora mangle*) seedlings over a period of 24 h of water exchange. Data = mean  $\pm$  one standard deviation.

**Figura 1.** Concentración de nutrientes en la estación de bombeo y en los estanques experimentales con y sin plántulas de mangle (*Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle*), en un periodo de 24 h de recambio de agua. Datos = promedio  $\pm$  una desviación estándar.



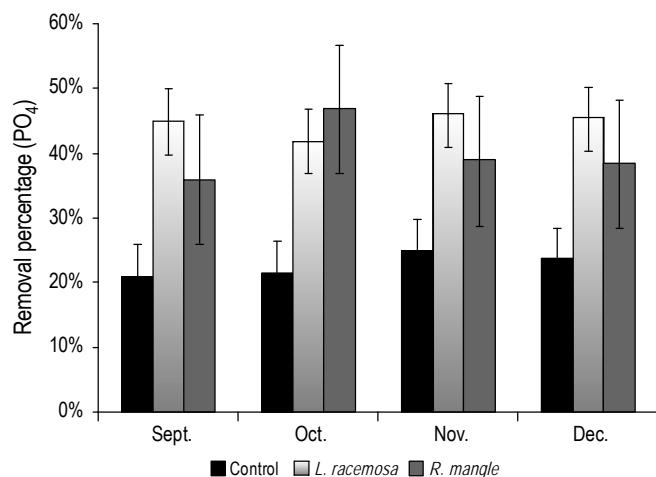
**Figure 2.** Monthly percentage of dissolved inorganic nitrogen (DIN) removal during a culture cycle of 101 days in ponds with and without mangrove (*Laguncularia racemosa* and *Rhizophora mangle*) seedlings. Data = mean  $\pm$  one standard deviation.

**Figura 2.** Porcentaje mensual de remoción de nitrógeno inorgánico disuelto (DIN) durante un ciclo de cultivo de 101 días en estanques con y sin plántulas de mangle (*Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle*). Datos = promedio  $\pm$  una desviación estándar.

culture cycle in the lagoon and in the three shrimp culture ponds. In September, the temperature in the lagoon (32.7 °C) and the three experimental ponds (31.1 °C) was higher than in the other months (table 3). The mean concentrations of dissolved oxygen in the three experimental ponds showed variations throughout the culture cycle. Maximum and minimum oxygen concentrations occurred at 16:00 and 03:00, respectively. Maximum dissolved oxygen (16:00) was similar among the three experimental ponds (6.4–6.9 mg L<sup>-1</sup>). Minimum dissolved oxygen (03:00) was higher in the control pond (3.3–3.4 mg L<sup>-1</sup>) than in the ponds containing *L. racemosa* (1.9–2.1 mg L<sup>-1</sup>) and *R. mangle* (1.9 mg L<sup>-1</sup>), but similar between the ponds with mangrove seedlings (table 4).

## DISCUSSION

During the shrimp culture cycle, the nitrogen compounds and reactive phosphorus in the experimental ponds varied significantly. High concentrations of ammonium (mean value of 26.0 µM) entered into the artificial wetland through the pumping station at Urías Lagoon (influent); the concentrations of nitrate, nitrite, and orthophosphate were 13.0, 8.0, and 4.5 µM, respectively. This lagoon is a eutrophicated system because of the allochthonous runoffs during the rainy season, untreated urban sewage, and the wastewater from nearby industries, aquaculture ponds, shrimp boats, and fish processing factories (Páez-Osuna *et al.* 1990). Ammonium is a volatile compound and the most toxic and commonly found in higher concentrations in wastewater of aquaculture farms (Emerson *et al.* 1975). The ammonium concentrations in the



**Figure 3.** Monthly percentage of orthophosphate removal during a culture cycle of 101 days in ponds with and without mangrove (*Laguncularia racemosa* and *Rhizophora mangle*) seedlings. Data = mean  $\pm$  one standard deviation.

**Figura 3.** Porcentaje mensual de la remoción de ortofosfato durante un ciclo de cultivo de 101 días en estanques con y sin plántulas de mangle (*Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle*). Datos = promedio  $\pm$  una desviación estándar.

una salida importante. En el estanque con *R. mangle* estas cantidades fueron de 18,570 g de N y 6268 g de P, y en el estanque control los valores fueron más altos (30,022 g de N y 10,922 g de P) (tabla 1).

Durante el ciclo de cultivo de camarón, la longitud de *L. racemosa* aumentó de 37.7 a 48.2 cm, y la de la raíz, de 39.5 a 53.8 cm. Para el mangle rojo el aumento de la longitud fue de 28.1 a 36.6 cm y el de la raíz fue de 33 a 46 cm. La longitud promedio final y la longitud de la raíz de *L. racemosa* fueron mayores que en *R. mangle*. Al final del ciclo de cultivo, la longitud promedio de los camarones fue similar entre los tres estanques de cultivo, incrementándose de 2.1 a 12.2 cm. El peso de los camarones también fue similar entre los estanques, incrementándose de 0.08 a 10.4 g al final del experimento. La tasa de supervivencia de los camarones fue similar entre el estanque con *L. racemosa* (76%), el estanque con *R. mangle* (70%) y el estanque control (70%) (promedio = 73%, tabla 2).

La salinidad fue similar entre el estero de Urías (33.3–33.8), el estanque control (32.4–33.2) y los dos estanques experimentales de tratamiento con *L. racemosa* y *R. mangle* (32.1–32.8), y mostró pequeñas variaciones en el experimento (tabla 3). La temperatura promedio del agua disminuyó gradualmente durante el ciclo de cultivo en el estero y en los tres estanques de cultivo de camarón. En septiembre, la temperatura en el estero (32.7 °C) y en los tres estanques experimentales (31.1 °C) fue mayor que la temperatura en otros meses (tabla 3). Las concentraciones promedio de oxígeno disuelto en los tres estanques experimentales mostraron variaciones a lo largo del ciclo de cultivo. La

**Table 1.** Mass balance model for estimated nitrogen and phosphorus fluxes, including fertilization, shrimp stocked, shrimp feed, harvest, water exchange, filling, and drainage, in the two shrimp aquaculture ponds containing mangrove seedlings and in the control pond during the 101-day experimental period.**Tabla 1.** Modelo de balance de masas desarrollado para el flujo estimado de nitrógeno y fosforo, incluyendo fertilización, camarón sembrado, alimento para el camarón, cosecha, intercambio de agua, llenado y drenado, en los estanques de cultivo de camarón con plántulas de mangle, y en el estanque control durante un periodo experimental de 101 días.

	<i>Laguncularia racemosa</i> pond		<i>Rhizophora mangle</i> pond		Control pond	
	N	P	N	P	N	P
<b>Input (g)</b>						
Inlet water	7269	3095	7269	3095	7269	3095
Fertilization	280	112	280	112	280	112
Stocked shrimp	4.50	1.46	4.50	1.46	4.50	1.46
Shrimp feed	28,252	9452	28,252	9452	28,252	9452
Mangrove seedlings	767	327	754	327	—	—
Total input	36,572	12,987	36,559	12,987	35,805	12,660
<b>Output (g)</b>						
Outlet water	1018	609	1071	724	5564	1583
Shrimp harvest	242	153	207	163	219	155
Mangrove seedlings	18,014	5976	16,711	5832	—	—
Volatilization NH <sub>4</sub>	17,298	—	18,570	—	30,022	—
Adsorption PO <sub>4</sub>	—	6249	—	6268	—	10,922
Total output	36,572	12,987	36,559	12,987	35,805	12,660

*L. racemosa* (6.0 µM) and *R. mangle* (8.5 µM) ponds were lower than in the control pond (21.0 µM), suggesting that mangrove seedlings were efficient at removing this nutrient from the environment. Although nitrate is not a toxic compound, it may be a problem when the concentration increases (69.5 µM), affecting growth or promoting disease of the cultured organisms (Colt and Armstrong 1981). The ideal nitrate level should be maintained at a concentration of 20.5 µM (Van Wyk 1999). In traditional shrimp farms, nitrate is accumulated because of the absence of processes that remove this nutrient (Spotte 1979). Lower quantities of nitrate were obtained in the experimental ponds with mangrove seedlings (4.0 and 4.6 µM) than in the control pond (17.0 µM). This suggests that nitrate was not accumulated in the seawater because the hydroponic system provided an effective interface between the root and nutrient (Breen 1990), and the mangrove seedlings incorporate it as biomass through the absorption of nitrogen as ammonium ions and nitrate (Tam *et al.* 2009). Bacteria, during oxidation of organic waste combined with low oxygen levels in the sediment, also increased denitrification reactions and nitrogen losses (Sánchez-Carrillo *et al.* 2009). One concern in the aquaculture industry is nitrite (Russell *et al.* 1981), which could be present in high concentrations, causing toxicity in shrimp, even with frequent water exchanges (Chen and Chen 1992). In this experiment the nitrite concentration was always low in both mangrove treatment ponds and the control pond. As with

máxima concentración de oxígeno se produjo a las 16:00, mientras que la mínima fue a las 03:00. La máxima concentración de oxígeno disuelto fue similar entre los tres estanques experimentales (6.4 a 6.9 mg L<sup>-1</sup>). La mínima concentración de oxígeno disuelto fue mayor en el estanque control (3.3 a 3.4 mg L<sup>-1</sup>) que en los estanques con *L. racemosa* (1.9–2.1 mg L<sup>-1</sup>) y *R. mangle* (1.9 mg L<sup>-1</sup>), pero fue similar entre los estanques con plántulas de mangle (tabla 4).

## DISCUSIÓN

Durante el ciclo de cultivo de camarón, los compuestos de nitrógeno y el fósforo reactivo en los estanques experimentales variaron significativamente. Altas concentraciones de amonio (valores promedio de 26.0 µM) entraron hacia los humedales artificiales a través del agua de bombeo del estero de Urías (influente); las concentraciones de nitrato, nitrito y ortofosfato fueron de 13.0, 8.0, y 4.5 µM, respectivamente. Esta laguna es un sistema eutrofizado debido a los escurrimientos alóctonos que fluyen durante la temporada de lluvias y a las aguas residuales de las industrias establecidas en la periferia (aguas residuales domésticas sin tratar, estanques de acuicultura, barcos camaroneros y fábricas de procesamiento de pescado) (Páez-Osuna *et al.* 1990). El amonio es un compuesto volátil y el más tóxico que se encuentra comúnmente en altas concentraciones en las aguas residuales de las granjas de acuicultura (Emerson *et al.* 1975). Las concentraciones

**Table 2.** Parameters obtained during the experimental production of *Litopenaeus vannamei*, grown with mangrove plants (mean  $\pm$  one standard deviation).**Tabla 2.** Parámetros obtenidos durante la producción experimental de *Litopenaeus vannamei* en estanques con plantas de mangle (promedio  $\pm$  una desviación estándar).

Stocking density (PL m <sup>-2</sup> )	10
Culture cycle (days)	101
Water exchange (%)	46
Initial body weight (g)	0.08 $\pm$ 0.01
Final body weight (g)	10.40 $\pm$ 0.30
Growth (g 10 days <sup>-1</sup> )	0.68 $\pm$ 0.02
Feed conversion ratio	1.60 $\pm$ 0.03
Feed added (kg pond <sup>-1</sup> cycle <sup>-1</sup> )	43.20
Survival (%)	73
Production (kg pond <sup>-1</sup> )	7.20

**Table 3.** Mean values of salinity and temperature (°C) at each of the sampling sites during the culture cycle (mean  $\pm$  one standard deviation).**Tabla 3.** Valores promedio de salinidad y temperatura (°C) en cada uno de los sitios de muestreo durante el ciclo de cultivo (promedio  $\pm$  una desviación estándar).

	Urías Lagoon	Control pond	Ponds with seedlings
<b>Salinity</b>			
September	33.70 $\pm$ 3.98	32.70 $\pm$ 3.60	32.50 $\pm$ 2.80
October	33.30 $\pm$ 2.95	32.40 $\pm$ 3.13	32.10 $\pm$ 2.74
November	33.80 $\pm$ 3.12	33.00 $\pm$ 3.61	32.80 $\pm$ 3.48
December	33.50 $\pm$ 3.40	33.20 $\pm$ 2.90	32.00 $\pm$ 2.51
<b>Temperature</b>			
September	32.70 $\pm$ 3.31	31.20 $\pm$ 2.27	31.10 $\pm$ 2.98
October	32.30 $\pm$ 2.20	30.60 $\pm$ 3.24	30.50 $\pm$ 3.41
November	30.00 $\pm$ 3.42	27.30 $\pm$ 2.50	27.40 $\pm$ 1.14
December	26.00 $\pm$ 1.60	25.00 $\pm$ 1.70	24.00 $\pm$ 1.20

**Table 4.** Mean values of dissolved oxygen (mg L<sup>-1</sup>) at each of the samplings sites during the culture cycle (mean  $\pm$  one standard deviation).**Tabla 4.** Valores promedio de oxígeno disuelto (mg L<sup>-1</sup>) en cada uno de los sitios de muestreo durante el ciclo de cultivo (promedio  $\pm$  una desviación estándar).

Month/Time (h)	Urías Lagoon		Control pond		Ponds with seedlings	
	16:00	03:00	16:00	03:00	16:00	03:00
September	8.3 $\pm$ 2.4	4.1 $\pm$ 1.3	6.7 $\pm$ 0.10	3.4 $\pm$ 0.92	6.6 $\pm$ 0.20	1.9 $\pm$ 0.75
October	7.6 $\pm$ 2.1	3.8 $\pm$ 1.2	6.5 $\pm$ 0.74	3.3 $\pm$ 0.88	6.4 $\pm$ 0.60	2.0 $\pm$ 0.38
November	6.7 $\pm$ 1.3	4.5 $\pm$ 0.4	6.9 $\pm$ 0.18	3.3 $\pm$ 0.88	6.5 $\pm$ 0.80	2.0 $\pm$ 0.37
December	6.5 $\pm$ 1.1	3.6 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.11	3.4 $\pm$ 0.90	6.5 $\pm$ 0.51	2.1 $\pm$ 0.35

de amonio en los estanques con *L. racemosa* (6.0  $\mu$ M) y *R. mangle* (8.5  $\mu$ M) fueron menores que en el estanque control (21.0  $\mu$ M), lo que sugiere que las plántulas de mangle realizaron una función eficaz para eliminar este nutriente del medio ambiente. Aunque el nitrato no es un compuesto tóxico, puede ser un problema cuando aumenta su concentración (69.5  $\mu$ M) al afectar el crecimiento o promover el desarrollo de enfermedades en los organismos cultivados (Colt y Armstrong 1981). El nivel ideal de nitratos debe mantenerse a una concentración de 20.5  $\mu$ M (Van Wyk 1999). En las granjas tradicionales de camarón, el nitrato se acumula debido a la ausencia de procesos que eliminan este nutriente (Spotte 1979). Las concentraciones mas bajas de nitrato se obtuvieron en los estanques experimentales con plántulas de mangle (4.0 y 4.6  $\mu$ M) que en el estanque control (17.0  $\mu$ M). Esto sugiere que el nitrato no se acumuló en el agua de mar debido a que el sistema hidropónico proporciona una interface efectiva entre la raíz y el nutriente (Breen 1990), y las plántulas de mangle incorporaron el nitrógeno como biomasa a través de la absorción en forma de iones de amonio y nitratos (Tam *et al.* 2009). También las bacterias, durante la oxidación de residuos orgánicos combinados con bajos niveles de oxígeno en el sedimento, aumentaron las reacciones de denitrificación y las pérdidas de nitrógeno (Sánchez-Carrillo *et al.* 2009). Una de las preocupaciones en la industria de la acuicultura es el nitrito (Russo *et al.* 1981), que podría estar presente en altas concentraciones en la acuicultura, causando toxicidad en los camarones, incluso con cambios de agua frecuentes (Chen y Chen 1992). En este experimento, la concentración de nitritos siempre fue baja en ambos estanques con plántulas de mangle y en el control. Al igual que con los otros compuestos de nitrógeno, hubo una menor concentración de nitritos en los estanques con plántulas de mangle (3.4 y 3.5  $\mu$ M) que en el estanque control (6.5  $\mu$ M). El nitrito puede estar presente en los sistemas de cultivo a niveles tóxicos (Colt y Armstrong 1981). Las concentraciones de nitritos obtenidos durante el ciclo de cultivo de camarón no estuvieron a niveles tóxicos para el humedal artificial, debido a la acción de las plántulas de mangle para remover los nutrientes. El ortofosfato es el fósforo inorgánico más dominante en agua salobre, marina y agua dulce (Millero 1996). El agua de los estanques con camarón tiende a ser enriquecida con los

the other nitrogen compounds, there was a lower nitrite concentration in the ponds with mangrove seedlings (3.4 and 3.5 µM) than in the control pond (6.5 µM). Nitrite can be present in culture systems at toxic levels (Colt and Armstrong 1981). The nitrite concentrations obtained during the shrimp culture cycle were not at toxic levels to the artificial wetland because of the removal action by mangrove seedlings. Orthophosphate is the most dominant inorganic phosphorous in fresh, brackish, and marine water (Millero 1996). The water in shrimp ponds tends to be enriched with phosphates produced by shrimp feces and uneaten food. The results obtained in this research showed that phosphorus concentration in the control pond (4.0 µM) was higher than in the *L. racemosa* and *R. mangle* ponds (2.5 and 3.4 µM), which indicates the effect of mangrove seedlings on orthophosphate removal. In our experiment, the concentrations of orthophosphate never increased. During the culture cycle, 83% of DIN was removed in the *L. racemosa* pond and 79% in the *R. mangle* pond, while in the control pond DIN removal was 30%, which is lower. These percentages are similar to those obtained by other authors (Naidoo 2009, Ye *et al.* 2001, Wu *et al.* 2008). The assimilation of nitrate is the primary route for growth and plant development (Solomonson and Barber 1990), and it is influenced by a variety of environmental factors, including temperature (Crawford 1995). Corredor and Morell (1994) reported that the nitrogen retained in the sediment undergoes a transformation process through nitrification; therefore, mangroves can serve as an important buffer in the removal of nutrients resulting from anthropogenic nitrogen loading.

Temperature plays an important role in mangrove growth, within an optimal range for the best plant growth. This range varies from 20 °C in the coldest month to 34 °C during summer (Contreras and Gutiérrez 1989). In our experimental artificial wetland, maximum temperature was recorded in September (31.0–31.3 °C) and minimum (25 °C) in December. The *L. racemosa* and *R. mangle* seedlings were established in the experimental system during September, when they were one year old, and had a length of 10.5 and 7.8 cm and root length of 14.3 and 13 cm, respectively. During cold months, the percentage of nutrient removal is relatively low, because metabolic rates, including that of the mangroves, decrease (Gessner 2001). In our experiment, the lowest temperatures were not a limiting factor, since during the coldest month (December, 25 °C) DIN removal was 83% in the *L. racemosa* pond and 77% in the *R. mangle* pond. As the temperatures at our site were above 25 °C, it is possible that the metabolic rates (and nutrient removal) would also be higher than in colder areas. Orthophosphate removal by mangrove plants usually constitutes a small fraction of the total (Brix 1997) that may be assimilated by the effects of the rhizosphere (Granéli *et al.* 1992). The ability to remove high percentages of orthophosphate often depends on the substrate and the artificial wetland area (Gerritse 1993). In this case, the percentages of orthophosphate removal were lower than

fosfatos producidos por las heces de los camarones y el alimento no consumido. Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que la concentración de fósforo en el estanque control (4.0 µM) fue mayor que en los estanques con *L. racemosa* y *R. mangle* (2.5 y 3.4 µM), lo que muestra el efecto de las plántulas de mangle en la remoción de ortofosfato. En nuestro experimento, las concentraciones de ortofosfato nunca se incrementaron. Durante el ciclo de cultivo, el porcentaje de NID removido fue del 83% en el estanque con *L. racemosa* y del 79% en el estanque con *R. mangle*. En el estanque control el porcentaje de NID removido fue del 30%, que fue menor que en los estanques con plántulas de mangle. Estos porcentajes fueron similares a los obtenidos por otros autores (Naidoo 2009, Ye *et al.* 2001, Wu *et al.* 2008). La asimilación de nitrato es la principal vía para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Solomonson y Barber 1990) y está influenciada por una variedad de factores ambientales, incluyendo la temperatura (Crawford 1995). Corredor y Morell (1994) describen que el nitrógeno retenido en el sedimento se somete a un proceso de transformación a través de la nitrificación; por lo tanto, los manglares pueden servir como un amortiguador importante en la eliminación de nutrientes resultantes de la carga de nitrógeno antropogénico.

La temperatura juega un papel importante en el crecimiento del manglar, dentro de un intervalo óptimo para el mejor crecimiento de las plantas. Este intervalo varía de 20 °C en el mes más frío a 34 °C en el verano (Contreras y Gutiérrez 1989). En nuestro humedal artificial experimental, la temperatura máxima promedio fue en septiembre (31.0 a 31.3 °C) y la mínima fue en diciembre (25 °C). Las plántulas de *L. racemosa* y *R. mangle* se establecieron en el sistema experimental en septiembre, cuando tenían un año de edad y medían, respectivamente, 10.5 y 7.8 cm de longitud y 14.3 y 13 cm de raíz. Durante los meses fríos, el porcentaje de remoción de nutrientes es relativamente bajo, ya que la tasa metabólica, incluyendo a la de los manglares, disminuye (Gessner 2001). En nuestro experimento, las temperaturas más bajas no fueron un factor limitante, ya que durante el mes más frío (diciembre 25 °C) la remoción de NID fue del 83% en el estanque con *L. racemosa* y del 77% en el estanque con *R. mangle*. Dado que las temperaturas en nuestro sitio estuvieron por arriba de 25 °C, es posible que las tasas metabólicas (y la eliminación de nutrientes) también estuvieran más altas que en zonas más frías. La remoción de ortofosfato por las plantas de mangle generalmente constituyen una pequeña fracción del total (Brix 1997) que puede ser asimilado por los efectos de la rizosfera (Granéli *et al.* 1992). La capacidad de eliminar un alto porcentaje de ortofosfato a menudo depende del sustrato y la zona de humedales artificiales (Gerritse 1993). En este caso, los porcentajes de remoción de ortofosfato fueron inferiores al NID, con valores del 45% en el estanque con *L. racemosa* y del 40% en el estanque con *R. mangle*. Estos valores son similares a los registrados en otros estudios (Naidoo 2009, Ye *et al.* 2001 y Wu *et al.* 2008). La remoción de ortofosfato en el estanque

for DIN, with values of 45% in the *L. racemosa* pond and 40% in the *R. mangle* pond. These values are similar to those reported in other studies (Naidoo 2009, Ye *et al.* 2001, Wu *et al.* 2008). The removal of orthophosphate in the control pond was 23%; similar values (28–32%) have been reported by some authors (Schulz *et al.* 2003, DeBusk *et al.* 2004), while others (Lin *et al.* 2002) mention higher values (28–32%). Picard *et al.* (2004) mentioned that the lowest removal percentages of N-P occur during the colder months; however, this was not the case in our study, where mangroves maintained high nutrient removal (*L. racemosa* 47%, *R. mangle* 38%), even in the coldest month (December). This may be because in our experimental site the winter temperature was still above the critical values for mangroves (Willem 2003). In some cases orthophosphate removal is markedly lower, compared to the nitrogen forms (Ye *et al.* 2001), as in this study.

The mass balance of nitrogen and phosphorus showed that the wastewater discharged from the ponds with seedlings contained lower amounts of nutrients, compared to the control pond. In the *L. racemosa* pond, a total of 1018 g of N and 609 g of P were discharged in the effluent. In the *R. mangle* pond, 1071 g of N and 724 g of P were discharged, while in the control pond, 5564 g of N and 1583 g of P were discharged. The mangrove wetland performs a major transformation of nitrogen, especially nitrification and denitrification in conjunction with microbial processes (Sindilariu *et al.* 2007). The main entry path of nutrients to the ponds was through the food supplied to the shrimp, reaching 28,252 g of N and 9452 g of P. Mangrove seedlings take nutrients from the water and the roots can provide a large surface area for the growth of microbial colonies (Tam *et al.* 2009). The growth of mangrove seedlings was stimulated by the accumulation of N and P, which were assimilated by the plant tissue, up to 18,014 g of N and 5976 g of P by *L. racemosa* and 16,711 g of N and 5832 g of P by *R. mangle*. Nitrogen can be removed by denitrification and plant uptake. Mangrove plants remove nitrogen not only for growth, but also to increase the efficiency of the nitrification and denitrification processes (Tam and Wong 2000). Based on the results, we estimate that 80% of the total nitrogen entering the two mangrove treatment ponds was removed. In wetlands, sediment is the main reservoir for the retention of phosphorus (Tam and Wong 2000), whereas nitrogen tends to escape to the atmosphere via volatilization and denitrification (table 1). Most of the phosphorus remains in the sediments and becomes available the following growing season (Páez-Osuna and Ruiz-Fernández 2005).

Mangroves are one of the macrophytes that capture large amounts of nutrients, incorporating them into their tissues through the removal process. This contributes to the rapid growth of this plant (Kadlec 1990). The experimental plants performed an efficient removal of nutrients even in December, promoting growth in their foliage and root. The development of root biomass was good, and the root is

control fue del 23%; valores similares (20–24%) han sido registrados por algunos autores (Schulz *et al.* 2003, DeBusk *et al.* 2004), mientras que otros (Lin *et al.* 2002) mencionan valores más altos (28–32%). Picard *et al.* (2004) mencionó que los menores porcentajes de remoción de N-P se producen durante los meses más fríos; sin embargo, esto no fue el caso en nuestro estudio. En cambio, los manglares mantuvieron una alta remoción de nutrientes (*L. racemosa*, 47% y *R. mangle*, 38%), incluso en el mes más frío (diciembre). Esto puede deberse a que en nuestro sitio experimental la temperatura en invierno aún estaba por encima de los valores críticos para los manglares (Willem 2003). En algunos casos la eliminación de ortofosfatos es notablemente inferior, en comparación con las formas de nitrógeno (Ye *et al.* 2001), como en este estudio.

El balance de masas de nitrógeno y fósforo mostró que la descarga de aguas residuales en los estanques con plántulas contenía menores cantidades de nutrientes, en comparación con el estanque control. En el estanque con *L. racemosa* se descargaron en el efluente un total de 1018 g de N y 609 g de P. En el estanque con *R. mangle* esta descarga fue de 1071 g de N y 724 g de P. La cantidad descargada en el estanque control fue de 5564 g de N y 1583 g de P. Los humedales de manglar llevan a cabo una importante transformación de nitrógeno, especialmente la nitrificación y desnitrificación en conjunto con los procesos microbianos (Sindilariu *et al.* 2007). La entrada principal de nutrientes a los estanques de cultivo fue a través del alimento balanceado, con una carga de 28,252 g de N y 9452 g P. Las plántulas de mangle toman los nutrientes del agua, y las raíces pueden proporcionar una gran superficie para el crecimiento de colonias microbianas (Tam *et al.* 2009). El crecimiento de las plántulas de mangle se vio estimulado por la acumulación de N y P, que fueron asimilados por los tejidos de la planta hasta 18,014 g de N y 5976 g P en *L. racemosa* y 16,711 g de N y 5832 g P en *R. mangle*. El nitrógeno puede ser removido por la desnitrificación y la absorción de la planta. Las plantas de manglar remueven el nitrógeno no sólo para el crecimiento, sino también para aumentar la eficiencia de los procesos de nitrificación y desnitrificación (Tam y Wong 2000). Con base en los resultados, se estima que el 80% del nitrógeno total que entró en los dos estanques de tratamiento de manglares fue removido. En los humedales, el sedimento es el principal reservorio en la retención de fósforo (Tam y Wong 2000), mientras que el nitrógeno tiende a escapar a la atmósfera por volatilización y desnitrificación (tabla 1). El fósforo permanece en el sedimento, volviéndose disponible para el siguiente ciclo de cultivo en el estanque (Páez-Osuna y Ruiz-Fernández 2005).

Los manglares son una de las macrófitas que capturan grandes cantidades de nutrientes incorporándolos en sus tejidos a través del proceso de remoción. Esto contribuye al rápido crecimiento de la planta (Kadlec 1990). Las plántulas en el experimento realizaron una eficiente remoción de nutrientes, incluso en diciembre, promoviendo el crecimiento

the most important tissue through which nutrients are incorporated into the rest of the plant (Kadlec and Newman 1992). Tam *et al.* (2009) mention that bare roots (hydroponic conditions) capture a higher percentage of nutrients than buried roots, increasing plant growth. The results of this study suggest that hydroponics is a good technique for mangrove growth. Additionally, roots perform important biological reactions that allow the assimilation and removal of nutrients.

Both species of seedlings remained vigorous and healthy in the salinity range recorded in the experimental wetland (32.0–33.0). These values are in the range that these species can tolerate due to their salt management strategy (Paliyavuth *et al.* 2004).

In the present study, shrimp were cultured at a density of 10 org m<sup>-2</sup> during a period of 101 days, simulating the conditions of a semi-intensive commercial farm. The environmental parameters monitored were within the water quality standards described by Cheng *et al.* (2002). No anomalous shrimp growth was observed. There were no large differences in the parameters (survival rate, weight, and length) among the three shrimp culture ponds. This suggests that the presence of mangroves in the ponds did not affect shrimp development. The results obtained in this study are similar to those obtained for a commercial farm (Teichert-Coddington *et al.* 2000, Miranda *et al.* 2007).

The oxygen concentration in ponds with semi-intensive management is largely determined by the balance between oxygen production, diffusion, and respiration. The oxygen produced during daylight hours in the ponds was consumed by the shrimp and microbial organisms. Shrimp respiration at night explains the depletion of oxygen during that time (Boyd 1992). The oxygen concentration in the three experimental ponds showed concentrations above 8 mg L<sup>-1</sup> during daylight hours, with high oxygen depletion at night. The decrease in oxygen was greater in the ponds with mangroves (1.8 mg L<sup>-1</sup> in the *L. racemosa* pond and 1.9 mg L<sup>-1</sup> in the *R. mangle* pond) than in the control pond (3.2 mg L<sup>-1</sup>). These values are lower than the minimum recommended to obtain a normal shrimp growth rate (Cheng *et al.* 2002). That is why shrimp farmers use aerators to prevent oxygen levels dropping below 4.0 mg L<sup>-1</sup> (Ruiz-Velazco *et al.* 2010). In this study, however, oxygen depletion during the night was not a concern because it was controlled immediately by pumping water into the ponds. The low nocturnal oxygen concentrations in the experimental ponds with mangrove seedlings suggest that at this time the respiration process was increased by the presence of mangroves in the system. This inconvenience can be solved by the use of aerators, although this implies higher costs.

Previous studies have demonstrated a positive correlation between nutrient removal and plant growth. As mangrove seedlings planted in a wetland are still young and actively growing, the nutrient removal efficiencies would continue to increase as the mangroves grow (Yang *et al.* 2008). The removal efficiency would be more stable in a mangrove

del follaje y la raíz. La raíz tuvo un buen desarrollo de biomasa, que es el tejido más importante por donde los nutrientes se incorporan al resto de la planta (Kadlec y Newman 1992). Tam *et al.* (2009) mencionan que las raíces desnudas (en condiciones de hidroponía) capturan un mayor porcentaje de nutrientes que las raíces enterradas, aumentando el crecimiento de la planta. Los resultados de este estudio sugieren que la hidroponía es una buena técnica para el crecimiento de las plántulas de manglar. Además, las raíces realizan importantes reacciones biológicas que permiten la asimilación y la remoción de nutrientes. En este estudio, ambas especies de plantulas se mantuvieron vigorosas y saludables en el intervalo de salinidad (32–33) registrado en el humedal experimental. Estos valores están en el intervalo que estas especies pueden tolerar debido a su estrategia en el manejo de sal (Paliyavuth *et al.* 2004).

Los camarones fueron cultivados a una densidad de 10 organismos m<sup>-2</sup> durante un periodo de 101 días, simulando las condiciones de una granja comercial semi-intensiva. Los parámetros ambientales registrados, estuvieron dentro de los estándares de calidad del agua descritos por Cheng *et al.* (2002). En este estudio no se observó un crecimiento anómalo de los camarones. No hubo grandes diferencias en los parámetros, tales como la tasa de supervivencia, el peso y la longitud, entre los tres estanques de cultivo de camarón. Esto sugiere que la presencia de plántulas de mangle en los estanques no afectó el desarrollo del camarón. Los resultados obtenidos en este estudio fueron similares a los obtenidos en una granja comercial (Teichert-Coddington *et al.* 2000, Miranda *et al.* 2007).

La concentración de oxígeno en los estanques con manejo semi-intensivo está determinada en gran medida por el equilibrio entre la producción de oxígeno, la difusión y la respiración. El oxígeno producido durante las horas luz en los estanques fue consumido por los camarones y los organismos microbianos. La respiración del camarón durante la noche explica el agotamiento del oxígeno durante ese tiempo (Boyd 1992). La concentración de oxígeno en los tres estanques experimentales presentó concentraciones superiores a 8 mg L<sup>-1</sup> durante las horas luz, con un alto agotamiento de oxígeno en la noche. La disminución de oxígeno fue mayor en los estanques con los manglares (1.8 mg L<sup>-1</sup> en el estanque con *L. racemosa* y 1.9 mg L<sup>-1</sup> en el estanque con *R. mangle*) que en el control (3.2 mg L<sup>-1</sup>). Estos valores son más bajos que el mínimo recomendado para obtener una tasa de crecimiento del camarón normal (Cheng *et al.* 2002). Es por esto que los productores de camarón utilizan los aireadores, para evitar que el oxígeno caiga por debajo de 4.0 mg L<sup>-1</sup> (Ruiz Velazco *et al.* 2010). Sin embargo, en este estudio, la falta de oxígeno durante la noche no fue una preocupación, ya que fue controlada inmediatamente por el bombeo de agua en los estanques. Las bajas concentraciones de oxígeno en los estanques experimentales con plántulas de mangle durante la noche sugieren que en este momento el proceso de respiración se incrementó por la presencia de los manglares en el sistema.

wetland with 100% coverage of mature trees than with young plants. For wetlands constructed using annual plants, the plants must be harvested and re-planted annually to maintain the treatment efficiency (Gopal 1999). Perennial mangroves will continue to grow for many years, even reaching 100% coverage, so it would not be necessary to harvest or replace them regularly. It is common to have a mature mangrove forest with the same primary productivity and growth rate for many years (more than 10 years); hence, the life span of a constructed mangrove wetland should be more than 10 years. Nevertheless, the plant's growth rate and vigor must be frequently monitored to ensure that the plants are not damaged due to negligence or man-made accidents. Microorganisms, macrophytes, and soil substrate are the basic components of a constructed wetland. Macrophytes can take up nutrients and transport oxygen to the root area of the substrate to enable aerobic microbes to decompose the pollutants (Allen 1997).

## CONCLUSIONS

Nutrient levels measured in ponds with mangrove seedlings were lower than those found in the control pond (without seedlings). Urías Lagoon provided a considerable amount of nutrients through the pumping of water into the shrimp ponds. Both species of mangroves showed higher percentages of DIN removal than of orthophosphate removal, while the phytoplankton established in the control pond directly absorbed the metabolic products produced, such as carbon dioxide and ammonium, which may be risk factors for shrimp health (Alonso-Rodríguez and Páez-Osuna 2003). The good water quality in the shrimp ponds was an important factor for the proper development and survival of shrimp. The nutrient flow balance in the artificial wetland showed a decreased concentration of N-P through the different exit routes; we estimate that 80% of the total nitrogen that entered the ponds was removed by the mangroves. Mangrove seedlings contributed to improve water quality through nutrient removal. The experimental data obtained suggest that polyculture of mangrove and shrimp in culture ponds could be effective to treat wastewater, simulating the processes occurring in natural wetlands.

## ACKNOWLEDGEMENTS

GHC and MCV acknowledge receipt of COFAA-IPN and EDI-IPN scholarships. We thank Aquapacific SA de CV, I Castillo-López, and M Villareal for their advice, and K Siewers for helping with English editing.

## REFERENCES

- Alonso-Rodríguez R, Páez-Osuna F. 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: A review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219: 317–336.

Este inconveniente se puede resolver mediante el uso de aireadores, aunque esto implica mayores costos.

Estudios previos han demostrado una correlación positiva entre la remoción de nutrientes y el crecimiento de las plantas. Como las plántulas de mangle establecidas en el humedal son todavía jóvenes y están en crecimiento activo, la eficiencia de remoción de nutrientes seguiría aumentando a medida que los manglares crezcan (Yang *et al.* 2008). La eficiencia de remoción sería más estable en el humedal de manglares, con cobertura del 100% de árboles maduros que con las plantas jóvenes. Para los humedales construidos con las plantas anuales, las plantas deben ser cosechadas y replantadas anualmente para mantener la eficiencia del tratamiento (Gopal 1999). Los manglares perennes seguirán creciendo durante muchos años, incluso al llegar a una cobertura del 100%; por lo tanto, no sería necesario cosechar o remplazarlos con regularidad. Es común tener un bosque de manglares maduros que tengan la misma productividad primaria y la misma tasa de crecimiento durante muchos años (más de 10 años), lo que implica que la vida útil de un humedal de manglares artificial debe ser superior a 10 años. Sin embargo, la tasa de crecimiento de la planta y su vigor deben ser monitoreados frecuentemente para asegurar que las plantas no estén dañadas debido a negligencia o accidentes provocados por el hombre. Los microorganismos, las macrófitas y el sustrato, son los componentes básicos de un humedal artificial. Las macrófitas podrían absorber los nutrientes y transportar el oxígeno a la zona de raíz del sustrato, para permitir que los microbios aeróbicos descompongan los contaminantes (Allen 1997).

## CONCLUSIONES

Los niveles de nutrientes medidos en los estanques con plántulas fueron inferiores a las que se encontraron en el estanque control (sin plántulas). El estero de Urías proporcionó una cantidad considerable de nutrientes a través del bombeo de agua en los estanques experimentales de camarón. Para ambas especies de plántulas, el porcentaje de remoción de NID fue mayor que el ortofosfato, mientras que la comunidad fitoplanctónica establecida en el estanque control absorbió directamente los productos metabólicos producidos, tales como dióxido de carbono y amonio, los cuales pueden ser factores de riesgo para la salud del camarón (Alonso-Rodríguez y Páez-Osuna 2003). La buena calidad del agua en los estanques de camarón fue un factor importante para el adecuado desarrollo y la supervivencia de los camarones. El balance de flujo de nutrientes en el humedal artificial mostró una disminución en la concentración de N-P a través de las diferentes rutas de salida. Se estima que el 80% del nitrógeno total que entró a los estanques con plántulas fue removido por los manglares. Las plántulas de mangle contribuyeron a mejorar la calidad del agua a través de la remoción de nutrientes. Los datos experimentales obtenidos sugieren que un policultivo de manglares y camarones en

- Allen LH. 1997. Mechanics and rates of O<sub>2</sub> transfer to and through submerged rhizomes and roots via parenchyma. Proceedings of the Soil and Crop Science Society of Florida 56: 47–54.
- Boyd CE. 1992. Shrimp pond bottom soil and sediment management. In: Wyban J (ed.), Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 166–181.
- Breen PF. 1990. A mass balance method for assessing the potential of artificial wetlands for wastewater treatment. Water Res. 24: 689–697.
- Brix H. 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetland? Water Sci. Technol. 35: 11–17.
- Casillas-Hernández R, Nolasco SH, García GT, Páez-Osuna F. 2007. Water quality, chemical fluxes and production in semi-intensive Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture ponds utilizing two different feeding strategies. Aquacult. Eng. 36: 105–114.
- Chen JC, Chen SF. 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquaculture 109: 117–185.
- Cheng ZJ, Behnke KC, Dominy WG. 2002. Effects of feather meal on growth and body composition of the juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. J. Appl. Aquacult. 12: 57–70.
- Colt JE, Armstrong DA. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture. Fish Culture Section of American Fisheries Society, pp. 34–47.
- CONAPESCA. 2007. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2007. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona\\_anuario\\_estadistico\\_de\\_pesca](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca).
- Contreras EF, Gutiérrez FM. 1989. Hidrología, nutrientes y productividad primaria en lagunas costeras. In: De la Rosa VJ, González FF (eds.), Temas de Oceanografía Biológica en México. Universidad Autónoma de Baja California, México, pp. 57–78.
- Corredor JE, Morell JM. 1994. Nitrate depuration of secondary sewage effluents in mangrove sediments. Estuaries 17: 295–300.
- Crawford NM. 1995. Nitrate: Nutrient and signal for plant growth. Plant Cell 7: 859–868.
- DeBusk AT, Grace KA, Dierberg FE, Jackson SD, Chimney MJ, Gu B. 2004. An investigation of the limits of phosphorus removal in wetlands: a mesocosms study of shallow periphyton-dominated treatment systems. Ecol. Eng. 23: 1–14.
- Emerson K, Russo KC, Lund RE, Thurston RV. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations. Effects of pH and temperature. J. Fish. Res. 32: 2379–2383.
- FAO. 2009. The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 176 pp.
- Gerritsen RG. 1993. Prediction of travel times of phosphate in soils at a disposal site for wastewaters. Water Res. 27: 263–267.
- Gessner MO. 2001. Mass loss, fungal colonisation and nutrient dynamics of *Phragmites australis* leaves during senescence and early aerial decay. Aquat. Bot. 69: 325–339.
- Gopal BB. 1999. Natural and constructed wetlands for wastewater treatment: Potentials and problems. Water Sci. Technol. 40: 27–35.
- Granéli W, Weisner SEB, Sytsma MD. 1992. Rhizome dynamics and resource storage in *Phragmites australis*. Wetlands Ecol. Manage. 1: 239–247.
- IWA. 2000. International Water Association. Constructed Wetlands for Pollution Control. Processes, Performance, Design and Operation. IWA Publishing, London, 156 pp.
- estanques de cultivo podría ser eficaz para tratar las aguas residuales, simulando los procesos que ocurren en los humedales naturales.
- ## AGRADECIMIENTOS
- GHC y MCV agradecen las becas recibidas a través de COFAA y EDI-IPN. Agradecemos a Aquapacific, SA de CV, y a BI Castillo López y M Villareal su asesoría. Agradecemos a K Siewers su ayuda en la edición del idioma inglés.
- 
- Kadlec RH. 1990. Overland flow in wetlands: Vegetation resistance. J. Hydraul. Eng. 116: 691 pp.
- Kadlec RH, Newman S. 1992. Phosphorus removal in wetland treatment areas: Principles and data. Report No. DRE 321 to the South Florida Water Management District, West Palm Beach, Florida.
- Kadlec RH, Knight RL. 1996. Treatment Wetlands. CRC Press/ Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 893 pp.
- Lin YF, Jing SR, Lee DY, Wang TW. 2002. Nutrient removal from aquaculture wastewater using a constructed wetland systems. Aquacult. 209: 169–184.
- Millero F. 1996. Chemical Oceanography. CRC Press, Boca Raton, Florida, 469 pp.
- Miranda A, Voltolina D, Brambilla-Gámez MA, Frías-Esperecuela M, Simental J. 2007. Effluent characteristics and nutrient loading of a semi-intensive shrimp farm in NW Mexico. Vie Milieu 57: 21–27.
- Naidoo G. 2009. Differential effects of nitrogen and phosphorus enrichment on growth of dwarf *Avicennia marina* mangroves. Aquat. Bot. 90: 184–190.
- Páez-Osuna F. 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: Causes, effects and mitigating alternatives. Environ. Manage. 28: 131–140.
- Páez-Osuna F, Ruiz-Fernández AC. 2005. Environmental load of nitrogen and phosphorus from extensive, semi-intensive, and intensive shrimp farms in the Gulf of California ecoregion. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 74: 681–688.
- Páez-Osuna F, Montaño-Ley Y, Bojórquez-Leyva H. 1990. Intercambio de agua, fósforo y material suspendido entre el sistema lagunar del puerto de Mazatlán y las aguas costeras adyacentes. Rev. Int. Contam. Ambient. 6: 19–32.
- Páez-Osuna F, Bojórquez-Leyva H, Osuna-López JI. 1991. Accumulation and distribution of phosphorus in sediments of the Gulf of California. Mar. Mining 10: 285–301.
- Páez-Osuna F, Zazueta-Padilla HM, Osuna-López JI. 1993. Biochemical composition of the oysters *Crassostrea iridescens* Hanley and *Crassostrea corteziensis* Hertlein in the Northwest coast of Mexico: Seasonal changes. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 170: 1–9.
- Páez-Osuna F, Guerrero-Galván SR, Ruiz-Fernández AC, Espinoza-Angulo R. 1997. Fluxes and mass balances of nutrients in a semi-intensive shrimp farm in north-western Mexico. Mar. Pollut. Bull. 34: 290–297.
- Page AL. 1982. Methods of Soil Analysis. 2nd ed. ASA Press, New York, 131 pp.
- Paliyavuth C, Clough B, Patanaponpaiboon P. 2004. Salt uptake and shoot water relations in mangroves. Aquat. Bot. 78: 349–360.

- Picard PC, Fraser HL, Steer D. 2004. The interacting effects of temperature and plant community type on nutrient removal in wetland microcosms. *Bioresour. Technol.* 96: 1039–1047.
- Primavera JH. 2006. Overcoming the impacts of aquaculture on the coastal zone. *Ocean Coast. Manage.* 49: 531–545.
- Ruiz-Velazco JMJ, Hernández-Llamas A, Gómez-Muñoz VM, Magallón FJ. 2010. Dynamics of intensive production of shrimp *Litopenaeus vannamei* affected by white spot disease. *Aquaculture* 300: 113–119.
- Russo RC, Thurston RV, Emerson K. 1981. Acute toxicity of nitrate to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Effects of pH, nitrite species, and anion species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 387–393.
- Sánchez-Carrillo S, Sánchez-Andrés R, Alatorre LC, Angeler DG, Álvarez-Cobelas M, Arreola-Lizárraga JA. 2009. Nutrient fluxes in a semi-arid microtidal mangrove wetland in the Gulf of California. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 82: 654–662.
- Schulz C, Gelbrecht J, Rennert B. 2003. Treatment of rainbow trout farm effluents in constructed wetland with emergent plants and subsurface horizontal water flow. *Aquaculture* 217: 201–221.
- Sindilariu PD, Schulz C, Reiter R. 2007. Treatment of flow-through trout aquaculture effluents in a constructed wetland. *Aquaculture* 270: 92–104.
- Solomonson LP, Barber MJ. 1990. Assimilatory nitrate reductase: Functional properties and regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 41: 53–225.
- Solórzano L. 1969. Determination of the ammonia in natural waters by phenol-hypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.* 14: 798–801.
- Spotte S. 1979. Seawater Aquariums: The Captive Environment. John Wiley, New York, 43 pp.
- Strickland JD, Parsons TR. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Bd. Can. Bull.* 167: 167–310.
- Stumm W, Morgan JJ. 1981. Aquatic Chemistry. An Introduction emphasizing chemical equilibrium in natural waters. Wiley, New York, pp. 38–55.
- Tam NFY, Wong YS. 2000. Field Guide to Hong Kong Mangroves. City University of Hong Kong Press, Kowloon, Hong Kong, pp. 6–13.
- Tam NFY, Wong AHY, Wong MH, Wong YS. 2009. Mass balance of nitrogen in constructed mangrove wetlands receiving ammonium-rich wastewater: Effects of tidal regime and carbon supply. *Ecol. Eng.* 35: 453–462.
- Teichert-Coddington DR, Martínez D, Ramírez E. 2000. Partial nutrient budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* 190: 139–154.
- Van Rijn J. 1996. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture: A review. *Aquaculture* 139: 181–201.
- Van Wyk P. 1999. Economics of shrimp culture in recirculating aquaculture systems. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, USA, pp. 179–208.
- Willen FB. 2003. Biomass dynamics of seagrasses and the role of mangrove and seagrass vegetation and different nutrient sources for an intertidal ecosystem. *Aquat. Bot.* 66: 225–239.
- Wu Y, Chung A, Tam NFY, Pi N, Wong MH. 2008. Constructed mangrove wetland as secondary treatment system for municipal wastewater. *Ecol. Eng.* 34: 137–146.
- Yang Q, Tam NFY, Wong YS, Luan TG, Su WS, Lan CY, Shin PKS, Cheung SG. 2008. Potential use of mangroves as constructed wetland for municipal sewage treatment in Futian, Shenzhen, China. *Mar. Pollut. Bull.* 57: 735–743.
- Ye Y, Tam NFY, Wong YS. 2001. Livestock wastewater treatment by a mangrove pot-cultivation system and the effect of salinity on the nutrient removal efficient. *Mar. Pollut. Bull.* 42: 513–531.

*Received April 2011,  
received in revised form October 2011,  
accepted November 2011.*