

BRUNA LARISSA FERREIRA DE CARVALHO

**ADIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO EM SISTEMA DE BIOFLOCO E TOXICIDADE
DO NITRITO PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei***

RECIFE

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**ADIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO EM SISTEMA DE BIOFLOCO E TOXICIDADE
DO NITRITO PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei***

Bruna Larissa Ferreira de Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia
Orientador

Recife
Fevereiro - 2013

Ficha catalográfica

C331a Carvalho, Bruna Larissa Ferreira de
Adição do nitrito de sódio em sistema de biofloco e toxicidade do nitrito para o camarão *Litopenaeus vannamei* / Bruna Larissa Ferreira de Carvalho. – Recife, 2013.
74 f. : il.

Orientador: Eudes de Souza Correia.
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2013.
Inclui referências e anexo(s).

1. Tecnologia de bioflocos 2. Compostos nitrogenados
3. Toxidez 4. Sobrevivência I. Correia, Eudes de Souza, orientador II. Título

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

Adição do nitrito de sódio em sistema de bioflocos e toxicidade do nitrito para o camarão

Litopenaeus vannamei

BRUNA LARISSA FERREIRA DE CARVALHO

Dissertação apresentada à banca para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida em 25/02/2013 pela seguinte Banca Examinadora

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (Orientador)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Profa. Dra. Juliana Schober Gonçalves Lima
(Membro externo)
Núcleo de Engenharia de Pesca
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Prof. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto
(Membro interno)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes (Membro interno)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (Membro suplente)
Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dedicatória

*Primeiramente a Deus;
Aos amores da minha vida, meus pais,
Evaldo de Carvalho Filho e
Luzia Ferreira de Carvalho.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por tudo que me foi proporcionado durante esses dois anos, por ter me dado força e coragem para alcançar mais um objetivo na minha vida, mesmo distante das pessoas que mais amo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural Pernambuco, por todo o apoio no decorrer do mestrado. Ao Departamento de Pesca e Aquicultura e a Estação de Aquicultura da UFRPE, em nome de todos os professores e funcionários, pela ótima recepção nestes dois anos de convivência e excelente contribuição para minha formação. À Estação de Aquicultura Continental Professor Johei Koike – UFRPE, em nome de todos os funcionários, pela apoio e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa Ciências do Mar pela concessão da Bolsa de Pós-Graduação.

Ao meu orientador Professor Dr. Eudes de Souza Correia pela confiança ao ter aceitado me orientar, pela amizade, incentivo, preocupação e principalmente pelo ensinamento transmitido, obrigada professor. Você é um exemplo!

À minha família que mesmo tão longe se fez presente em todos os momentos. Especialmente aos meus pais, Evaldo de Carvalho Filho e Luzia Ferreira de Carvalho pela atenção e amor que sempre me deram.

Aos amigos do Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAq), Rodolfo de Paula, Marcony Vasconcelos, Felipe Kássio, Rivaldo Siqueira Júnior, Rafael Liano, Eduardo Lima, Everton Pires e Xélem Wambach, pela amizade, companheirismo e ajuda durante o período de execução do experimento. Em especial a João Paulo Lima, Fabiana Penalva e Maria Gabriela Ferreira, os quais foram imprescindíveis para conclusão deste trabalho.

Aos amigos que conviveram comigo durante esse tempo, Emilly Benevides, Danilo Franciso, Mikele Cândida e, principalmente, ao meu parceiro e companheiro Régis Vinícius por toda atenção, preocupação, carinho e amizade. A todos meus amigos de Aracaju que se fizeram presente todo o tempo, com palavras de incentivo e conforto, atenção e companheirismo. Vocês são os melhores! Aos amigos e colegas do Departamento de Pesca e Aquicultura, especialmente aos amigos do Laboratório de Ictiologia pela agradável convivência, amizade, apoio e incentivo.

E a todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte da minha vida durante esse dois anos e contribuíram de alguma forma para minha formação. Obrigada!

Resumo

O acúmulo de nitrito é um dos principais entraves na qualidade da água em sistema de bioflocos. Este composto nitrogenado é bastante tóxico para os organismos aquáticos e em sistemas sem troca de água, as concentrações podem chegar a níveis letais. O presente estudo foi dividido em dois experimentos. No primeiro, objetivou-se avaliar a contribuição da adição prévia de nitrito de sódio (NaNO_2) na formação dos compostos nitrogenados em sistema de bioflocos com *Litopenaeus vannamei*. Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições: 1) com adição de nitrito de sódio 10 dias antes da estocagem (NaNO_2) e 2) sem adição de nitrito de sódio (CTL). As pós-larvas ($0,143 \pm 0,001$ g) foram estocadas em tanques de 50 L na densidade de 1 PL L^{-1} , durante 28 dias. Diariamente foram mensurados os parâmetros físico-químicos da água e semanalmente amônia, nitrito, nitrato, alcalinidade e o volume dos flocos. O segundo experimento teve como objetivo verificar a toxicidade aguda do nitrito em pós-larva ($0,012 \pm 0,03$ g) e juvenis ($2,49 \pm 0,20$ g) para o *L. vannamei* em salinidade 30. Foram utilizadas unidades experimentais com volume útil de 1,6 e 10 L, para pós-larvas e juvenis, respectivamente. O experimento foi realizado nas seguintes concentrações 0, 20, 40, 80, 160, 240, 320, 400 e 480 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. Foram determinadas as concentrações letais medianas (LC_{50}) para pós-larva e juvenis em 24, 48, 72 e 96 h. No primeiro experimento, a adição de NaNO_2 pode ter acelerado a formação de nitrato, entretanto não influenciou as demais variáveis de qualidade de água. Não houve diferença entre os tratamentos para os resultados de desempenho zootécnicos dos camarões. Os dados de sobrevivência para ambos os tratamentos estiveram acima de 95%. No segundo experimento, os valores de concentração letal (LC_{50}) de nitrito em pós-larvas e juvenis para 24, 48, 72 e 96 h foram respectivamente 224,6, 109,43, 41,16, 25,52 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$; e 273,51, 147,97, 113,97, 83,78 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. De acordo com os resultados de LC_{50} foi possível estimar os níveis de segurança para pós-larva e juvenil de *L. vannamei* em 2,55 e 8,38 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$.

Palavras-chave: tecnologia de bioflocos, compostos nitrogenados, toxidez, sobrevivência.

Abstract

The accumulation of nitrite is one of the major constraint on water quality in system biofloc. This nitrogen compound is very toxic to aquatic organisms and systems without water exchange, concentrations can reach lethal levels. This study was divided into two experiments. The first objective was to evaluate the contribution of prior addition of sodium nitrite (NaNO_2) in the formation of nitrogenous compounds in system biofloc with *Litopenaeus vannamei*. It was used a completely randomized design with two treatments and eight replications: 1) with the addition of sodium nitrite to 10 days before storage (NaNO_2) and 2) without the addition of sodium nitrite (CTL). The post-larvae (0.143 ± 0.001 g) were stocked in 50 L tanks at a density of 1 PL L^{-1} for 28 days. Daily we measured physical and chemical parameters of the water weekly and ammonia, nitrite, nitrate, alkalinity and volume of flocs. The second experiment aimed to determine the acute toxicity of nitrite in post-larvae (0.012 ± 0.03 g) and juveniles (2.49 ± 0.20 g) for *L. vannamei* in salinity 30. Experimental units were used with a volume of 10 L and 1.6 L for post-larvae and juveniles respectively. The experiment was conducted in the following concentrations: 0, 20, 40, 80, 160, 240, 320, 400 and 480 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. We determined the median lethal concentration (LC_{50}) for post-larvae and juveniles in 24, 48, 72 and 96 h. In the first experiment, the addition of NaNO_2 may have accelerated the formation of nitrate, however the other variables did not influence water quality. There was no difference between treatments for the results of zootechnical performance of shrimp. The survival data for both treatments were above 95%. In the second experiment, the values of lethal concentration (LC_{50}) of nitrite in post-larvae and juveniles for 24, 48, 72 and 96 h were respectively 224.6, 109.43, 41.16, 25.52 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, and 273.51, 147.97, 113.97, 83.78 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. According to the results of LC_{50} was possible to estimate the levels of security for post-larval and juvenile *L. vannamei* at 2.55 and 8.38 $\text{mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$.

Key words: Biofloc technology, Nitrogen compounds, Survival

Lista de figura

	Página
ARTIGO CIENTÍFICO 1: Efeito da adição de nitrito de sódio nos compostos nitrogenados em sistema de biofloco para <i>Litopenaeus vannamei</i>	
Figura 1. Variação semanal das concentrações médias de NH ₃ -N, NO ₂ -N e NO ₃ -N, no cultivo de <i>L. vannamei</i> sem (CTL) e com adição de nitrito de sódio (NaNO ₂).....	41
Figura 2. Variação semanal das concentrações médias de alcalinidade total e sólidos sedimentáveis no cultivo de <i>L. vannamei</i> sem (CTL) e com adição de nitrito de sódio (NaNO ₂).....	42
ARTIGO CIENTÍFICO 2: Toxicidade aguda do nitrito para pós-larvas e juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i>	
Figura 3. Percentagem de mortalidade para pós-larvas (A) e juvenis (B) de <i>Litopenaeus vannamei</i> expostos a diferentes concentrações de nitrito.....	57

Lista de tabelas

Página

ARTIGO CIENTÍFICO 1: Efeito da adição de nitrito de sódio nos compostos nitrogenados em sistema de biofloco para *Litopenaeus vannamei*

Tabela 1. Variáveis de qualidade da água no cultivo sem a adição (CTL) e com adição prévia de nitrito de sódio (NaNO₂) em sistema de bioflocos com pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*..... 40

Tabela 2. Desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema de bioflocos sem (CTL) e com a adição de nitrito de sódio (NaNO₂), durante 28 dias (média ± erro padrão)..... 43

Tabela 3. Composição centesimal (matéria seca) do biofloco formado durante os 28 dias de cultivo do *Litopenaeus vannamei* sem (CTL) e com adição do nitrito de sódio (NaNO₂)..... 43

ARTIGO CIENTÍFICO 2: Toxicidade aguda do nitrito para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus vannamei*

Tabela 1. Valores de LC₅₀ do NO₂-N (mg L⁻¹) em diferentes períodos de exposição para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus vannamei*..... 58

Tabela 2. Nível de segurança do NO₂-N (mg L⁻¹) para pós-larva e juvenil de *Litopenaeus vannamei*, estimados a partir do LC₅₀ de 96h..... 58

Tabela 3. Valores de LC₅₀ (mg NO₂-N L⁻¹) para pós-larvas e juvenis de peneídeos.... 59

Sumário

Página

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Carcinicultura brasileira.....	12
2.2. Tecnologia de bioflocos.....	14
2.3. Relação Carbono:Nitrogênio.....	17
2.4. Compostos nitrogenados.....	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
4. ARTIGO CIENTÍFICOS.....	33
4.1. ARTIGO CIENTÍFICO 1: Efeito da adição de nitrito de sódio nos compostos nitrogenados em sistema de biofloco para <i>Litopenaeus vannamei</i>	33
4.2. ARTIGO CIENTÍFICO 2: Toxicidade aguda do nitrito para pós-larvas e juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i>	52
5. ANEXOS.....	62

1. INTRODUÇÃO

No contexto da aquicultura, a carcinicultura é uma das atividades econômicas de maior importância no mundo, representando os melhores valores de rentabilidade no setor da aquicultura. No Brasil, a atividade está baseada no cultivo do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) e alcançou, em 2011, uma produção de aproximadamente 70.000 toneladas (ABCC, 2012).

Embora a carcinicultura represente diversos benefícios, sabe-se que a intensificação da produção de camarão pode ocasionar a degradação dos ecossistemas naturais, devido à descarga de efluentes, salinização de solos e corpos d'água, poluição química e disseminação de doenças (BOYD, 2003; OSTRENSKY et al., 2008). Com o objetivo de solucionar tais problemas, o cultivo sem renovação de água "ZEAH" (Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems) ou cultivo em tecnologia de bioflocos (BFT) surge como novo conceito de uma aquicultura responsável e ambientalmente correta (SAMPAIO, 2010).

O sistema de bioflocos estimula a formação de uma biota predominantemente aeróbica, heterotrófica e autotrófica a partir da fertilização com fontes ricas em carbono orgânico e aeração constante do ambiente de cultivo (WASIELESKY et al., 2006a; EMERENCIANO et al., 2007). De acordo com Browdy et al. (2001b) e Azim et al. (2008) a presença de nitrogênio é necessária para formação de proteínas microbianas, onde o nitrogênio inorgânico é imobilizado em novas células bacterianas quando o substrato orgânico tem uma relação carbono:nitrogênio (C:N) elevada (SCHNEIDER et al., 2006; AZIM et al., 2008). Em sistemas aquícolas, a relação C:N pode ser alterada pela adição de fontes de carbono orgânico na água de cultivo.

O cultivo BFT oferece diversas vantagens como maior biosegurança, melhoria da qualidade da água, redução na emissão de efluentes poluídos (BOYD e CLAY, 2002; OTOSHI et al., 2006), possibilidade do uso de rações comerciais com níveis de proteína

reduzidos (KUHN et al., 2009; RAY et al., 2009) e a possibilidade de utilizar elevadas densidades de estocagem em menores áreas de cultivo (AVNIMELECH et al., 2007; KRUMMENAUER et al., 2011). Estes benefícios se devem pela formação de uma biota microbiana que é responsável pela assimilação dos compostos nitrogenados (EBELING et al., 2006) e que também serve como suplemento alimentar, dependendo da habilidade do animal cultivado em capturar e digerir floco bacteriano (AVNIMELECH, 1999).

O aumento da densidade de estocagem ocasiona um acúmulo de nitrogênio no cultivo que é proveniente da excreção dos animais e da decomposição da matéria orgânica (AZIM et al., 2003; AVNIMELECH, 2007). Como o objetivo principal do sistema BFT é a mínima ou nenhuma troca de água, a tendência é que os compostos alcancem concentrações elevadas chegando a níveis tóxicos ou letais para os organismos, exceto quando há um equilíbrio entre os processos de assimilação do nitrogênio (AZIM et al., 2008).

Entre os compostos nitrogenados tóxicos no sistema BFT, o nitrito merece uma atenção particular, pois pode ocorrer o acúmulo devido a um desequilíbrio nas taxas de nitrificação ou ao baixo aproveitamento deste composto pelas bactérias heterotróficas (MEVEL e CHAMROUX, 1981; PHILIPS et al., 2002; EBELING et al., 2006). Elevadas concentrações acarretam efeitos adversos aos camarões cultivados a curto e longo prazo, podendo afetar o crescimento e a sobrevivência dos animais, causando prejuízo na produção (LIN e CHEN, 2003; VINATEA et al., 2010).

Levando em consideração toda esta problemática, pesquisas estão sendo realizadas a partir da adição de cloreto de amônia e de nitrito de sódio com a finalidade de acelerar o processo de formação dos biofocos. Dessa forma, objetivou-se avaliar a eficiência da adição de nitrito de sódio na formação dos compostos nitrogenados em sistema de biofoco, bem como verificar a toxicidade aguda do nitrito em pós-larvas e juvenis desta mesma espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Carcinicultura brasileira

O cultivo de camarão marinho teve início no Brasil na década 1970, baseando-se em tecnologias provenientes de outros países, cujas autenticações e aprimoramentos contribuíram para a formação de um pacote tecnológico próprio adequado à realidade brasileira (MOLES e BUNGE, 2002).

O fortalecimento e o crescimento mundial do cultivo de camarões tiveram início a partir da década de 80, devido aos avanços das tecnologias de reprodução e larvicultura, da crescente demanda do produto no mercado internacional, da excelente rentabilidade e de sua capacidade em gerar emprego e renda (ROCHA e RODRIGUES, 2004). Na década dos anos 90, a carcinicultura marinha brasileira teve um grande impulso com a adoção do *Litopenaeus vannamei* como espécie alvo comercial. Nessa mesma década, os laboratórios nacionais passaram a dominar tecnologias relacionadas à reprodução e produção de pós-larvas, iniciando a distribuição comercial e intensificando as técnicas nas fazendas de camarão (LIMA, 2007).

O Brasil apresentou um crescimento extraordinário até o ano de 2003, quando a produção de camarão proveniente da carcinicultura atingiu 90.190 t, com uma produtividade média de 6.083 kg/ha/ano, considerada a maior já registrada entre todos os países produtores (ROCHA e RODRIGUES, 2004). Entretanto, em 2004, com o surgimento do vírus IMNV (Mionecrose Infecciosa), a ação anti-dumping imposta pelos Estados Unidos contra o camarão brasileiro e especialmente à forte desvalorização do dólar americano, o Brasil perdeu a competitividade nas exportações, tendo como resultado uma redução significativa na produção e como consequência elevada queda nas exportações (RODRIGUES, 2005).

Após esse período de quedas consecutivas, a produção brasileira de camarão proveniente da carcinicultura permaneceu estável de 2005 a 2009 (ROCHA e ROCHA, 2010),

alcançando em 2011 uma produção de aproximadamente 70.000 toneladas, mantendo a produção dos últimos anos (MPA, 2010).

De acordo com os valores reportados pela FAO (2009), Rocha e Rocha (2009) verificaram que a produção do camarão por extrativismo teria atingido seu limite máximo sustentável no mundo, de forma que a crescente demanda por esse produto só poderá ser suprida através da produção em sistemas de cultivo. Por essa razão, o fornecimento desse produto através da carcinicultura vem sendo considerado como essencial, visto que a procura por este tipo de alimento é crescente.

A realização de elevadas trocas de água é um manejo comum entre os produtores para manter a qualidade da água e a produtividade dos sistemas convencionais de cultivo de camarão (WANG, 1990; HOPKINS et al., 1993; MOSS et al., 1999). Entretanto, a entrada de água nos sistemas de cultivo de camarão é a principal via de transmissão de doenças (LOTZ e LIGHTNER, 1999), constante troca de água ocasiona maior descarga de efluentes no ambiente, perda de nutrientes que seriam essenciais durante o ciclo de produção e eutrofização dos sistemas adjacentes (HOPKINS et al., 1995; BROWDY et al., 2001a; SAMOCHA et al., 2004; FIGUEIRÊDO et al., 2006).

Nos cultivos convencionais não é possível aumentar a produção de camarão sem a renovação de água, isso acontece devido ao acúmulo de compostos nitrogenados tóxicos e resíduos metabólicos nos viveiros. Entretanto, muitas vezes a água de cultivo é captada de um corpo hídrico poluído proveniente de grandes cidades, fazendas de camarão adjacentes, áreas agrícolas e industriais, podendo vir contaminado e possivelmente causar problemas no processo produtivo, na biosegurança e na qualidade do produto (GAA, 2003; AVNIMELECH, 2009).

Os sistemas com troca mínima ou nula de água (tecnologia de bioflocos), surgem como uma alternativa para minimizar os riscos associados à exposição de patógenos (BROWDY et

al., 2001b), aproveitando os nutrientes produzidos no cultivo e reduzindo a poluição dos corpos hídricos causada pelo excesso de compostos orgânicos e inorgânicos, que podem causar efeitos tóxicos e riscos ambientais à longo prazo (PIEDRAHITA, 2003; SUGIURA et al., 2006).

2.2. Tecnologia de bioflocos

O sistema sem troca de água começou a se desenvolver na década de 70 com pesquisas do grupo AQUACOP no Tahití (Polinésia Francesa) baseado em bactérias nitrificantes (TACON et al., 2002; CUZÓN et al., 2008), e apenas no início dos anos 90 começou a surgir os conceitos científicos e práticos da tecnologia de biofloco simultaneamente e de forma independente por Steve Hopkins e colaboradores na Carolina do Sul, no Waddell Mariculture Center e por Avnimelech e colaboradores em Israel (AVNIMELECH, 1993; HOPKINS et al., 1993; AVNIMELECH et al., 1994; CHAMBERLAIN e HOPKINS, 1994) Em seguida, o sistema foi desenvolvido em escala comercial e adaptado para fazendas em Belize (Belize Aquaculture Ltda.) (BURFORD et al., 2003).

Existe uma grande necessidade em minimizar os impactos gerados pela carcinicultura e atualmente as pesquisas estão direcionadas para os sistemas com formação de biofloco objetivando maior biossegurança, pouca utilização de água e redução da emissão de efluentes nos ecossistemas costeiros adjacentes às regiões produtoras (BURFORD et al., 2003; WASIELESKY et al., 2006a). A elevada produtividade desse sistema, também é uma das vantagens deste tipo de cultivo, tornando-se atrativo para os produtores investirem nesta nova tecnologia (FARZANFAR, 2006; CRAB et al., 2007; EMERENCIANO et al., 2007).

A tecnologia de bioflocos combina o tratamento de água com a reciclagem de alimento não consumido, aproveitando os efluentes após decantação e oxidação biológica da matéria orgânica, denominados viveiros de suspensão ativa – *Active Suspension Ponds* (ASP)

(AVNIMELECH et al., 1994; CHAMBERLAIN e HOPKINS, 1994; BURFORD et al., 2003; AVNIMELECH, 2006) ou sistemas de cultivo sem renovação de água através de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica – *Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems* (ZEAH) (McINTOSH, 1999; McNEIL, 2000; CHAMBERLAIN et al., 2001b; McGRAW, 2002; ERLER et al., 2005; WASIELESKY et al., 2006a). Bactérias aeróbicas heterotróficas e autotróficas, que predominam nesses sistemas de cultivo, colonizam partículas de resíduos orgânicos e auxiliam na absorção de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes da água (CHAMBERLAIN et al., 2001a).

Os processos microbianos que podem influenciar na redução dos níveis de amônia nos ambientes de cultivo são fotossíntese, mineralização, assimilação, nitrificação e denitrificação. Na nitrificação, os microrganismos são responsáveis pela oxidação da amônia para nitrito e, conseqüentemente, para nitrato (VERSCHUERE et al., 2000). Estas bactérias são autotróficas obrigatórias, consomem dióxido de carbono como fonte primária de carbono, e aeróbios obrigatórios, pois requerem oxigênio para crescer (HAGOPIAN e RILEY, 1998). Os microrganismos presentes no biofoco são capazes de degradar os compostos nitrogenados tóxicos que afetam crescimento, sobrevivência e reprodução dos camarões (BOYD, 2001).

Os compostos nitrogenados, oriundos da excreção dos camarões e dos restos do alimento em decomposição, juntamente com os fertilizantes orgânicos (por exemplo, o melão) na presença constante de aeração, estimulam diretamente a formação de um ambiente heterotrófico propício para o desenvolvimento de agregados microbianos. A relação C:N é de extrema importância no desenvolvimento das bactérias heterotróficas em cultivos intensivos, desempenhando um papel importante na produção de camarão, uma vez que possibilita a reciclagem de nutrientes e quebra dos depósitos orgânicos através de uma variedade de

processos, além de ser uma importante fonte de proteína para os camarões (WASIELESKY et al., 2006a; ASADUZZAMAN et al., 2008).

Os bioflocos são formados durante o ciclo de produção e são constituídos principalmente de bactérias, microalgas, protozoários (AVNIMELECH, 2009), fezes, exoesqueletos, restos de organismos mortos, cianobactérias, protozoários, pequenos metazoários e formas larvais de invertebrados, entre outros (BURFORD et al., 2003; WASIELESKY et al., 2006a). Esses flocos microbianos possuem potencial para contribuir na nutrição do camarão, apresentando um aumento nos níveis de proteína e lipídios com o tempo e reduzindo a quantidade de cinzas. As porcentagens de proteína bruta podem variar de 17 a 42%, os lipídios variam entre 2 e 8% e as cinzas entre 22 a 46% (SOARES et al., 2004).

De acordo com Martinez-Cordova et al. (2003), quando existe elevada abundância de alimento natural no sistema de cultivo, a utilização de dietas com níveis elevados de proteína é desnecessária. A presença do biofloco rico em proteína pode reduzir substancialmente os níveis de proteína nas rações (CHAMBERLAIN et al., 2001b), podendo ocasionar uma diminuição nos custos com alimentação, o que representa mais de 50% das despesas totais de produção (TAN e DOMINY, 1997; MARTINEZ-CORDOVA et al., 2003; SHIAU e BAI, 2009).

Proteínas e outros nutrientes alimentares essenciais são encontradas em níveis satisfatórios nos flocos microbianos (TACON et al., 2002; DECAMP et al., 2003; BURFORD et al., 2004). Os agregados também possuem níveis consideráveis de vitaminas e minerais, sendo desnecessária a adição destes fatores de crescimento na ração, reduzindo em 30% os custos destes insumos (CHAMBERLAIN et al., 2001b). Segundo Avnimelech (2006), uma alimentação baseada em microrganismos floculados é de alta qualidade. No entanto, a eficiência da proteína microbiana utilizada no desenvolvimento dos camarões vai depender da habilidade do animal em capturar e digerir o floco bacteriano (AVNIMELECH, 1999).

Embora o biofloco seja um alimento de elevado teor protéico, o cultivo sem a oferta de ração se torna incompleto para sustentar o crescimento do camarão, sendo assim, a combinação do alimento comercial com o biofloco aumenta significativamente as taxas de crescimento, ganho de peso e reduz o fator de conversão alimentar (WASIELESKY et al., 2006a; RICHARDSON et al., 2011).

2.3. Relação Carbono:Nitrogênio

Sistemas de aquicultura dependem da exploração autotrófica e heterotrófica na cadeia alimentar microbiana. A teia alimentar autotrófica baseia-se na conversão de energia solar, dióxido de carbono dissolvido e nutrientes inorgânicos em biomassa vegetal e oxigênio através da fotossíntese, representando a base da cadeia alimentar aquática. Já a cadeia heterotrófica é representada pela decomposição da matéria orgânica por microorganismos (bactérias, protozoários, fungos), levando a formação de detritos e assimilação de nutrientes inorgânicos. Os microorganismos e detritos associados são consumidos diretamente pelos animais cultivados ou por outros pequenos animais que servem de alimento para a espécie de interesse (COLMAN e EDWARDS, 1987; MORIARTY, 1997).

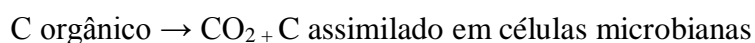
O nitrogênio orgânico proveniente das fezes e dos alimentos não consumidos sofre decomposição e eventualmente produz amônia. Por conseguinte, um nível elevado de proteína alimentar resulta em uma maior concentração de amônia na coluna d'água, que é prejudicial para os animais cultivados e precisam ser removidos do sistema (ACOSTA-NASSAR et al., 1994; GROSS et al., 2000). Este nitrogênio inorgânico pode ser controlado através da manipulação da relação entre carbono e nitrogênio (SCHNEIDER et al., 2006; AZIM et al., 2008).

Na tecnologia de bioflocos é fundamental a utilização de técnicas e domínio da comunidade bacteriana heterotrófica através do balanceamento e manutenção da relação

Carbono:Nitrogênio (C:N). O controle do nitrogênio é realizado através do aporte de carboidratos (açúcares, amido, celulose, glucose, acetato, glicerol, etc) que servem de alimento para as bactérias (HARI et al., 2006; DE SCHRYVER et al., 2008; AVNIMELECH, 2009). Quando as bactérias são alimentadas com substrato orgânico que contém principalmente carbono e pouco ou nenhum nitrogênio (açúcar, amido, melão, farinha de mandioca), elas têm que retirar nitrogênio da água, a fim de produzir a proteína necessária para o crescimento e multiplicação celular (AVNIMELECH, 1999).

A relação entre a adição de carboidratos, a redução de amônia e a produção de proteínas microbianas depende do coeficiente de conversão microbiana, da relação C:N da biomassa microbiana e dos teores de carbono do material adicionado (AVNIMELECH, 2009).

O controle do acúmulo de nitrogênio inorgânico na aquicultura é baseado no metabolismo de carbono e nitrogênio imobilizados em células microbianas (AVNIMELECH, 1999; CRAB et al., 2008.). Bactérias e outros microrganismos utilizam os carboidratos como um alimento para gerar energia e se desenvolver:



A percentagem do carbono assimilado em relação ao carbono metabolizado na alimentação, é definida como a eficiência da conversão microbiana e está no intervalo de 40-60% (PAUL VAN VEEN, 1978; GAUDY e GAUDY, 1980). O nitrogênio também é necessário, uma vez que é o componente principal do novo material celular que é a proteína. As proteínas são os principais componentes dos microrganismos e a relação C:N da maioria das células microbianas é cerca de 4-5. Assim, a utilização de carboidratos é acompanhada pela imobilização de nitrogênio inorgânico, sendo este um processo microbiano essencial que praticamente todos microrganismos realizam (AVNIMELECH, 1999).

A adição de carboidratos é um meio potencial para reduzir a concentração de nitrogênio inorgânico em sistemas de aquicultura intensiva. Adicionando carboidratos à água,

os microrganismos conseguem imobilizar qualquer nitrogênio inorgânico presente na água, de preferência, para a imobilização do nitrogênio da amônia total (TAN). Este processo é relativamente rápido, se a disponibilidade do substrato orgânicos têm uma alta relação C:N (CHAMBERLAIN et al., 2001a; AZIM et al., 2008).

As bactérias heterotróficas possuem a habilidade de sintetizar proteína do carbono orgânico e da amônia. Entretanto, é essencial que a relação C:N seja adequada para utilização das bactérias. Misturas balanceadas de Carbono:Nitrogênio de aproximadamente 20:1 são digeridas mais facilmente pelas bactérias (CHAMBERLAIN et al., 2001b). Schneider et al. (2006) indicam uma relação C/N entre 12-15g C:1g N para uma excelente produção de bactérias heterotróficas. Por sua vez, Wasielesky et al. (2006a) sugerem que a relação C:N necessária para formação do floco microbiano deve estar na faixa entre 14 e 30:1. Entretanto Fontenot et al. (2007) obtiveram maior eficiência da comunidade microbiana com uma relação C:N de 10:1 (FONTENOT et al., 2007).

2.4. Compostos nitrogenados

O acúmulo de substâncias tóxicas inorgânicas, como amônia e nitrito, é um dos principais problemas de qualidade da água em sistemas de aquicultura intensiva (COLT e ARMSTRONG, 1981). Os organismos aquáticos, incluindo o camarão, excretam constantemente amônia, podendo ocorrer o acúmulo deste composto nitrogenado no cultivo. Caso essa substância não seja removida, altas concentrações de amônia nos sistemas reduzem o crescimento dos camarões, podendo até mesmo causar mortalidade (OSTRENSKY e WASIELESKY, 1995; CHAMBERLAIN et al., 2001).

A amônia, principal forma de excreção do nitrogênio pelos crustáceos (RACOTTA e HERRERA, 2000), é um composto resultante do catabolismo das proteínas (CAMPBELL, 1973). É comumente tóxica, resultado da excreção dos animais cultivados e mineralização dos

detrimentos orgânicos (LIN e CHEN, 2001). Quando a concentração de amônia aumenta no ambiente aquático, a excreção diminui, ocasionando um aumento do nível deste composto no sangue e nos tecidos, provocando redução ou paralisação da atividade alimentar (VINATEA, 1997).

No ambiente aquático, a amônia está presente na forma ionizada (NH_4^+) e não ionizada (NH_3), a soma das duas constitui a amônia total ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$). O equilíbrio desse composto depende do pH, temperatura e salinidade (VINATEA, 1997). Segundo Russo (1985) a forma não ionizada é a mais tóxica, pois as membranas celulares dos organismos aquáticos são relativamente permeáveis ao NH_3 , mas não ao NH_4^+ . Meade (1989) constata que a forma não ionizada aumenta dez vezes para cada grau de pH que aumente na água.

O manejo do sistema e o conhecimento dos níveis de tolerância de uma espécie, em relação à qualidade da água, são fatores imprescindíveis em qualquer sistema de cultivo (KINNE 1976). De acordo com Ostrensky e Wasielesky (1995), tais fatores influenciam decisivamente no resultado positivo da produção aquícola.

O alimento proteico ofertado nos cultivos é uma das principais fontes de amônia na água do cultivo, uma vez que os animais aquáticos precisam de uma elevada concentração de proteínas na ração, porque a sua via de produção de energia depende, principalmente, na oxidação e catabolismo das proteínas (HEFER, 1988).

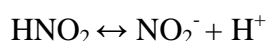
A metabolização dos compostos nitrogenados tóxicos aos animais aquáticos é realizada por uma diversidade de microorganismos, porém as bactérias heterotróficas e autotróficas nitrificantes parecem ter maior importância no sistema de bioflocos, sendo as nitrificantes responsáveis pelo processo de nitrificação (EBELING et al., 2006; HARGREAVES, 2006). A nitrificação é um processo dividido em duas etapas, sendo a primeira responsável pela oxidação biológica da amônia em nitrito e, em seguida, do nitrito ao nitrato, tendo o oxigênio como receptor final de elétrons (RITMANN e McCARTY, 2001).

Neste processo, a amônia é oxidada em nitrito (nitritação) através das bactérias Amônia-Oxidantes (AOB), pertencente aos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibri*. As bactérias Nitrito-Oxidantes (NOB) fazem a oxidação do nitrito a nitrato (nitratação), sendo a maioria delas pertencentes aos gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina*, entretanto estas últimas possuem um crescimento mais lento que as AOB, possivelmente levando a um maior acúmulo de nitrito no sistema (VAN LOOSDRECHT e JETTEN, 1998; HAGOPIAN e RILEY, 1998).

As bactérias nitrificantes são autotróficas aeróbias obrigatórias e geram energia através da oxidação de NH_4 e NO_2 . Dessa forma, é produzida a proteína celular, reduzindo a produção de CO_2 . O rendimento energético da oxidação de NH_4 ou NO_2 é bastante inferior, sendo o processo energético o principal responsável por um coeficiente de conversão muito baixo. Apenas cerca de 10-14% do rendimento no processo de quimio-oxidação é convertida para a produção de material celular, comparando com cerca de 50% em heterotróficos (Ebeling et al., 2006). Segundo Boyd (1979), estas reações de nitrificação são mais rápidas com pH entre 7 e 8, e temperaturas de 25 a 35°C.

Os principais gêneros envolvidos no processo, *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, são aeróbios obrigatórios, utilizam preferencialmente o dióxido de carbono como fonte de carbono inorgânico. A faixa ótima de pH recomendada está entre 7-9 (HENZE et al., 1997). Em sistemas com baixa concentração de oxigênio dissolvido (~ 0,5 mg/L) ocorre acumulação de nitrito, pois as bactérias do gênero *Nitrosomonas* crescem mais rápido, indicando assim que as *Nitrobacter* são mais sensíveis à baixas concentrações de oxigênio dissolvido (CALLADO e FORESTI, 2001). Segundo Rios da Silva (2009) é indispensável a estabilização das bactérias nitrificantes nos sistemas de biofilmes, pois estas possuem maior eficiência na remoção do nitrogênio.

O nitrito é o composto intermediário no processo de nitrificação ou produto da denitrificação do nitrato (em ambientes redutores). Dependendo das concentrações e do estágio de desenvolvimento do organismo aquático cultivado, pode vir a ser bastante tóxico, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo (BROWNELL, 1980; THURSTON 1980). Segundo Colt e Armstrong (1981), a reação de ionização do nitrito expressa-se da seguinte forma:



onde o ácido nitroso (HNO_2) corresponde à forma não ionizada e o nitrito (NO_2^-) à forma ionizada (TOMASSO, 1994).

Elevadas concentrações de nitrito em ambientes aquáticos, podem causar problemas hemolinfáticos. Nos artrópodes e moluscos, moléculas de oxigênio se ligam ao cobre em sítios ativos da hemocianina. O mecanismo de toxicidade do nitrito atua sobre o processo de transporte de oxigênio, ou seja, o nitrito se liga à hemocianina, ocupando o lugar do oxigênio, transformando a hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos. Dessa forma, ocorre uma redução na quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (TAHON et al., 1988), podendo ocorrer hipóxia e conseqüentemente mortalidade dos organismos cultivados (CHEN et al., 1986).

Recentemente, estão sendo realizados experimentos com a adição de cloreto de amônia e de nitrito de sódio com a finalidade de acelerar o processo de formação dos bioflocos. A adição de nitrito de sódio parece ter contribuído para um rápido crescimento e estabilização das bactérias nitrito-oxidantes no sistema, conseguindo reverter os problemas da elevada concentração de nitrito dissolvido na água durante cultivo (OTOSHI et al., 2011). Entretanto, as pesquisas ainda são escassas e pouco se sabe sobre a influência da adição de sais no sistema de bioflocos e sua real eficácia na redução das concentrações de nitrito, visto que não

foi estabelecida uma metodologia que auxilie a determinar as concentrações e periodicidade de adição.

O nitrato é considerado a forma menos tóxica dos compostos nitrogenados, mas por ser o produto final da nitrificação, pode acumular-se em quantidades bastante elevadas, principalmente em sistemas fechados de cultivo (THURSTON et al., 1978). Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais em vários organismos, ou ainda, atuar simultaneamente com outras formas nitrogenadas, tornando-se importante o estudo dos seus efeitos tóxicos em diferentes espécies aquáticas (SANTOS et al., 1993).

Segundo Rand e Petrocelli (1985), a concentração e o tempo necessário para que um composto produza um efeito tóxico, depende do agente químico, da espécie cultivada e severidade do efeito. A sensibilidade dos organismos para um composto tóxico pode variar de acordo com o seu estágio de desenvolvimento, assim como a debilidade desse organismo por algum patógeno (WAJSBROT et al. 1993). A variação da toxidez é pequena para organismos de mesma espécie e idade similares, e geralmente maiores entre espécies diferentes. Os testes de toxicidade podem ser produzidos através de exposições letais (curto período) ou crônicas (longo período) ao produto químico (RAND e PETROCELLI, 1985),

Na literatura existem alguns trabalhos referente ao efeito dos compostos nitrogenados para *L. vannamei*: Lin e Chen (2001) analisaram o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda da amônia em juvenis; Enquanto que Schuler (2010) analisou a toxicidade da amônia e do nitrito para pós-larvas em baixas salinidades; Por sua vez, Gross et al. (2004) determinaram o efeito crônico e agudo (96h) do nitrito em juvenis; Sowers et al. (2004) analisaram os efeitos tóxicos do nitrito sobre juvenis em água do mar e artificial com baixa salinidade; e Lin & Chen (2003) analisaram o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda do nitrito em juvenis. Entretanto estudo sobre a toxicidade aguda do nitrogênio do nitrito em pós-larva e juvenis de *L. vannamei* em salinidade 30‰ ainda é escasso.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Análise da balança comercial, das potencialidades e dos entraves confrontados pelo setor aquícola brasileiro, com destaque para a carcinicultura. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC**. Ed. 2, p.14–19, 2012.
- ACOSTA-NASSAR, M.V., MORELL, J.M., CORREDOR, J.E. The nitrogen budget of a tropical semi-intensive fresh water fish culture pond. **Journal of the World Aquaculture Society** v.25, p.261–270, 1994.
- ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M.A.; VERDEGEM, M.C.J.; HUQUE, S.; SALAM, M.A.; AZIM, M.E. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. **Aquaculture**, v.280, p.117–123, 2008.
- AVNIMELECH, Y. Control of microbial activity in aquaculture systems: active suspension ponds. **World Aquaculture** 34(4): 19-21. 1993
- AVNIMELECH, Y.; KOCHVA, M.; DIAB, S. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. **Aquaculture Bamidgeh**, v.46, p.119-131, 1994.
- AVNIMELECH, Y. Carbon/ nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v.176, p.227-235, 1999.
- AVNIMELECH, Y. Bio-filters: The need for an new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, v.34 , p.172-178, 2006.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v.264, p.140–147, 2007.
- AVNIMELECH, Y. **Biofloc technology - A Practical Guide Book**. Louisiana, LA, United States, 2009. 182 p.
- AZIM, M.E.; VERDEGEM, M.C.J.; MANTINGH, I.; VAN DAM, A.A.; BEVERIDGE, M.C.M.. Ingestion and utilization of periphyton grown on artificial substrates by Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, v,34, p.85–92, 2003.
- AZIM, M.E.; LITTLE, D.C.; BRON, J.E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. **Bioresource Technology**, v.99, p.3590–3599, 2008.
- BOYD, C. **Water Quality in Warmwater Fish Ponds**. Agricultural Experiment Station. Auburn University. Opelika, Alabama, USA. 1979. 359p.

- BOYD, C.E. Manejo da qualidade da água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC**, Recife, 2001. 156p.
- BOYD, C.E.; CLAY, J. Evaluation of Belize Aquaculture Ltd.: Superintensive shrimp aquaculture system. Shrimp Farming and the Environment. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment, 17p. 2002.
- BOYD, C.E. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm - level. **Aquaculture**, v.226, p.101-112, 2003.
- BROWDY, C.L.; BRATVOLD, D.; HOPKINS, J.S.; STOKES, A.D.; SANDIFER, P.A. Emerging technologies for mitigation of environmental impacts associated with shrimp aquaculture pond effluents. **Asian Fisheries Science**, v.14, p.255-267, 2001a.
- BROWDY, C.L.; BRATVOLD, D.; STOKES, A.D.; MCINTOSH, R.P. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, USA, pp. 20–34, 2001b.
- BROWNELL, C.L. Water quality requirements for first feeding in marine fish larvae: ammonia, nitrite and nitrate. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v.44 p.269-283, 1980.
- BUIKEMA A.L.; NIEDERLEHNER, R.R.; CAIRNS, J.J. Biological monitoring Part IV. Toxicity testing. **Water Res.** 16: 239-262, 1982.
- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, v.219, p.393-411, 2003.
- BURFORD, M.A.; THOMPSON, P.J.; MCINTOSH, R.P.; BAUMAN, R.H.; PEARSON, D.C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity zero-exchange system. **Aquaculture**, v.232, p.525-537, 2004.
- CALLADO, N.H.; FORESTI, E. Removal of organic carbon, nitrogen and phosphorus in sequential batch reactors integrating the anaerobic/aerobic process. **Water Science & Technology**, v.44, p.263-270, 2001.
- CAMPBELL, J. Nitrogen excretion. In: C.L. Prosser, Ed. Comparative Animal Physiology. W. B. Saunders, Philadelphia. p.279 – 316, 1973.
- CHAMBERLAIN, G. W.; HOPKINS, J. S. Reducing water use and feed cost in intensive ponds. **World Aquaculture**, v. 25, p. 29-32, 1994.

CHABERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N - I: Nutrient transformation and water quality benefits. **The Global Aquaculture Advocate**, p.53-56, 2001a.

CHAMBERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R.; VELASCO, M. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N. III: Practical Applications. **The global Aquaculture Advocate**, v.4, p.50-54, 2001b.

CHEN, J.C.; CHIN, C.K.; LEE, C.K. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The First Asian Fisheries Forum. **Asian Fisheries Society**, p.657-662, 1986.

COLMAN, J.A., EDWARDS, P. Feeding pathways and environmental constraints in waste-fed aquaculture: balance and optimization. In: Moriarty, D.J.W., Pullin, R.S.V. (Eds.), *Detritus and Microbial Ecology in Aquaculture*. ICLARM Conference Proceedings No. 14. ICLARM: Manila. p. 240–81, 1987.

COLT, J.E.; ARMSTRONG, D.A. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: ALLEN, L.J., EC KINNEY. (eds) *Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 1981. p34-47.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270 (1–4), p. 1–14, 2007.

CUZON, G.; GOGUENHEIM, J.; GAXIOLA, G. AQUACOP. 2008. Floc contribution to penaeid intensive culture. p.365-381. Editores L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Juan Pablo Lazo y Ma. Teresa Viana. *Avances en Nutrición Acuicola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuicola* 24-27 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 2008.

DE SCHRYVER, P.D.; CARB, R.; DEIFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v.277, p.125-137, 2008.

DECAMP, O.; CODY, J.; CONQUEST, L.; DELANOY, G.; TACON, A G. J. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Bonne), with experimental zero exchange culture systems. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 345-355, 2003.

- EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v.257, p.346-358, 2006.
- EMERENCIANO, M.G.C.; WASIELESKY, W.; SOARES, R.B.; BALLESTER, E.C.; IZEPPI, E.M.; CAVALLI, R.O. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n.1, p.1-7, 2007.
- ERLER, D.; SONGSANGJINDA, P.; KEAWTAWEE, T.; CHAIYAKUM, K. Preliminary investigation into the effect of carbon addition on growth, water quality and nutrient dynamics in zero-exchange shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. **Asian Fisheries Science**, v. 18, p. 195-204, 2005.
- FARZANFAR, A. The use of probiotics in shrimp aquaculture. **Imunol. Med. Microbiol.**, v.48, p.149-158, 2006.
- FIGUEIRÊDO, M.C.B.; ARAÚJO, L.F.P.; ROSA, M.F.; MORAIS, L.F.S.; PAULINO, W.D.; GOMES, R.B. Impactos ambientais da carcinicultura de águas interiores. **Eng. Sanit. Ambient.** v.11, p.231-240, 2006.
- FONTENOT, Q.; BONVILLAIN, M.; KILGEN, M.; BOOPATHY, R. Effects of temperature, salinity, and carbon:nitrogen ratio on sequencing batch reactor treating shrimp aquaculture wastewater. **Bioresource Technology**, v.98, p.1700-1703, 2007.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **The state of World fisheries and aquaculture**. Rome: FAO, 2009. 176 p.
- GAA, 2003. Codes of Practice for Responsible Shrimp Farming. Disponível em: <www.Gaalliance.org/code.html>. Acesso em: 13 fevereiro 2003.
- GAUDY, A.F.; Gaudy, E.T. **Microbiology for Environmental Scientists and Engineers**. McGraw-Hill, New York, 1980. 736 p.
- GROSS, A., BOYD, C.E., WOOD, C.W. Nitrogen transformations and balance in channel catfish ponds. **Aquacultural Engineering**, v.24, p.1–14, 2000.
- GROSS, A.; ABUTBUL, S.; ZILBERG, D. Acute and Chronic Effects of Nitrite on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Cultured in Low-Salinity Brackish Water. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 35, p. 315-321, 2004.
- HAGOPIAN, D.S.; RILEY, J.G. A closer look at the bacteriology of nitrification. **Aquacultural Engineering**, v. 18, p. 223-244, 1998.
- HARGREAVES, J.A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v.34, p.344–363, 2006.

- HARI, B.; MADHUSOODANA KURUP, B.; VARGHESE, J.T.; SCHRAMA, J.W.; VERDEGEM, M.C.J. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture. **Aquaculture**, v.252, p.248-263, 2006.
- HENZE, M.; HARREMOES, P.; JANSEN, J. L. C.; ARVIN, E. **Wastewater treatment: biological and chemical process**. 2ª Edição, Berlin Heidelberg: Springer Verlag. 1997. 383p
- HOPKINS, J.S.; HAMILTON, R.D.; SANDIFER, P.A.; BROWDY, C.L.; STOKES, A. D. (1993) Effect of water exchange rates on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budget in intensive shrimp ponds. **Journal of the World Aquaculture Society**. 24, p. 304–320, 1993
- HOPKINS, J.S.; SANDIFER, P.A.; BROWDY, C.L. Effect of two feed protein levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive shrimp ponds operated without water exchange. **Journal of the World Aquaculture Society** 26, p. 93–97, 1995.
- KINNE, O. 1976. **Marine Ecology**, John Wiley and Sons, New York, NY, 577 p.
- KRUMMENAUER, D.; PEIXOTO, S.; CAVALLI, R.; POERSCH, L.H.; WASIELESKY, W. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal World Aquaculture Society**. 42(5),726:733, 2011.
- KUHN, D.D.; BOARDMAN, G.D.; LAWRENCE, A.L.; MARSH, L., FLICK, G.J. Microbial flocs generated in bioreactors is a superior replacement ingredient for fishmeal or soybean meal in shrimp feed. **Aquaculture** 296, p.51–57, 2009.
- LIMA, A.P.S. Estrutura genética de populações cultivadas do camarão marinho *litopenaeus vannamei* em Pernambuco. 2007. 85p. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- LIN, Y. C.; CHEN, J. C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone Juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marina Biology and Ecology**, v.259, p.109-119, 2001.
- LIN, Y-C.; CHEN, J-C. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. **Aquaculture**, 224,193-201, 2003.
- LOTZ, J.M.; LIGHTNER, D.V. Shrimp biosecurity: pathogens and pathogen exclusion. In: Bullis RA, Pruder GD (eds) Controlled and biosecure production systems, preliminary proceedings of a special integration of shrimp and chicken models. **Journal of the World Aquaculture Society**, Sydney, Australia, 27–30th April, p.70–72, 1999.
- MARTINEZ-CORDOVA, L.R.; CAMPAÑA, A.T.; PORCHAS-CORNEJO, M.A. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*)

and white (*Litopenaeus vannamei*) in microcosms. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.155-160, 2003.

McGRAW, W. J. Utilization of heterotrophic and autotrophic bacteria in aquaculture. **The Global Aquaculture Advocate**, p. 82-83, 2002.

McINTOSH, R. P. Changing paradigms in shrimp farming – I: general description. **The Global Aquaculture Advocate**, August/October, p.40-47, 1999.

McNEIL, R. Zero exchange, aerobic, heterotrophic systems: key considerations. **The Global Aquaculture Advocate**, v.3, 72–76, 2000.

MEADE, J. **Aquaculture Management**. AVI Book. New York, 1989. 175p.

MENDES, P.P. 1999. **Estatística aplicada à aqüicultura**. Recife: Bagaço. 265p.

MEVEL, G.; CHAMROUX, S. A study on nitrification in the presence of prawns (*Penaeus japonicus*) in marine closed systems, **Aquaculture** 23, 29-43, 1981.

MOLES, P.; BUNGE, J. **Shrimp farming in Brazil: an industry overview**. Roma: FAO/WWF/NACA, 2002, 26 p.

MORIARTY, D.J.W. The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture** v.151, p.333–349, 1997.

MOSS, S.M.; PRUDER, G.D.; SAMOCHA, T.M. Environmental management and control: controlled ecosystem and biosecure shrimp grow-out systems. In: Bullis RA, Pruder GD (eds) Controlled and biosecure production systems, preliminary proceedings of a special integration of shrimp and chicken models. **Journal the of World Aquaculture Society**, Sydney, Australia, 27–30th April, p. 87–91, 1999.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura - Brasil**, 2010. 128 p.

OSTRENSKY, A.; W WASIELESKY. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, **Aquaculture**. v.132, p.339-347, 1995.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R.; SOTO, D. **Aqüicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Brasília, 276 p, 2008.

OTOSHI, C.A.; TANG L.R.; DAGDABAN, D. et al. Super intensive growout of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Recent advances at the oceanic institute. In: International Conference Recirculating Aquaculture, 6., 2006, Blacksburg. **Proceedings...** Blacksburg: Virginia Tech University, 2006.

OTOSHI, C.; RODRIGUEZ, N.; MOSS, S. Establishing nitrifying bacteria in super intensive biofloc shrimp production. **Global Aquac. Advocate**, v14, p24-26, 2011.

PAUL, E.A.; Van VEEN, J.A. The use of tracer to determine the dynamic nature of organic matter. Proceedings of the 11th International Congress of Soil Science, Edmonton, Canada, 1978, V.3, p.61–102.

PHILIPS, S.; LAANBROEK, H.J.; VERSTRAETE, W. Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.** 1,115-141, 2002.

PIEDRAHITA, R. H., Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture** 226 (1–4), p. 35–44, 2003.

RACOTTA, I. S.; HERRERA, R. H. Metabolic responses of the White shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology.** v.125, p.437-443, 2000.

RAND, G.M.; PETROCELLI P.R. **Fundamentals of aquatic toxicology.** Ed. Taylor & Francis, USA, 1985. 666p.

RAY, A.J.; SHULER, A.J.; LEFFLER, J.W.; BROWDY, C.L. Microbial ecology and management of biofloc systems. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. (Eds.). The rising tide, Proceedings of session on sustainable shrimp Farming, **Journal of the World Aquaculture Society.** Baton Rouge, Louisiana USA, p.255-266. 2009.

RIOS DA SILVA, K. Dinâmica do nitrogênio e do fósforo no cultivo superintensivo de *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus paulensis* sem renovação de água. 2009. 68p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul.

RITTMANN, B.E. McCARTY, P.L. **Environmental biotechnology** – principles and applications. McGraw-Hill International Edition, Singapore, 2001. 754p.

ROCHA, I.P.; RODRIGUES, J. A carcinicultura brasileira em 2003. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, v.6, p.30-36, 2004.

ROCHA, I. P.; ROCHA, D. M. **Carcinicultura marinha: Realidade para o Brasil.** Natal: ABCC, 2009. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/download/Carcinicultura%20Marinha%202009%20Fevereiro2010%20.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2012.

ROCHA, I.P.; ROCHA, D.M. Análise da produção e do mercado interno e externo do camarão cultivado. **Revista ABCC**, Recife, ano 12, nº 1, jun. 2010, p. 18-23, 2010.

RODRIGUES, J. Carcinicultura marinha – desempenho em 2004. **Revista da ABCC**, v.7, n. 2, p. 38-44, 2005.

RUSSO, R. Ammonia, nitrite and nitrate. In: G. Rand e S. Petrocelli, eds., **Fundamentals of Aquatic Toxicology.** Hemisphere Publishing Corporation. New York, USA, 1985. p.455-471.

SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; GANDY, R.L. Heterotrophic intensification of pond shrimp production. In: The fifth international conference of recirculating aquaculture, 2004. Virginia. **Anais**. 22–25 July 2004, Roanoke, Virginia, USA.

SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B.; WASIELESKY, W. Avanços da maricultura na primeira década do século XXI: piscicultura e carcinocultura marinha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.102-111, 2010.

SANTOS, M.H.S.; MIRANDA, K.F.; POERSCH, L.H.; WASIELESKY, W. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarões. **Anais**. 1993. p.811-821.

SCHNEIDER, O.; SERETI, V.; EDING, E.H.; VERRETH, J.A.J. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. **Aquaculture**, v.261, p. 1239-1248, 2006.

SCHULER, D.J.; BOARDMAN, G.D. Acute toxicity of ammonia and nitrite to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.41, p.438-446, 2010.

SHIAU, S.Y.; BAI, S. Micronutrientes in shrimp diets. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. (Eds.). **The rising tide, Proceedings of session on sustainable shrimp Farming**, World Aquaculture Society 2009, Baton Rouge, Louisiana USA. p.126-132, 2009.

SOARES, R., JACKSON, C., COMAN, F., PRESTON, N. Nutricional composition of flocculated material in experimental zero-exchange system for *Penaeus monodon* In: Australasian Aquaculture, 2004. Australasian Aquaculture 2004 - Profiting from Sustainability. WAS, Sydney. p. 98. 2004.

SOWERS, A.; YOUNG, S.P.; ISELY, J.F.; BROWDY, C.L.; TOMASSO, J.R. Nitrite Toxicity to *Litopenaeus vannamei* in Water Containing Low Concentrations of Sea Salt or Mixed Salts. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.35, p.445-451, 2004.

SUGIURA, S.H.; MARCHANT, D.D.; WIGINS, T.; FERRARIS, R.P. Effluent profile of commercially used low-phosphorus fish feeds. **Environmental Pollution**, 140, 95–101, 2006.

TACON, A. G. J.; CODY, J.; CONQUEST, L.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I. P.; DECAMP, O. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 121-137, 2002.

TAHON, J.P.; VAN HOOFF, D.; VINCKIER, C.; WITTERS, R. De LEY, M.; LONHE, R. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. **Biochemical Journal**, v.249, p233-242, 1988.

TAN, R.K.H.; DOMINY, W.G. Commercial pelleting of crustacean feeds. In: D'ABRAMO, LR, DE CONKLIN, & MD AKIYAMA (Ed.). **Crustacean Nutrition**. World Aquaculture Society, Baton Rouge. p. 520-549, 1997.

THURSTON, R.V.; RUSSO, R.C.; SMITH, C.E. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. **Trans. Am. fish. Soc.**, v.107, p361-368, 1978.

THURSTON, RV. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. **EPA Ecol. Res. Ser.**, EPA-600/9-80-034: p.118-137, 1980.

TOMASSO, J.R. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. **Reviews in Fisheries Science**, v.2, p.291-314, 1994.

VAN LOOSDRECHT., M.C.M.; JETTEN, M.S.M Microbiological conversions in nitrogen removal. **Water science and technology**, v.38, p.1-7, 1998.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, n.4, p. 655-671, 2000.

VINATEA, L. **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. Florianópolis: UFSC, 1997. 166p.

VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.O.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B.L.; LAWSON, A.; SCHULER, A.; LEFFLER, J.W. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. **Aquacultural Engineering**. 42,17-24, 2010.

WAJSBROT, N.; GASITH, A.; DIAMANT, A.; POPPER, D.M. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. **Journal of Fish Biology**, 42, p321-328, 1993.

WANG, J.K. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. **Aquacultural Engineering**, v.9, p.61-73, 1990.

WASIELESKY, W.; EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E.; SOARES, R.; CAVALLI, R.; ABREU, P.C. Cultivos em meios com flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. **Panorama da Aquicultura**, v.16, p.14-23, 2006a.

WASIELESKY, Jr. W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C.L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture** 258, 396-40, 2006b.

4. ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1. ARTIGO CIENTIFÍCO 1

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa Dissertação está apresentado no artigo intitulado **“Efeito da adição do nitrito de sódio nos compostos nitrogenados em sistema de biofloco para *Litopenaeus vannamei*”** (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

**“EFEITO DA ADIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO NOS COMPOSTOS
NITROGENADOS EM SISTEMA DE BIOFLOCO PARA *Litopenaeus vannamei*”**

Manuscrito a ser submetido à revista

Boletim do Instituto de Pesca, ISSN 0046-9939.

1 **EFEITO DA ADIÇÃO DO NITRITO DE SÓDIO NOS COMPOSTOS NITROGENADOS**
2 **EM SISTEMA DE BIOFLOCO PARA *Litopenaeus vannamei***

3

4 Bruna Larissa Ferreira de CARVALHO^{1*}, Fabiana Penalva de MELO¹, João Paulo Viana de
5 LIMA^{1,2}, Maria Gabriela Padilha FERREIRA¹, Eudes de Souza CORREIA^{1*}

6

7 ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura,
8 Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAq), 52171-900, Recife, PE, Brasil.

9 ²Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), C.P. 1022, 50761-000, Recife, PE, Brasil.

10

11

RESUMO

12 A tecnologia de bioflocos oferece diversas vantagens, entretanto por se tratar de um sistema
13 fechado pode ocorrer o acúmulo de substâncias tóxicas indesejáveis ao cultivo como os
14 compostos nitrogenados. No presente estudo objetivou-se analisar a influência da adição
15 prévia do nitrito de sódio (NaNO₂) na formação dos compostos nitrogenados em sistema de
16 bioflocos com *Litopenaeus vannamei*. Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado
17 com dois tratamentos e oito repetições: 1) com adição de nitrito de sódio 10 dias antes da
18 estocagem (NaNO₂) e 2) sem adição de nitrito de sódio (CTL). As pós-larvas (0,143 ± 0,001 g)
19 foram adquiridas de uma larvicultura comercial e estocados em tanques de 50 L na
20 densidade de 1 PL L⁻¹, durante 28 dias. Não foram encontradas diferenças significativas para
21 as variáveis de qualidade de água mensuradas diariamente. Para as demais variáveis foi
22 observada diferença significativa apenas para o nitrato no tratamento com adição de nitrito
23 de sódio. Não houve diferença entre os tratamentos para os resultados da composição
24 centesimal do bioflocos e do desempenho zootécnico dos camarões. A adição prévia do
25 nitrito de sódio não influenciou na produtividade do sistema, interferindo apenas no
26 aumento da concentração de nitrato.

27

28

29

30

31

32 **Palavras-chave:** Tecnologia de bioflocos, Compostos nitrogenados, Sobrevivência.

EFFECT OF ADDITION OF SODIUM NITRITE IN THE NITROGEN COMPOUNDS IN
BIOFLOC SYSTEM FOR *Litopenaeus vannamei*

ABSTRACT

Biofloc technology offers several advantages, however, since it is a closed system can occur buildup of toxic reactions to cultivation as the nitrogen compounds. The present study aimed to analyze the influence of prior addition of sodium nitrite (NaNO_2) in the formation of nitrogenous compounds in biofloc system with *Litopenaeus vannamei*. We adopted a completely randomized design with two treatments and eight replications: 1) with the addition of sodium nitrite to 10 days before storage (NaNO_2) and 2) no added sodium nitrite (CTL). The post-larvae (0.143 ± 0.001 g) were purchased from a commercial hatchery and stocked in 50 L tanks at a density of 1 PL L^{-1} for 28 days. No significant differences were found for the water quality variables measured daily. For the other variables significant difference was observed only for nitrate treatment with added sodium nitrite. There was no difference between treatments for the results of the proximate composition and live performance biofloc shrimps. The prior addition of the sodium nitrite had no effect on system productivity by interfering only in increasing the nitrate concentration.

Key words: Biofloc technology, Nitrogen compounds, Survival.

INTRODUÇÃO

Os compostos nitrogenados, oriundos da excreção dos camarões e dos restos alimentares em decomposição combinados com os fertilizantes orgânicos (melaço) na presença constante de aeração, estimulam diretamente a formação de um ambiente heterotrófico propício para o desenvolvimento de agregados microbianos.

A relação Carbono:Nitrogênio (C:N) é de extrema importância no desenvolvimento das bactérias heterotróficas em cultivos intensivos, desempenhando um papel importante na produção de camarão, uma vez que possibilita a reciclagem de nutrientes e quebra dos

64 depósitos orgânicos através de uma variedade de processos, além de ser uma importante
65 fonte de proteína (WASIELESKY et al., 2006; ASADUZZAMAN et al., 2008).

66 A tecnologia de bioflocos (BFT) oferece diversas vantagens como maior biosegurança,
67 melhoria da qualidade da água, redução na emissão de efluentes poluídos (MIREN, 1995;
68 McINTOSH et al., 2000; BURFORD et al., 2003), uso de rações comerciais com níveis de
69 proteína reduzidos (RAY et al., 2009) e a possibilidade de utilizar elevadas densidades de
70 estocagem (AVNIMELECH et al., 2009; KRUMMENAUER et al. 2011). Estes benefícios ocorrem
71 pela formação de uma biota microbiana que é responsável pela assimilação dos compostos
72 nitrogenados (EBELING et al., 2006) e que também serve como suplemento alimentar,
73 dependendo da habilidade do organismo cultivado em capturar e digerir flocos bacterianos
74 (AVNIMELECH, 1999).

75 O aumento da densidade de estocagem ocasiona um acúmulo de nitrogênio no cultivo
76 que é proveniente da excreção dos animais e da decomposição da matéria orgânica
77 (AVNIMELECH, 2007; AZIM et al., 2008). Como o objetivo principal do sistema BFT é a
78 mínima ou nenhuma troca de água, a tendência é que os compostos alcancem concentrações
79 elevadas chegando a níveis tóxicos ou letais para os organismos, exceto quando há um
80 equilíbrio entre os processos de assimilação do nitrogênio (AZIM et al., 2008).

81 O acúmulo de substâncias tóxicas inorgânicas, como amônia e nitrito, é um dos
82 principais problemas de qualidade da água em sistemas de aquicultura intensiva (COLT e
83 ARMSTRONG, 1981). Entre os compostos nitrogenados tóxicos no sistema BFT, o nitrito
84 merece uma atenção maior, pois pode ocorrer o acúmulo devido ao desequilíbrio nas taxas
85 de nitrificação ou baixo aproveitamento deste composto pelas bactérias heterotróficas
86 (MEVEL e CHAMROUX, 1981; PHILIPS et al. 2002; EBELING et al., 2006). Elevadas
87 concentrações acarretam efeitos tóxicos aos camarões cultivados a curto e longo prazo,
88 podendo afetar o crescimento e a sobrevivência dos animais, causando prejuízo na produção
89 (VINATEA et al., 2010; LIN e CHEN, 2003).

90 Para evitar que as concentrações dos compostos nitrogenados atingissem níveis tóxicos
91 no sistema de bioflocos, Sesuk et al., (2009) analisaram o desenvolvimento prévio da
92 comunidade bacteriana através da adição de compostos que podem servir como
93 estimuladores do crescimento microbiano antes do início do cultivo, estabilizando assim, a
94 população de microorganismos antes da estocagem dos animais.

95 Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da adição de
96 nitrito de sódio na formação dos compostos nitrogenados em sistema de biofoco com
97 *Litopenaeus vannamei*.

98

99 MATERIAL E MÉTODOS

100

101 *Local e condições experimentais*

102 O experimento foi desenvolvido nas instalações do Laboratório de Sistema de
103 Produção Aquícola localizado na Estação de Aquicultura Continental Professor Johei Koike
104 do Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

105 O experimento teve duração de 28 dias e foi realizado em dezesseis caixas plásticas
106 com volume útil de 50 L, abastecidas com água salgada (29 g L⁻¹) proveniente de uma
107 larvicultura comercial localizada no litoral Sul do estado de Pernambuco. Não foi realizada
108 renovação de água durante o período experimental, apenas reposição com água doce para
109 compensar as perdas por evaporação e ajustar a salinidade. Foi mantido o fotoperíodo
110 natural (12 h claro e 12 h escuro).

111 As caixas plásticas foram cobertas com telas para evitar possível escape dos camarões.
112 Foram utilizados aquecedores (JEBO®, 75 W) para manter a temperatura média em 30°C,
113 substratos artificiais foram utilizados para maximizar a superfície de absorção das bactérias e
114 a aeração constou de uma pedra porosa e dois airlifts.

115 O controle das concentrações dos níveis de amônia na água foi realizado, através da
116 relação Carbono:Nitrogênio de 6:1, referente a entrada de matéria orgânica e,
117 posteriormente, com base nos níveis de amônia no sistema. Foi utilizado o melaço de cana-
118 de-açúcar, como fonte de carbono orgânico (AVNIMELECH et al., 1999).

119 As pós-larvas de *L. vannamei* com peso médio de $0,143 \pm 0,001$ g foram adquiridas de
120 uma larvicultura comercial, as quais foram aclimatadas e estocadas na densidade de 1 PL L⁻¹.

121

122 *Alimentação*

123 A alimentação consistiu inicialmente de náuplios de *Artemia* (40 náuplios/PL/dia)
124 acrescida de uma ração com 42% de proteína bruta (FRIPPAK™, INVE Aquaculture Inc.)
125 durante cinco dias. A partir do sexto dia foi utilizada uma combinação da ração com 45% PB
126 (EPAC™, INVE Aquaculture Inc.) com a ração de 42% PB, estes dois alimentos foram
127 substituídos gradativamente a partir da segunda semana por uma ração comercial com 38%

128 PB (CR2, PURINA), a qual foi ofertada até o final do cultivo. A ração foi fornecida quatro
129 vezes ao dia (08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h).

130 O desempenho zootécnico dos camarões e a quantidade de alimento artificial ingerido
131 foram avaliados por meio dos dados obtidos nas biometrias e no consumo diário de
132 alimento. As biometrias foram realizadas semanalmente com uma amostra de 30% da
133 população de cada unidade experimental.

134 Para avaliar o rendimento do cultivo, foram analisados: Ganho de Peso (GP = ganho de
135 peso inicial - peso final); Taxa de Crescimento Específico (TCE = $100 (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso}$
136 $\text{inicial})/\text{tempo de cultivo}$); Sobrevivência (S = $100 (\text{população final}/ \text{população inicial})$);
137 Ganho de Biomassa (GB = biomassa final - biomassa inicial) e Fator de Conversão Alimentar
138 (FCA = Quantidade de alimento fornecido em matéria seca/ ganho de biomassa).

139

140 *Delineamento experimental*

141 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e com dois tratamentos e
142 oito repetições: 1) Nitrito de sódio (NaNO₂) - adição de nitrito de sódio 10 dias antes da
143 estocagem; 2) Controle (CTL) - sem adição de NaNO₂. As adições de nitrito de sódio foram
144 realizadas na concentração 2 mg.L⁻¹. A quantidade de nitrito aplicado no tratamento NaNO₂
145 foi baseado no trabalho de Otoshi et al. (2011), onde foi obtida a redução de níveis elevados
146 de nitrito através da adição desse composto em diferentes períodos do cultivo.

147

148 *Variáveis físicas e químicas da água*

149 Foram mensuradas duas vezes ao dia (08:00 e 17:00 h) as concentrações de oxigênio
150 dissolvido e a temperatura da água, utilizando oxímetro digital (YSI 550-A, Yellow Springs).
151 O pH também foi verificado duas vezes ao dia, porém sua leitura foi feita através do
152 pHmetro (WTW 315i). A salinidade foi analisada semanalmente, utilizando o
153 multiparâmetro YSI 556 MPS (YSI Incorporation, Ohio, USA).

154 Semanalmente, foram coletadas amostras de água de cada unidade experimental para
155 determinação dos níveis do nitrogênio amônia (NH₃-N), nitrito-N (NO₂-N), nitrato-N (NO₃-
156 N) e alcalinidade total (CaCO₃). Antes de realizar as análises, as amostras foram filtradas
157 utilizando filtro analítico de 0,45 µm. As concentrações dos compostos nitrogenados foram
158 mensuradas utilizando as versões dos métodos Hach 8038 (método Nessler¹), 8507 (método
159 de diazotização) e 8539 (redução de cádmio) para NH₃-N, NO₂-N e NO₃-N, respectivamente.
160 As amostras foram lidas através de espectrofotômetro digital Hach DR 2800 (Hach

161 Company, Colorado, USA). A alcalinidade total foi determinada por titulação volumétrica
162 (APHA, 1995). Quando os níveis de CaCO_3 apresentaram abaixo de 100 mg L^{-1} , foi
163 adicionado bicarbonato de sódio para manter os níveis acima de $150 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$.

164 O volume dos sólidos decantáveis (ml L^{-1}) foi analisado duas vezes por semana através
165 de cones de Imhoff seguindo a metodologia proposta por Eaton et al. (1995), e adaptada por
166 Avnimelech (2007). Quando o volume dos sólidos ultrapassaram 30 mL.L^{-1} foi instalado o
167 tanque de sedimentação para manter o volume entre 10 e 20 mL L^{-1} .

168

169 *Composição centesimal do bioflocos*

170 Após encerramento do cultivo experimental, a água das caixas plásticas foi
171 concentrada em dois tanques de 1000 L, referente a cada tratamento. Em seguida foi
172 instalado o tanque de sedimentação e a partir do material decantado foram coletadas
173 amostras do bioflocos (100 g) de cada tratamento. Este material foi devidamente identificado,
174 congelado e enviado ao Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos, do
175 Departamento de Nutrição, da Universidade Federal de Pernambuco, para análise de
176 composição centesimal dos seguintes itens; umidade, proteína bruta, lipídios, cinzas e
177 carboidratos.

178

179 *Análise estatística*

180 As variáveis de crescimento dos camarões (peso final, biomassa final, sobrevivência,
181 taxa de crescimento específico e fator de conversão alimentar) e os parâmetros de qualidade
182 da água foram analisados utilizando a análise de variância (ANOVA). Os testes de
183 normalidade e homocedasticidade foram efetuados antes para verificar a normalidade dos
184 dados e a homogeneidade das variâncias. Nos casos em que houve diferença significativa, o
185 teste de Tukey foi aplicado para comparação das médias, ao nível de significância de 5%
186 para determinar o efeito da adição do nitrito. Os valores de sobrevivência foram
187 transformados por meio da função $\arcsen x^{0.5}$ (ZAR, 1996). Para as análises foi utilizado o
188 software *SysEAPRO* versão 1.0.

189

190 **RESULTADOS**

191 As médias obtidas dos parâmetros de qualidade de água mensuradas diariamente
192 (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e salinidade) e semanalmente ($\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$,
193 alcalinidade total e volume dos sólidos sedimentáveis) estão descritas na Tabela 1. Não

194 foram observadas diferenças significativas ($P \geq 0,05$) para os parâmetros mensurados
 195 diariamente. Entre os dados obtidos semanalmente, o nitrogênio do nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$) e do
 196 nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$) foram os únicos que diferiram significativamente ($P < 0,05$).

197

198 **Tabela 1.** Variáveis de qualidade da água no cultivo sem a adição (CTL) e com adição prévia
 199 de nitrito de sódio (NaNO_2) em sistema de bioflocos com pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*

Variáveis	Tratamentos	
	CTL	NaNO_2
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	$4,98 \pm 0,02^a$	$4,95 \pm 0,05^a$
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$29,39 \pm 0,12^a$	$29,50 \pm 0,10^a$
pH	$8,30 \pm 0,01^a$	$8,27 \pm 0,01^a$
Salinidade (g L^{-1})	$29,15 \pm 0,19^a$	$29,26 \pm 0,11^a$
$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg L^{-1})	$4,35 \pm 0,40^a$	$4,49 \pm 0,44^a$
$\text{NO}_2\text{-N}$ (mg L^{-1})	$0,05 \pm 0,01^a$	$0,49 \pm 0,13^b$
$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg L^{-1})	$5,64 \pm 1,03^a$	$10,08 \pm 1,99^b$
Alcalinidade total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	$147,65 \pm 4,25^a$	$155,65 \pm 4,5^a$
Volume dos sólidos (mL L^{-1})	$24,00 \pm 3,28^a$	$18,27 \pm 2,31^a$

200 * Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$). Valores

201 foram expressos em média \pm erro padrão.

202

203 Ao longo do experimento foram observadas variações entre os tratamentos para as
 204 concentrações de $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ e $\text{NO}_3\text{-N}$ (Figura 1). As concentrações médias de nitrogênio
 205 do nitrito e do nitrato foram significativamente ($P < 0,05$) maiores no tratamento com adição
 206 de nitrito de sódio nos dias 0 (zero) e 21 de cultivo. As concentrações de amônia não ionizada
 207 não apresentaram diferença significativa ($P \geq 0,05$) durante as semanas.

208 A variação semanal das concentrações de alcalinidade total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) e sólidos
 209 sedimentáveis está representada na Figura 2. A alcalinidade total foi significativamente
 210 ($P < 0,05$) menor no tratamento CTL no dia 0 de cultivo, porém nas outras semanas não houve
 211 diferença significativa ($P \geq 0,05$). O volume dos sólidos sedimentáveis não apresentaram
 212 diferença significativa ($P \geq 0,05$) durante o cultivo.

213

214

215

216

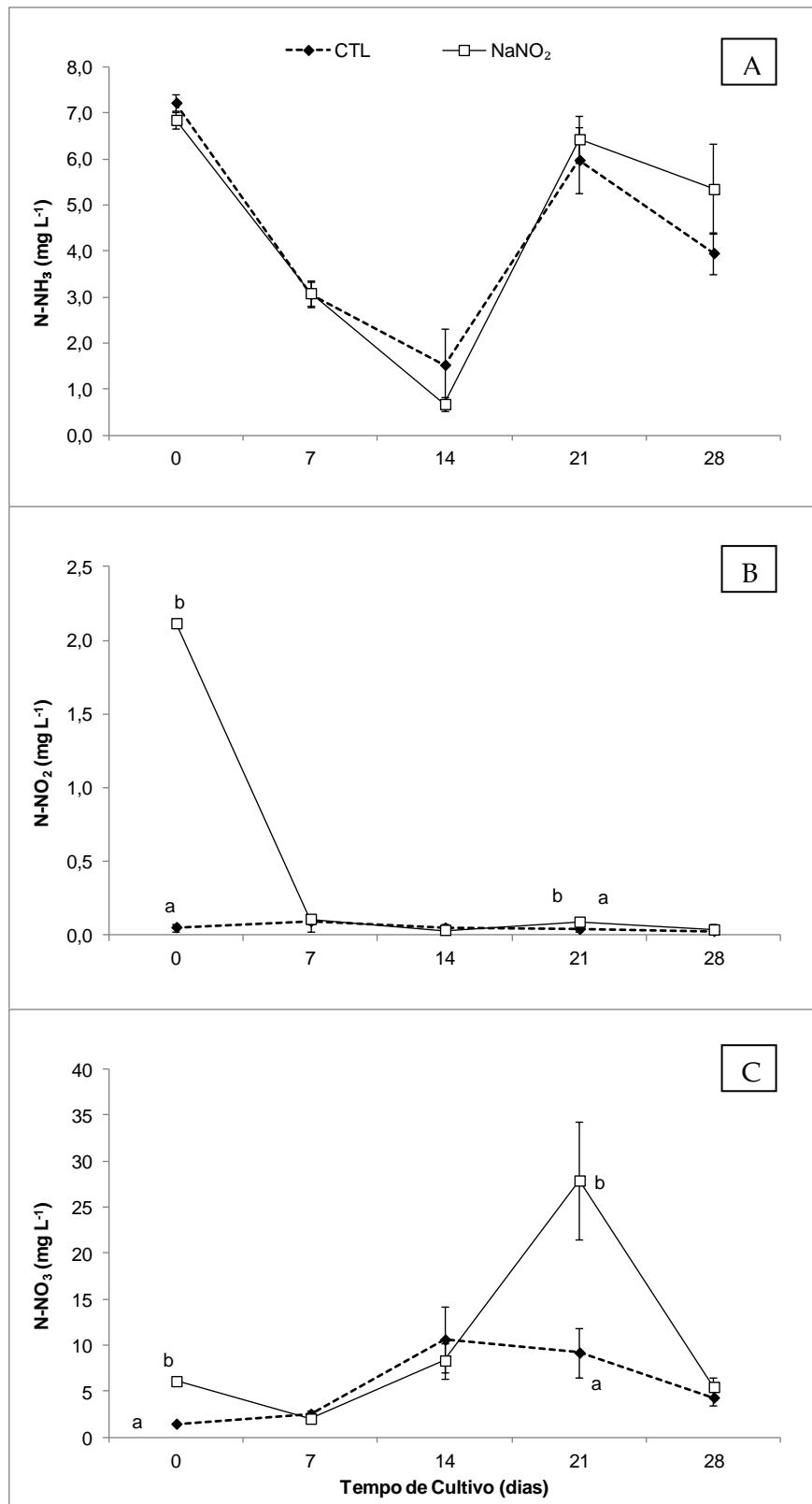
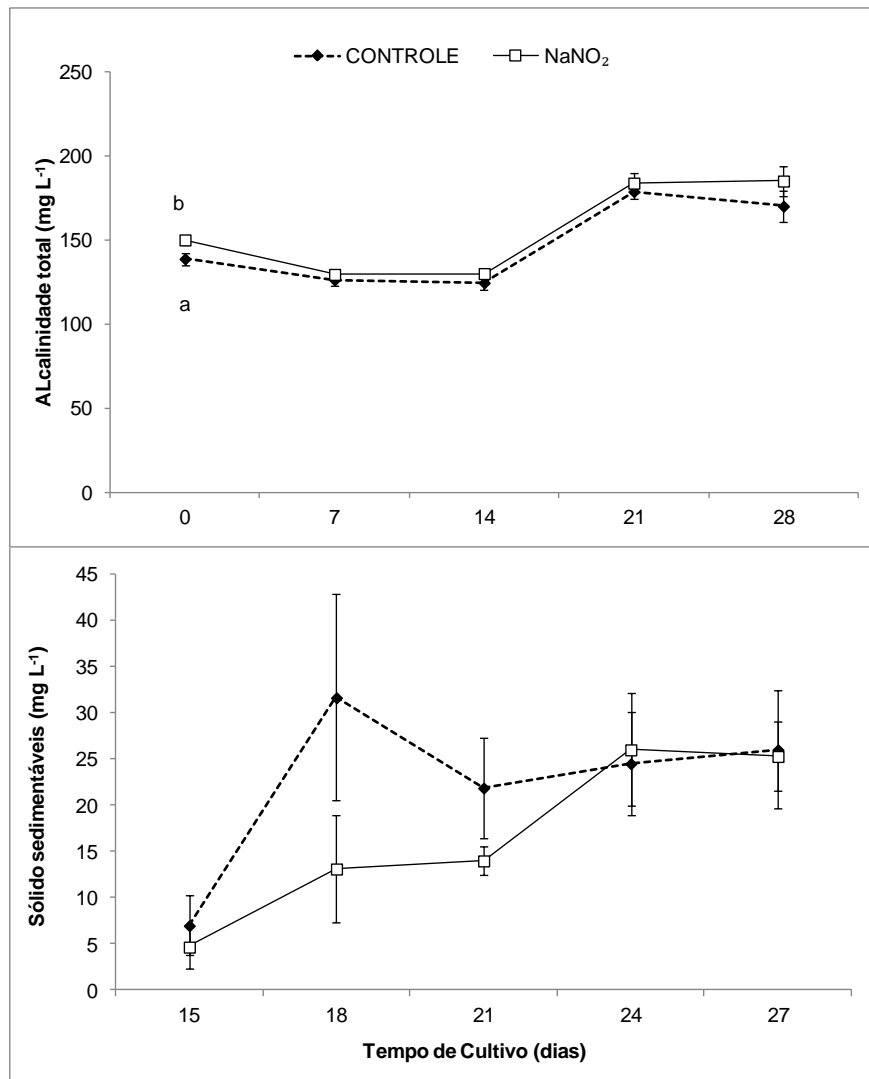


Figura 1. Variação semanal das concentrações médias de $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ e $\text{NO}_3\text{-N}$ no cultivo de *L. vannamei* sem (CTL) e com adição de nitrito de sódio (NaNO_2).

217
218
219
220



221
222 **Figura 2.** Variação semanal das concentrações médias de
223 alcalinidade total e sólidos sedimentáveis no cultivo de *L. vannamei*
224 sem (CTL) e com adição de nitrito de sódio (NaNO₂).
225

226 Os resultados de ganho de peso, biomassa final, sobrevivência, taxa de crescimento
227 específico e de conversão alimentar não apresentaram diferença significativa ($P \geq 0,05$) entre
228 os tratamentos com adição de nitrito de sódio (NaNO₂) e o controle (CTL). Nos dois
229 tratamentos foi obtida uma sobrevivência acima de 95% (Tabela 2).
230
231
232

233 **Tabela 2.** Desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema de
 234 bioflocos sem (CTL) e com a adição de nitrito de sódio (NaNO₂), durante 28 dias (média ±
 235 erro padrão).

Índices zootécnicos	Tratamentos	
	CTL	NaNO ₂
Peso final (g)	1,90 ± 0,09 ^a	1,98 ± 0,04 ^a
Ganho de peso (g)	1,76 ± 0,10 ^a	1,83 ± 0,04 ^a
Biomassa final (g/aquário ⁻¹)	93,74 ± 4,53 ^a	94,74 ± 3,94 ^a
Ganho de biomassa (g)	86,55 ± 4,56 ^a	87,59 ± 3,96 ^a
Sobrevivência (%)	98,75 ± 0,75 ^a	95,71 ± 2,97 ^a
TCE (% dia ⁻¹)	9,19 ± 0,20 ^a	9,38 ± 0,10 ^a
FCA	1,35 ± 0,08 ^a	1,27 ± 0,03 ^a

236 Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas (P < 0,05).

237

238 A composição centesimal do biofloco formado no final do cultivo com adição e sem
 239 de nitrito de sódio (NaNO₂) está descrita na Tabela 3. A proteína bruta do biofloco formado
 240 no controle e no tratamento com nitrito de sódio não apresentou diferença significativa
 241 (P ≥ 0,05), atingindo valores de 19,36 e 19,89 g, respectivamente.

242

243 **Tabela 3.** Composição centesimal (matéria seca) do biofloco formado durante os 28 dias de
 244 cultivo do *Litopenaeus vannamei* sem (CTL) e com adição do nitrito de sódio (NaNO₂).

Composição (%)	Biofloco	
	CTL	NaNO ₂
Proteína bruta	19,36 ^a	19,89 ^a
Lipídeos	5,88 ^a	4,24 ^a
Cinzas	58,63 ^a	57,64 ^a
Carboidratos	16,13 ^a	18,23 ^a

245 *Composição do biofloco referente a matéria seca.

246

247 DISCUSSÃO

248 A temperatura da água é um dos fatores limitantes que afeta crescimento e
 249 sobrevivência dos camarões cultivados, além de influenciar diretamente a solubilidade do
 250 oxigênio (BUREAU et al., 2000). Durante o experimento a temperatura média da água foi de
 251 29,6 °C, estando dentro da faixa ótima para o cultivo do camarão branco do Pacífico
 252 (*Litopenaeus vannamei*) que estaria em torno de 20 a 30 °C (PONCE-PALAFIX et al., 1997).

253 O *L. vannamei* é uma espécie eurihalina, suportando uma variação de salinidade entre
254 1 e 40‰ (DAVIS et al., 2004), entretanto a faixa ideal situa-se entre 15 e 25‰ (BOYD, 2001).
255 Lin e Chen (2003) reportaram que esta espécie é mais suscetível à toxicidade do nitrito em
256 baixa salinidade.

257 De acordo com Boyd e Clay (2002) a concentração média de oxigênio dissolvido deve
258 ser mantida acima de 4 mg L⁻¹ para cultivo de camarões. No presente estudo a concentração
259 média foi de 4,7 mg L⁻¹, mantendo-se dentro do limite recomendado pelos autores acima
260 mencionados, entretanto o valor mínimo encontrado no estudo foi de 2,08 mg L⁻¹, muito
261 inferior a faixa ótima para essa espécie. Esse fato ocorreu ao final do cultivo devido a quedas
262 de energia consecutivas e pela instabilidade do grupo gerador. O oxigênio dissolvido é
263 indispensável para a ocorrência da nitrificação, recomenda-se valores acima de 2 mg L⁻¹ para
264 manter a velocidade do processo elevada (SURAMPALLI et al., 1997), porém em sistema de
265 bioflocos o nível de conforto é ≥ 4 mg L⁻¹.

266 Segundo Wasielesky et al. (2006), nos sistemas BFT há uma tendência de redução do
267 pH ao longo do cultivo, no entanto sabe-se que pH inferior a 7 pode prejudicar o crescimento
268 dos animais cultivados e valores superiores a 9 influenciam a qualidade da água,
269 aumentando a alcalinidade e a toxicidade da amônia (AVAULT Jr., 1996). No presente
270 estudo, o pH apresentou uma média de 8,26 entre os tratamentos, com valor mínimo de 7,2 e
271 máximo de 8,9. A faixa adequada de pH para o cultivo de camarão varia de 6 a 9 (Boyd,
272 2001) e a ideal para cultivo de *L. vannamei* varia entre 8,1 e 9,0 (HERNÁNDEZ e NUNES,
273 2001).

274 Em sistemas com pouca troca de água, a alcalinidade total (CaCO₃) deve estar entre
275 100-150 mg L⁻¹, podendo haver queda de pH caso valores inferiores sejam reportados,
276 comprometendo dessa forma a produtividade do cultivo (EBELING et al. 2006). No entanto
277 Chen et al. (2006) indicam alcalinidade acima de 200 mg CaCO₃ L⁻¹, considerando que há
278 uma possível estratificação de pH e alcalinidade nesses sistemas, principalmente quando há
279 baixa troca d'água. No presente estudo, os níveis de alcalinidade total mantiveram-se entre
280 152 e 220 mg L⁻¹, devido as correções semanais com a adição de bicarbonato de sódio para
281 aumentar a capacidade de tamponamento da água. Além da importância de manter o pH, a
282 alcalinidade influencia na atividade de ecdise dos camarões, fornecendo cálcio para
283 formação da carapaça (WASIELESKY et al., 2006).

284 Os sólidos sedimentáveis (biofloco) podem ser favoráveis na produtividade do
285 cultivo, mas seu volume deve ser controlado para otimizar o desempenho do cultivo.

286 Quando o volume dos sólidos sedimentáveis atingem níveis muito acima do nível
287 recomendado ($> 30 \text{ mg L}^{-1}$) pode ocorrer redução da concentração de oxigênio dissolvido,
288 aumento da turbidez da água podendo interferir no crescimento de algas benéficas e
289 promover o surgimento de microorganismos indesejáveis, além de poder causar obstrução
290 das brânquias dos camarões e, conseqüentemente, mortalidade (HARGREAVES, 2006;
291 CASTRO e NUNES, 2012).

292 O volume do biofloco no sistema BFT deve ficar entre 20 e 40 ml L^{-1} para camarões
293 (AVNIMELECH, 2009). No presente trabalho, o volume médio de biofloco foi de 21 ml L^{-1} ,
294 mantendo-se dentro da faixa recomendada. Obteve-se um volume máximo de sólidos
295 sedimentáveis de 100 ml L^{-1} , entretanto não foi observado influência na sobrevivência. Para
296 controlar esses picos de sólidos sedimentáveis foi instalado o tanque de sedimentação
297 sempre que o volume no cone de Imhoff ultrapassava a faixa de 20 ml L^{-1} .

298 O acúmulo de compostos nitrogenados nos sistemas de cultivo é ocasionado pela
299 excreção dos animais cultivados e pela utilização de alimentos ricos em proteína
300 (AVNIMELECH, 1999), tornando-se um problema comum em sistemas de produção que
301 utilizam pouca ou nenhuma renovação de água, afetando o crescimento e sobrevivência dos
302 camarões (AVNIMELECH, 2009). No sistema BFT, as bactérias heterotróficas são
303 responsáveis pela incorporação da amônia no início do cultivo, quando o biofloco está
304 começando a se formar estes microorganismos ainda não estão presentes na água do cultivo,
305 se formando de acordo com o acúmulo de amônia e adição de uma fonte de carbono
306 (EBELING et al., 2006; OTOSHI et al., 2011). Alguns autores sugerem o reuso de água de
307 outro sistema de biofloco, pois dessa forma espera-se que as concentrações de amônia e
308 nitrito não alcancem elevadas concentrações através da existência prévia de bactérias capazes
309 de absorver ou transformar esses compostos tóxicos em nitrato (DURANT et al., 2011;
310 OTOSHI et al., 2011).

311 A concentração média de amônia tóxica ($\text{NH}_3\text{-N}$) variou durante o cultivo, obtendo
312 picos no início e no 21º dia de cultivo. O aumento de $\text{NH}_3\text{-N}$ na terceira semana pode ter
313 ocorrido devido à retirada de bioflocos, ocasionando uma redução das bactérias
314 heterotróficas já ali estabelecida. A concentração média de $\text{NH}_3\text{-N}$ foi de 4,4 mg L^{-1} , valor
315 acima do nível de segurança determinados por Lin e Chen (2001).

316 Os resultados de nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$) obtidos no controle variaram de 0,01 a 0,26 mg L^{-1} ,
317 estando dentro da faixa ótima recomendada por Barbieri e Ostrensky (2002) que é abaixo de
318 0,5 mg L^{-1} em sistemas convencionais. No tratamento com adição de nitrito de sódio

319 (NaNO₂), a concentração foi superior ao proposto pelos autores citados anteriormente
320 apenas na primeira semana devido a adição prévia desse composto no sistema. Entretanto a
321 concentração máxima de nitrito reportada nesse estudo está muito abaixo do LC₅₀ dessa
322 espécie encontrado por Lin e Chen (2003).

323 O nitrato, ao contrário da amônia e do nitrito, é pouco tóxico aos organismos
324 aquáticos (VAN RIJN et al., 2006). De acordo com Kuhn et al. (2010), concentrações inferiores
325 a 220 mg L⁻¹ de nitrato não prejudicam a sobrevivência, o crescimento e a biomassa de *L.*
326 *vannamei*. A concentração máxima de nitrato (NO₃-N) no cultivo foi de 34,26 mg L⁻¹,
327 encontrada no tratamento NaNO₂ no 21^o dia, isso deve ter ocorrido devido a adição prévia
328 do nitrito de sódio, que deve ter ocasionado o estabelecimento da comunidade de bactérias
329 responsáveis pela conversão do nitrito a nitrato.

330 Em sistemas de biofoco, comumente ocorre um aumento de nitrato ao longo do
331 cultivo devido ao processo de nitrificação (AVNIMELECH, 2006). Entretanto, no presente
332 estudo foi observado uma queda nas concentrações de nitrato para ambos tratamentos ao
333 final do cultivo, isso pode ter ocorrido devido a retirada de sólidos sedimentáveis durante a
334 última semana de cultivo. De acordo com Ray et al. (2010), isso pode ter ocorrido pela
335 remoção de matéria orgânica disponível para a nitrificação, reduzindo dessa forma as
336 concentrações dos compostos nitrogenados.

337 De acordo com os resultados obtidos de nitrito e nitrato no presente estudo, pode-se
338 observar que, a adição prévia de nitrito de sódio não influenciou na variação das
339 concentrações de nitrito em relação ao controle, mas que pode ter influenciado na
340 estabilização da comunidade microbiana no sistema BFT, uma vez que maiores
341 concentrações de nitrato foram obtidas no tratamento NaNO₂. De acordo com Ootshi et al.
342 (2011), a adição prévia de nitrito de sódio influencia na variação da concentração de nitrito
343 ao longo do cultivo de *L. vannamei* em sistema de biofocos.

344 A composição centesimal do biofoco em sistemas BFT pode variar de acordo com a
345 espécie produzida, seus hábitos alimentares, as condições ambientais, tempo de cultivo e a
346 presença de microorganismos específicos (CHAMBERLAIN et al., 2001; AVNIMELECH,
347 2007). No presente estudo foi obtido o valor de proteína bruta de 19,6% para os dois
348 tratamentos, corroborando com os dados de Soares et al. (2004), onde as porcentagens de
349 proteína bruta podem variar de 17 a 42%.

350 A adição prévia de NaNO₂ nas condições adotadas não contribuiu para a melhoria do
351 crescimento, taxa de crescimento específico, sobrevivência e conversão alimentar dos

352 camarões em sistemas BFT. Ainda não existem muitos estudos sobre o efeito da adição de
353 compostos no crescimento dos microorganismos antes de iniciar o cultivo. Entretanto, Sesuk
354 et al. (2009), obteve resultado eficiente no desempenho zootécnico para tilápias em sistema
355 de bioflocos, com a aclimação prévia (78 dias) de um tipo de superfície para fixação de
356 bactérias e adição de cloreto de amônia (NH₄Cl).

357 O fator de conversão alimentar (FCA) obtido no presente estudo foi de 1,3, se
358 mostrou inferior aos padrões desse sistema, onde a média em outros estudos varia entre 1,5 e
359 2,0 (MCINTOSH et al., 2000; SAMOCHA et al., 2007). O biofloco formado nos sistemas sem
360 renovação de água possui alto teor proteico e pode servir de alimento para o camarão
361 cultivado, possibilitando assim reduzir a quantidade de ração e obter dessa forma menores
362 valores de FCA em relação aos sistemas convencionais (AVNIMELECH, 2007; BALLESTER
363 et al., 2009).

364

365 **CONCLUSÃO**

366 Os resultados do presente estudo demonstram que a adição de nitrito de sódio
367 (NaNO₂) no cultivo em sistema de bioflocos do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus*
368 *vannamei*, acelerou a formação de nitrato que deve ter ocorrido devido a estabilização da
369 comunidade bacteriana.

370

371 **AGRADECIMENTOS**

372 A Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) no âmbito do Programa Nacional de
373 Carcinicultura (RECARCINA) pelo suporte financeiro. Ao Conselho Nacional de
374 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e, a Coordenação de Aperfeiçoamento de
375 Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de pesquisa.

376

377 **REFERENCIAS**

378 ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M.A.; VERDEGEM, M.C.J.; HUQUE, S.; SALAM, M.A.;
379 AZIM, M.E. 2008 C/N ratio control and substrate addition for periphyton development
380 jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds.
381 *Aquaculture*, Amsterdam, 280: 117-123.
382 AVAULT, J.W.Jr. 1996 Fundamentals of aquaculture: a step-by-step guide to commercial
383 aquaculture. Baton Rouge: AVA Publishing Company Inc. Louisiana, 889p.

- 384 AVNIMELECH, Y. 1999 Carbon/ nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems.
385 *Aquaculture*, Amsterdam, 176: 227-235.
- 386 AVNIMELECH, Y. 2006 Bio-filters: The need for an new comprehensive approach.
387 *Aquacultural Engineering*, 34: 172-178.
- 388 AVNIMELECH, Y. 2007 Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs
389 technology ponds. *Aquaculture*, Amsterdam, 264: 140-147.
- 390 AVNIMELECH, Y. 2009 *Biofloc Technology, a practical guide book*. World Aquaculture Society.
391 182p.
- 392 AZIM, M.E.; LITTLE, D.C.; BRON, J.E. 2008 Microbial protein production in activated
393 suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture.
394 *Bioresource Technology*, 99: 3590-3599.
- 395 BARBIERI, R.C.J. e OSTRENSKY, A.N. 2002 *Camarões marinhos - Engorda*. Viçosa: Aprenda
396 Fácil, 352p.
- 397 BALLESTER, E.L.C.; ABREU, P.C.; CAVALLI, R.O.; EMERENCIANO, M.; ABREU, L.;
398 WASIELESKY, W. 2009 Effect of practical diets with different protein levels on the
399 performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended
400 microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition* 1:1-13.
- 401 BOYD, C.E. 2001 Manejo da qualidade da água na aqüicultura e no cultivo do camarão
402 marinho. Associação Brasileira de Criadores de Camarão - ABCC, Recife, 156p.
- 403 BOYD, C.E. e CLAY, J. 2002 Evaluation of Belize Aquaculture Ltd.: Superintensive shrimp
404 aquaculture system. Shrimp Farming and the Environment. Report prepared under the
405 World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the
406 Environment, 17 p.
- 407 BUREAU, B.P.; AZEVEDO, P.A.; TAPIA-SALAZAR, M.; CUZON, G. 2000. Pattern and cost
408 of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and
409 applications. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A.
410 y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium
411 Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, Mérida, Yucatán, Mexico.
- 412 BURFORD, M.A.; THOMPSON, P J.; MCINTOSH, R.P.; BAUMAN, R.H.; PEARSON, D.C.
413 2003 Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in
414 Belize. *Aquaculture*, Amsterdam, 219: 393-411.

- 415 CASTRO, L.F. e NUNES, A.P.J. 2012 Biofloc como fator limitante do desempenho
416 zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* em cultivo superintensivo. Feira Nacional do
417 Camarão (FENACAM), Natal - RN.
- 418 CHABERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. 2001 Advantages
419 of aerated microbial reuse systems with balanced C:N - I: Nutrient transformation and water
420 quality benefits. *The Global Aquaculture Advocate*, p.53-56.
- 421 CHEN, S.; LING, J.; BLANCHETON, J.P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by
422 water quality factors. *Aquacultural Engineering*, 34:179-197.
- 423 COLT, J.E. e ARMSTRONG, D.A. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs.
424 In: ALLEN, LJ, EC KINNEY. (eds.) Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish
425 Culture Section, *American Fisheries Society*, Bethesda, Maryland, p.34-47.
- 426 DAVIS, D.A.; SAMOCHA, T.M.; BULLIS, R.A.; PATNAIK, S.; BROWDY, C.; STOKES, A.;
427 ATWOOD, H. 2004 Practical diets for *Litopenaeus vannamei*, (Boone. 1931): working towards
428 organic and/or all plant production diets. In: Avances en nutrición acuícola VII. Memorias
429 del VII simposium internacional de nutrición acuícola. Anais... Hermosillo, 16-19/nov./2004.
430 Anais p.202-214.
- 431 DURANT, E.; HAVEMAN, J.; BRUNSON, J.; LEFFLER, J. 2011. Waddell Mariculture Center
432 Continues Research On Biofloc-Based Shrimp Culture. *Global Aquaculture Advocate*, p.28- 30.
- 433 EATON, A.D.; CLESERCI, L.S.; GREENBERG, A.E. 1995. Standard Methods for the
434 Examination of Water and Waste Water, 10th edition. *Amer. Public. Health Assoc. (APHA)*,
435 Washington D.C.
- 436 EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J.J. 2006 Engineering analysis of the
437 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-
438 nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, Amsterdam, 257: 346-358.
- 439 HARGREAVES, J.A. 2006 Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture.
440 *Aquacultural Engineering*, 34, 344-363.
- 441 HERNÁNDEZ, J. Z. e NUNES, A J. P. 2001 Biossegurança no cultivo de camarão marinho:
442 qualidade da água e fatores ambientais. *Revista da ABCC*, Recife, 3(2): 55-59.
- 443 KUHN, D.D.; SMITH, S.A.; BOARDMAN, G.D.; ANGIER, M.W.; MARSH, L.; FLICK Jr., G.J.
444 2010 Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on
445 survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, Amsterdam 306: 329-333.
- 446 KRUMMENAUER, D., PEIXOTO, S. CAVALLI, R., POERSCH, L.H., WASIELESKY, W. 2011
447 Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system

- 448 in southern Brazil at different stocking densities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42:
449 726-733.
- 450 LIN, Y.C. e CHEN, J. C. 2001 Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone
451 juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259:
452 109-119.
- 453 LIN, Y.C. e CHEN, J.C. 2003 Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone)
454 juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, Amsterdam 224:193-201.
- 455 McINTOSH, R. 2000 Changing paradigms in shrimp farming: IV. Low protein feeds and
456 feeding strategies. *The Global Aquaculture Advocate*, 3: 45-50.
- 457 MEVEL, G. e CHAMROUX, S. 1981 A study on nitrification in the presence of prawns
458 (*Penaeus japonicus*) in marine closed systems, *Aquaculture* 23, 29-43.
- 459 MIRES, D. 1995 Aquaculture and the aquatic environment: mutual impact and preventive
460 management. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 47: 163-172.
- 461 OTOSHI, C.; RODRIGUEZ, N.; MOSS, S. 2011 Establishing nitrifying bacteria in super
462 intensive biofloc shrimp production. *Global Aquac. Advocate*, 14(3): 24-26.
- 463 PHILIPS, S., LAANBROEK, H.J., VERSTRAETE, W. 2002 Origin, causes and effects of
464 increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*, 1: 115-
465 141.
- 466 PONCE-PALAFOX, J.; MARTINEZ - PALACIOS, C. A.; ROSS, L.G. 1997 The effect of
467 salinity and temperature on the growth and survival rates of juveniles White shrimp, *Penaeus*
468 *vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, Amsterdam 157: 107-115.
- 469 RAY, A.J.; SHULER, A.J.; LEFFLER, J.W.; BROWDY, C.L. Microbial ecology and
470 management of biofloc systems. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. 2009 (Eds.). *The rising tide*,
471 *Proceedings of session on sustainable shrimp Farming, World Aquaculture Society 2009*, Baton
472 Rouge, Louisiana USA, p.255-266.
- 473 RAY, A.J.; SEABORN, G.; LEFFLER, J.W.; WILDE, S.B.; LAWSON, A.; BROWDY, C.L. 2010
474 Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture
475 systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*, Amsterdam, 310: 130-
476 138.
- 477 SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R.V.;
478 AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. 2007 Use of molasses as source
479 in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural*
480 *Engineering*, 36: 184-191.

- 481 SESUK, T.; POWTONGSOOK, S.; NOOTONG, K. 2009 Inorganic nitrogen control in a novel
482 zero-water exchanged aquaculture system integrated with airlift-submerged fibrous
483 nitrifying biofilters. *Bioresource Technol.* 100: 2088-2094.
- 484 SOARES, R., JACKSON, C., COMAN, F., PRESTON, N. 2004 Nutricional composition of
485 flocculated material in experimental zero-exchange system for *Penaeus monodon*. In:
486 Australasian Aquaculture - Profiting from Sustainability. WAS, Sydney. P.98.
- 487 SURAMPALLI, R.; TYAGI, R.D.; SCHEIBLE, O.K.; HEIDMAN, J.A. 1997 Nitrification,
488 denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresource Technology*,
489 61: 151-157.
- 490 VAN RIJN, J.; TAL, Y.; SCHREIER, H.J. 2006. Denitrification in recirculating systems: Theory
491 and applications. *Aquacultural Engineering*, 34(3): 364-376.
- 492 VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.O.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.;
493 LEWIS, B.L.; LAWSON, A.; SCHULER, A.; LEFFLER, J.W. Photosynthesis, water respiration
494 and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with
495 zero water exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*. 42,17-
496 24, 2010.
- 497 WASIELESKY, Jr. W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C.L. 2006 Effect of natural
498 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive system for
499 white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, Amsterdam 258: 396-40.
- 500 ZAR, J.H., 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 622p.

4.2. ARTIGO CIENTIFÍCO 2

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa Dissertação está apresentado no artigo intitulado “**Toxicidade aguda do nitrito para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus vannamei***” (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

**“TOXICIDADE AGUDA DO NITRITO PARA PÓS-LARVAS E JUVENIS DE
Litopenaeus vannamei”**

Manuscrito a ser submetido ao periódico

Revista Brasileira de Ciências Agrárias, ISSN 1981-0997.

Toxicidade aguda do nitrito para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus vannamei*

Bruna L. F. de Carvalho^{1*}, Fabiana P. de Melo¹, João P. V. de Lima^{1,2}, Maria G. P. Ferreira¹ & Eudes de S. Correia^{1*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola - LAPAQ, 52171-900, Recife PE, Brasil.

²Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), C.P. 1022, 50761-000, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

O nitrito é o composto intermediário no processo de nitrificação ou produto da denitrificação do nitrato. Dependendo das concentrações e do estágio de desenvolvimento do organismo aquático cultivado, pode vir a ser bastante tóxico, causando mortalidade em larviculturas e sistemas de cultivo. No presente estudo objetivou-se verificar a toxicidade aguda do nitrito em pós-larva ($0,012 \pm 0,03$ g) e juvenis ($2,49 \pm 0,20$ g) para o *L. vannamei* em salinidade 30. Foram utilizadas unidades experimentais com volume útil de 1,6 e 10 L para pós-larvas e juvenis, respectivamente. O experimento foi realizado nas seguintes concentrações de 0, 20, 40, 80, 160, 240, 320, 400 e 480 mg NO₂-N L⁻¹. Foram determinadas as concentrações letais medianas (CL₅₀) para pós-larva e juvenis em 24, 48, 72 e 96h. Os valores de concentração letal (LC₅₀) para pós-larvas e juvenis para 24, 48, 72 e 96 h foram respectivamente 224,6; 109,43; 41,16; 25,52 mg NO₂-N L⁻¹ e 273,51; 147,97; 113,97; 83,78 mg NO₂-N L⁻¹. De acordo com os resultados de LC₅₀ foi possível estimar os níveis de segurança para pós-larva e juvenil de *L. vannamei* em 2,55 e 8,38 mg NO₂-N L⁻¹, respectivamente.

Palavras-chave: toxidez, nitrito, camarão, mortalidade, LC₅₀

ABSTRACT

Nitrite is the intermediate compound in the process of nitrification or denitrification of nitrate product. Depending on the concentration and the stage of development of the aquatic organism cultured, can prove to be quite toxic, causing mortality in hatcheries and farming systems. In the present study aimed to evaluate the acute toxicity of nitrite in post-larvae (0.012 ± 0.03 g) and juveniles (2.49 ± 0.20 g) for *L. vannamei* in salinity

30. Experimental units were used with a volume of 1.6 L and 10 for post-larvae and juveniles, respectively. The experiment was conducted in the following concentrations: 0, 20, 40, 80, 160, 240, 320, 400 and 480 mg NO₂-N L⁻¹. We determined the median lethal concentration (LC₅₀) for post-larvae and juveniles in 24, 48, 72 and 96h. The values of lethal concentration (LC₅₀) for post-larvae and juveniles for 24, 48, 72 and 96h were respectively 224.6, 109.43, 41.16, 25.52 mg NO₂-N L⁻¹ and 273, 51, 147.97, 113.97, 83.78 mg NO₂-N⁻¹. According to the results of LC₅₀ was possible to estimate the levels of security for post-larval and juvenile *L. vannamei* at 2.55 and 8.38 NO₂-N mg L⁻¹, respectively.

Key words: toxicity, nitrite, shrimp, mortality, LC₅₀

INTRODUÇÃO

O acúmulo de substâncias tóxicas inorgânicas, como amônia e nitrito, é um dos principais problemas de qualidade da água em sistemas de aquicultura intensiva (COLT & ARMSTRONG, 1981). O acúmulo do nitrito pode ocorrer devido a altas densidades de estocagem em sistemas de cultivo comerciais, a um desequilíbrio nas taxas do processo de nitrificação ou ao baixo aproveitamento deste composto pelas bactérias heterotróficas (MEVEL & CHAMROUX, 1981; DIAB et al., 1993; PHILIPS et al. 2002; EBELING et al., 2006).

Elevadas concentrações de nitrito em ambientes aquáticos, podem causar problemas hemolinfáticos. Nos artrópodes e moluscos, moléculas de oxigênio se ligam ao cobre em sítios ativos da hemocianina, com aumento da concentração do nitrito no sistema impossibilita o processo de transporte de oxigênio, ou seja, o nitrito se liga à hemocianina, ocupando o lugar do oxigênio, transformando a hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos. Dessa forma, ocorre uma redução na quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo (TAHON et al., 1988), podendo ocorrer hipóxia e conseqüentemente mortalidade dos organismos cultivados (CHEN et al., 1986).

Segundo Rand & Petrocelli (1985), a concentração e o tempo necessário para que um composto produza um efeito tóxico, depende do agente químico, da espécie cultivada e severidade do efeito. A sensibilidade dos organismos para um composto tóxico pode variar de acordo com o seu estágio de desenvolvimento, assim como a debilidade desse organismo por algum patógeno (WAJSBROT et al. 1993).

A variação da toxidez é pequena para organismos de mesma espécie e idade similares, e geralmente maiores entre espécies diferentes. Os testes de toxicidade podem ser produzidos através de exposições letais (curto período) ou crônicas (longo período) ao produto químico (RAND & PETROCELLI, 1985). Os efeitos tóxicos para os camarões cultivados a curto e longo prazo pode afetar crescimento e sobrevivência dos animais, causando prejuízo na produção (VINATEA et al., 2010; LIN & CHEN, 2003).

Na literatura existem alguns trabalhos referente ao efeito dos compostos nitrogenados para *L. vannamei*: Lin & Chen (2001) analisaram o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda da amônia em juvenis; Enquanto que Schuler (2010) analisou a toxicidade da amônia e do nitrito para pós-larvas em baixas salinidades; Por sua vez, Gross et al. (2004) determinaram o efeito crônico e agudo (96h) do nitrito em juvenis; Sowers et al. (2004) analisaram os efeitos tóxicos do nitrito sobre juvenis em água do mar e artificial com baixa salinidade; e Lin & Chen (2003) analisaram o efeito da salinidade sobre a toxicidade aguda do nitrito em juvenis. Entretanto estudo sobre a toxicidade aguda do nitrogênio do nitrito em pós-larva e juvenis de *L. vannamei* em salinidade 30‰ ainda é escasso.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de toxicidade aguda foram desenvolvidos nas instalações do Laboratório de Sistema de Produção Aquícola na Estação de Aquicultura Continental Professor Johei Koike do Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, mantendo o fotoperíodo natural (12h claro e 12h escuro). O método utilizado foi baseado no Manual da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 1985).

Foram realizados dois experimentos de toxicidade aguda. No primeiro foram utilizadas pós-larvas ($0,012 \pm 0,003$ g) de *Litopenaeus vannamei* em unidades experimentais de 2 L com volume útil de 1,6 L. O segundo teste foi feito com juvenis da mesma espécie com peso médio de $2,49 \pm 0,20$ g em unidades experimentais de 12 L com volume útil de 10 L. Todos os animais foram provenientes de uma larvicultura comercial e foram estocados na densidade de 10 indivíduos por unidade experimental para ambos experimentos.

Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções feitas com nitrito de sódio P.A. (Synth®). O experimento foi realizado em concentração

controle ($0 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$) e concentrações de nitrogênio do nitrito 20, 40, 80, 160, 240, 320, 400 e $480 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, com duas repetições para cada tratamento. Durante os experimentos, a água foi totalmente renovada a cada 24h e as soluções adicionadas novamente, para manutenção das respectivas concentrações. A aeração foi mantida constante através de pedra porosa. Os parâmetros físicos de qualidade de água foram acompanhados diariamente com multiparâmetro YSI 556 MPS (YSI Incorporation, Ohio, USA) e pHmetro (WTW 315i), a salinidade foi mantida em 30‰.

Para a determinação das concentrações letais medianas (LC_{50}) foram utilizados os dados de mortalidade, observados a cada 24h de exposição e retirados os indivíduos mortos. O critério de mortalidade adotado foi referente a ausência de qualquer tipo de movimento ou reação a estímulos mecânicos com uma micropipeta.

As LC_{50} , para pós-larvas e juvenis de *L. vannamei*, em 24, 48, 72 e 96h, e seus respectivos intervalos de confiança (95%), foram estimadas com a utilização do software Trimmed Spearman Karber Method (HAMILTON et al. 1977). Para a determinação dos níveis de segurança de nitrito, foi feito o uso dos valores estimados de LC_{50} 96h, multiplicando por um fator de aplicação (LC_{50} 96h * 0,1), como proposto por Sprague (1971).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos tratamentos controle não foram observadas mortalidades durante o experimento. As pós-larvas de *L. vannamei* tiveram mortalidade em 24 h a partir da concentração de $160 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, já a mortalidade total ocorreu apenas na concentração de $400 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. As pós-larvas começaram a morrer na concentração de $20 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, quando expostos por 48, 72 e 96 h (Figura 2A). Em 48 h, a mortalidade total ocorreu na concentração de $320 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, e para 72 e 96 h de exposição ocorreu a partir de $240 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$ (Figura 1A).

Para os juvenis (2,5 g), a mortalidade em 24 h ocorreu na concentração de $40 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$ e em 48, 72 e 96 h a mortalidade ocorreu a partir de $20 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$. A mortalidade total em 24, 48, 72 e 96 h ocorreu a partir da concentração de 480, 400, 320 e $240 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, respectivamente (Figura 1B).

De acordo com Colt & Armstrong (1981), tanto a amônia como o nitrito podem estar presentes nos sistemas de cultivo em níveis tóxicos. Sabe-se que o nitrito é um produto intermediário do processo de nitrificação da amônia ou da desnitrificação do nitrato. O

acúmulo de nitrito na água pode deteriorar a qualidade da água, reduzir o crescimento, aumentar o consumo de oxigênio, e até mesmo causar alta mortalidade de camarão.

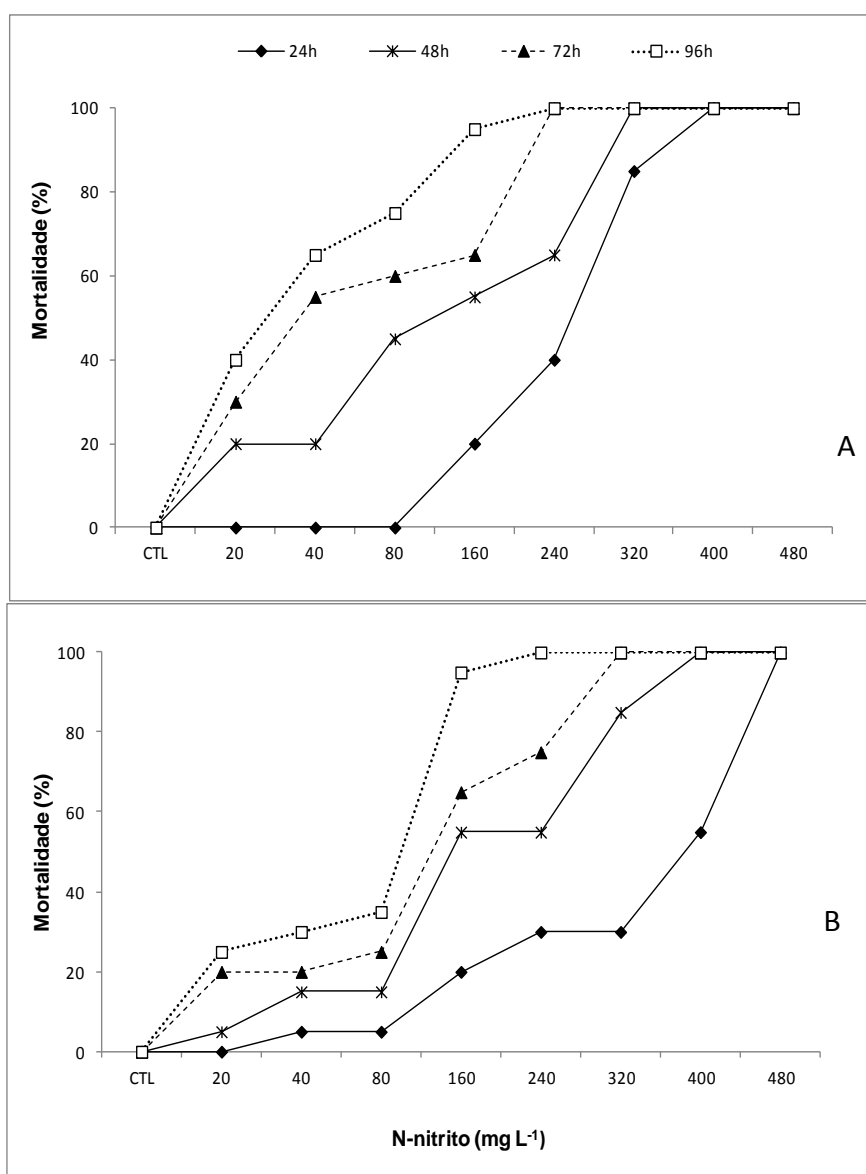


Figura 1. Percentagem de mortalidade para pós-larva (A) e juvenis (B) de *L. vannamei* expostos a diferentes concentrações de nitrito.

Os valores estimados de LC_{50} para 24, 48, 72 e 96 h foram calculados a partir da mortalidade observada para a concentração de NO_2-N em pós-larvas e juvenis de *L. vannamei*. O LC_{50} do nitrogênio do nitrito para 24 e 48 h não apresentou diferença significativa ($P \geq 0,05$), entretanto o LC_{50} em juvenis para 72 e 96 h foi significativamente maior ($P < 0,05$) que em pós-larvas (Tabela 4).

Tabela 1. Valores de LC₅₀ do NO₂-N (mg L⁻¹) em diferentes períodos de exposição para pós-larvas e juvenis de *L. vannamei*.

<i>L. vannamei</i>	LC ₅₀ NO ₂ -N (mg L ⁻¹)			
	24h	48h	72h	96h
Pós-larvas	224,60 (197,08-255,96)	109,43 (71,57-167,30)	41,16 (22,25-76,15)	25,52 (17,25-37,76)
Juvenis	273,51 (230,96-323,91)	147,97 (115,99-188,76)	113,97 (83,21-156,08)	83,78 (54,97-127,70)

* O intervalo de confiança 95% entre parênteses

Analisando a toxicidade de nitrito (96h) para juvenis entre as espécies de camarões peneídeos, é possível observar que *L. vannamei* é a espécie mais resistente a este composto nitrogenado, seguido por *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Penaeus monodon* e *P. chinensis*.

No teste de toxicidade aguda pode ser obtida informação sobre a letalidade relativa de um composto tóxico, todavia não pode afirmar que determinada concentração tem efeitos subletais e crônicos sobre os organismos (BUIKEMA et al., 1982). De acordo com Wasielesky (2000), a maioria dos estudos sobre a toxicidade do nitrito em peneídeos refere-se ao efeito negativo causado no crescimento ou as concentrações subletais baseadas em dados de LC₅₀ de curta ou média duração.

Wickins (1976) relatou um LC₅₀ para peneídeos de 8,5 a 15,4 mg NO₂-N L⁻¹, contudo no presente estudo 25,52 e 83,78 mg NO₂-N L⁻¹ para pós-larva e juvenil. O LC₅₀ (96 h) para pós-larva obtido foi superior ao encontrado por Chen & Chin (1988), no entanto o LC₅₀ em 96 h para juvenil foi menor que os dados obtidos pela maioria dos autores, sendo maior apenas que o LC₅₀ (96h) relatado por Chen & Lei (1990) e Chen et al. (1990) para *Penaeus monodon* e *Penaeus chinensis*, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 2. Valores de LC₅₀ c para pós-larva e juvenis de peneídeos.

Espécie	LC ₅₀				Referência
	24h	48h	72h	96h	
<i>Litopenaeus vannamei</i> (PL)	224,6	109,43	41,16	25,52	Presente estudo
<i>Penaeus monodon</i> (PL)	61,87	33,17	20,53	13,55	Chen & Chin (1988)
<i>Litopenaeus vannamei</i> (Juvenil)	273,51	147,97	113,97	83,78	Presente estudo
<i>Litopenaeus vannamei</i> (Juvenil)	274,1	244	224,8	178,3	Lin & Chen (2003)
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Juvenil)	252,04	222,24	136,82	105,97	Campos et al. (2012)
<i>Penaeus monodon</i> (Juvenil)	215,85	185,33	88,54	54,76	Chen & Lei (1990)
<i>Penaeus chinensis</i> (Juvenil)	339	-	-	37,71	Chen et al. (1990)

A partir dos resultados de LC₅₀ (96 h) obtidos no presente estudo foi possível estimar os níveis de segurança para pós-larvas e juvenis de *Litopenaeus vannamei* com base nos índices de Sprague (1971) (Tabela 6).

Tabela 3. Nível de segurança do NO₂-N (mg L⁻¹) para pós-larva e juvenil de *Litopenaeus vannamei*, estimados a partir do LC₅₀ de 96h.

	LC ₅₀ 96 h	Fator de Aplicação (Sprague, 1971)	Nível de Segurança
Pós-larva	25,52	0,1	2,55
Juvenil	83,78		8,38

Sprague (1971) relata que um nível de segurança pode ser obtido multiplicando o maior valor de CL₅₀ do estudo pelo fator de aplicação empírica 0,1. No presente estudo, o nível de segurança para pós-larva de *L. vannamei* é de 2,5 mg NO₂-N L⁻¹, para *P. monodon* foi estimado o nível de segurança de 1,3 mg NO₂-N L⁻¹ (CHEN e CHIN, 1998). Campos et al. (2012) estimaram o nível de segurança de 10,6 mg NO₂-N L⁻¹ para juvenis de *F. brasiliensis*. Em estudo realizado com juvenis de *Penaeus monodon*, Chen & Lei (1990) estimaram nível de segurança de 3,8 mg NO₂-N L⁻¹. Para juvenis *Penaeus chinensis* foi estimado o nível de segurança de 2,6 mg NO₂-N L⁻¹ de nitrito (CHEN et al., 1990). Lin & Chen (2003) estimaram para juvenis de *Litopenaeus vannamei* de 15,2 mg NO₂-N L⁻¹ como nível de segurança. No presente estudo, o nível de segurança para juvenis de *L. vannamei* foi de 8,4 mg NO₂-N L⁻¹ de nitrito, bastante inferior ao estimado por Lin & Chen (2003).

O entendimento da ação fisiológica de um composto tóxico é a chave para prevenir alguns efeitos subletais. O conhecimento de seu modo de ação poderia ajudar a prevenir conclusões incorretas sobre a toxicidade do composto (Sprague, 1971). Na aquicultura, a toxicidade dos compostos nitrogenados é o parâmetro mais limitante, uma vez que os níveis de oxigênio sejam mantidos de forma adequada (COLT & ARMSTRONG, 1981).

CONCLUSÃO

Os níveis de segurança de nitrito obtidos para *Litopenaeus vannamei* possuem grande importância no cultivo de camarões, uma vez que a partir dele podem ser tomadas medidas preventivas para que não ocorra perdas na produção. O camarão marinho *L. vannamei* apresentam baixa tolerância ao nitrito, sendo que as pós-larvas são mais

sensíveis que os juvenis, evidenciando assim que é necessário uma maior atenção no manejo dos sistemas de cultivo para evitar o acúmulo desse composto nitrogenado.

AGRADECIMENTOS

A Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) no âmbito do Programa Nacional de Carcinicultura (RECARCINA) pelo suporte financeiro. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de pesquisa.

LITERATURA CITADA

- BUIKEMA A.L.; NIEDERLEHNER, R.R.; CAIRNS, J.J. Biological monitoring Part IV. Toxicity testing. *Water Res*, 1982 . v. 16, p. 239-262.
- CAMPOS, B.R.; MIRANDA FILHO, K.C.; D'INCAO, F.; POERSCH, L.; WASIELESKY, W. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*, Rio Grande, 2012. v. 34, p. 75-81.
- CHEN, J.C.; CHIN, C.K.; LEE, C.K. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp *Penaeus monodon*. The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, 1986, p. 657-662.
- CHEN, J.C.; CHIN, T.S. Acute Toxicity of Nitrite to Tiger Prawn, *Penaeus monodon*, Larvae. *Aquaculture*, Amsterdam, 1988. v. 69, p. 253-262.
- CHEN, J.C.; LEI, S.C. Toxicity of Ammonia and Nitrite to *Penaeus monodon* Juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1990. v. 21, p. 300-306.
- CHEN, J.C.; TING, Y.Y.; LIN, J.N.; LIN, M.N. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Marine Biology*, 1990. v. 107, p. 427-431.
- COLT, J.E.; ARMSTRONG, D.A. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: ALLEN, L.J, E.C KINNEY. (eds.) Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section, *American Fisheries Society*, Maryland, 1981. p. 34-47.
- DIAB, S. et al. Nitrification pattern in a fluctuating anaerobic-aerobic pond environment. *Water Reserch*, 1993. v. 27, p. 1469-1475.

- EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, Amsterdam, 2006. v. 257, p. 346-358.
- EPA. Acute toxicity test for estuarine and marine organisms (shrimp 96-hour acute toxicity test). EPA-540/9-85-010, 1985.
- HAMILTON, MA, RUSSO R.C.; THURSTON, R.V. 1977. Trimmed Spearman Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11: 714-719. Correction *Environ. Sci. Technol.*, 1977. v. 12, p. 417.
- GROSS, A.; ABUTBUL, S.; ZILBERG, D. Acute and Chronic Effects of Nitrite on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Cultured in Low-Salinity Brackish Water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2004. v. 35, p. 315-321.
- LIN, Y.C.; CHEN, J. C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone Juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marina Biology and Ecology*, 2001. v. 259, p. 109-119.
- LIN, Y.C.; CHEN, J.C. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 2003. v. 224, p. 193-201.
- MEVEL, G.; CHAMROUX, S. 1981 A study on nitrification in the presence of prawns (*Penaeus japonicus*) in marine closed systems, *Aquaculture*, 2003. v. 23, p. 29-43.
- PHILIPS, S., LAANBROEK, H.J., VERSTRAETE, W. Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*, 2002. v. 1, p. 115-141.
- RAND, G.M.; PETROCELLI P.R. Fundamentals of aquatic toxicology. Ed. Taylor & Francis, USA, 1985. 666p.
- SCHULER, D.J.; BOARDMAN, G.D. Acute toxicity of ammonia and nitrite to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010. v. 41, p. 438-446.
- SOWERS, A.; YOUNG, S.P.; ISELY, J.F.; BROWDY, C.L.; TOMASSO, J.R. Nitrite Toxicity to *Litopenaeus vannamei* in Water Containing Low Concentrations of Sea Salt or Mixed Salts. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2004. v.35, p. 445-451.
- SPRAGUE, J.B. Measurement of pollutant toxicity to fish-III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Res.*, 1971. v. 5, p. 245-266.
- TAHON, J.P.; VAN HOOFF, D.; VINCKIER, C.; WITTERS, R. De LEY, M.; LONHE, R. The reaction of nitrite with the haemocyanin of *Astacus leptodactylus*. *Biochemical Journal*, 1988. v. 249, p. 233-242.

VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.O.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B.L.; LAWSON, A.; SCHULER, A.; LEFFLER, J.W. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, 2010. v. 42, p. 17-24.

WAJSBROT, N.; GASITH, A.; DIAMANT, A.; POPPER, D.M. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *Journal of Fish Biology*, 1993. v. 42, p. 321-328.

WASIELESKY, W. Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: efeitos dos parâmetros ambientais. Tese de doutorado. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, 2000, 199p.

WICKINS, J.F. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture*, 1976. v. 9, p.19-37.

5. ANEXOS

Periódico: *Boletim do Instituto de Pesca*

Site: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>

ISSN: 0046-9939 (impresso) e 1678-2305 (online)

O **Boletim do Instituto de Pesca**, tem por objetivo a divulgação de trabalhos científicos inéditos, relacionados a Pesca, Aquicultura e Limnologia.

A política da Instituição para o Boletim do Instituto de Pesca inclui a publicação de artigos científicos, notas científicas, relatos de caso e artigos de revisão, originais, que contribuam significativamente para o conhecimento nas áreas de Zootecnia, Limnologia, Biologia e Pesca. A publicação dos trabalhos depende da aprovação do Conselho Editorial, baseada em revisão por pares.

É publicado um volume por ano, com o necessário número de fascículos.

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol.

O processo de avaliação utilizado pelo Comitê Editorial do Instituto de Pesca é o sistema por pares "blind review", ou seja, sigilo sobre a identidade, tanto dos autores quanto dos revisores.

O original do trabalho (uma cópia impressa e uma cópia gravada em CD ROM), bem como dos documentos necessários (relacionados no item Submissão de trabalho), devem ser encaminhados ao Comitê Editorial, via correio, sendo todos os demais trâmites necessários para avaliação e publicação realizados via e-mail.

Após a publicação da edição impressa, o autor responsável pelo trabalho receberá 19 (dezenove) separatas.

Os trabalhos enviados para publicação no Boletim do Instituto de Pesca podem ter a forma de **Artigo Científico, Nota Científica, Relato de Caso ou Artigo de Revisão**. O(s) autor(es) deve(m) indicar, no ofício de encaminhamento, que tipo de trabalho desejam seja publicado.

Entretanto, **após avaliação do original, os revisores e/ou editores podem propor que o mesmo seja publicado sob outra forma, se assim julgarem pertinente.**

Em todos os casos, os dados constantes do trabalho **não podem ter sido publicados, exceto na forma preliminar, como resumo, dissertação, tese ou parte de palestra publicada.**

O número **máximo de autores** deverá ser de **seis (6)**, no caso de Artigos Científicos, e **quatro (4)**, no caso de Nota Científica e Relato de Caso. Serão aceitos mais autores, desde que devidamente justificada a atuação de todos na execução/elaboração do trabalho. Caberá ao CEIP verificar a pertinência da justificativa.

Artigo Científico

Trabalho resultante de pesquisa científica, **apresentando dados originais**, obtidos por meio de experimentação e/ou teoria, baseada em métodos consagrados, rigorosamente controlados e com planejamento estatístico adequado, que possam ser replicados e generalizados. A discussão deve ser criteriosa, com base científica sólida; não deve se limitar a comparações dos resultados com a literatura, mas apresentar inferências, hipóteses e argumentações sobre o que foi estudado.

Nota Científica

Comunicação curta de fato inédito, resultante de pesquisa científica, cuja divulgação imediata se justifica, mas com informações insuficientes para constituir artigo científico. Incluem-se nesta categoria a descrição de uma técnica, o registro da descoberta de uma nova espécie biológica, observações e levantamentos de resultados de experimentos que não podem ser repetidos, e outras situações únicas. Deve ter o mesmo rigor científico de um Artigo Científico e conter os elementos necessários para avaliação dos argumentos apresentados.

Relato de Caso

Trabalho constituído de dados descritivos ou observacionais de um ou mais casos, explorando um método ou problema por meio de um exemplo investigado, específico a uma região, período ou situação peculiar, limitada pela dificuldade de reprodução e que não permite maiores generalizações. É uma investigação que se assume como particular sobre uma **situação específica, única ou especial**, pelo menos em certos aspectos, observada em seu ambiente natural, procurando caracterizá-la e, desse modo, contribuir para a compreensão global de certo fenômeno de interesse. De modo geral, utiliza-se, como metodologia para coleta de dados, observações diretas e indiretas, entrevistas, questionários, registros bibliográficos, entre outros.

Artigo de Revisão

Estudo aprofundado sobre tema específico ou questão que requer amplo debate interdisciplinar. Não deve consistir apenas de um resumo de dados, mas conter uma **avaliação crítica e objetiva** dos dados, o **estado da arte** e a **investigação necessária para o avanço** do conhecimento sobre o tema.

PROCEDIMENTOS EDITORIAIS

Submissão de trabalho

Os trabalhos deverão ser enviados, **via correio**, com a seguinte documentação **devidamente assinada**:

1. Ofício de encaminhamento do trabalho ao Comitê Editorial do Instituto de Pesca, contendo **título do artigo, nome completo do(s) autor(es), seus endereços institucionais e emails**, bem como o **nome do autor indicado para correspondência** e a especificação do **tipo de publicação** (Artigo Científico, Nota Científica, Relato de Caso ou Artigo de Revisão) (modelo no link **Documentos**, no site: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>);
2. Original do trabalho: uma cópia impressa (rubricada) e uma cópia gravada em CD-ROM, devidamente identificado;
3. Quando necessário (trabalhos que envolvem a manipulação de vertebrados e pesquisas em relação ao saber popular), atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição de origem da pesquisa.

Endereço:

Comitê Editorial do Instituto de Pesca

CAIXA POSTAL 61070 - CEP: 05001-900 – São Paulo – SP - Brasil

Tel.: (55) (11) 3871-7535

site: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>

O trabalho **também** deverá ser enviado, devidamente identificado, **via e-mail (em arquivo do WORD – extensão .doc)**, para: ceip@pesca.sp.gov.br.

Os trâmites para publicação só serão iniciados após o recebimento dos documentos via correio.

Após **APROVAÇÃO** do trabalho, deverá ser encaminhada:

1. Cessão de Direitos Autorais e Autorização para publicação em meio eletrônico (modelo no link **Documentos**, no site: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>). O documento deve ser assinado pelo(s) **autor(es)**. Excepcionalmente, na impossibilidade de obter a assinatura de algum dos autores, o autor responsável pelo trabalho deve assumir a responsabilidade pelas declarações.

Avaliação do trabalho

1. O trabalho, submetido ao *Boletim*, que atender à política Editorial, às normas para submissão e às normas de estruturação do texto (formatação) será pré-selecionado para avaliação linguística (*) e técnica. Caso contrário, será solicitada a adequação às normas ou a inclusão de documentos, para que a tramitação do mesmo se inicie.

(*) Recomenda-se que o(s) autor(es) busque(m) assessoria linguística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e/ou inglesa e/ou espanhola) antes de encaminhar o trabalho para publicação.

2. Original de trabalho com inadequações linguísticas, morfológicas ou sintáticas, que por isso exigir revisão criteriosa, poderá ser recusado pelo Comitê Editorial.

3. Após aprovação pelo CEIP, e segundo a ordem cronológica de recebimento, o trabalho será enviado a revisores (no mínimo dois) de reconhecida competência no assunto abordado.

Em seguida, se necessário, retornará ao(s) autor(es) para modificações/correções. O retorno do texto poderá ocorrer mais de uma vez, se assim o(s) revisor(es) solicitar(em).

O prazo de retorno do trabalho corrigido pelo(s) autor(es) ao CEIP, cada vez que solicitado, será de até 30 (trinta) dias; caso o prazo não seja obedecido, o processo será automaticamente cancelado.

4. O trabalho será aceito para publicação se tiver dois pareceres favoráveis, ou rejeitado quando pelo menos dois pareceres forem desfavoráveis. No caso de pareceres contraditórios, o trabalho será enviado a um terceiro revisor.

Ao Comitê Editorial é reservado o direito de efetuar os ajustes que julgar necessários.

5. Os originais não aceitos para publicação ficarão à disposição do(s) autor(es) por um ano (12 meses).

6. O trabalho aceito retornará ao(s) autor(es) para eventuais alterações e checagem (versão preliminar), necessárias no processo de editoração e normatização ao estilo do Boletim. O prazo para devolução da versão preliminar será de sete (7) dias.

Disposições finais

Casos omissos serão avaliados pelo Comitê.

ESTRUTURAÇÃO DO TRABALHO - Formatação

Instruções gerais

O trabalho deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word (arquivo “doc”), de acordo com a seguinte formatação:

- fonte Book Antiqua, tamanho 11;
- espaçamento entre linhas: 1,5;
- tamanho da página: A4;
- margens esquerda e direita: 2,5 cm;
- margens superior e inferior: 3,0 cm;
- número máximo de páginas, incluindo Figura(s) e/ou Tabela(s) e Referências:
 - . Artigo Científico e Artigo de Revisão: 25 páginas;
 - . Nota Científica: 15 páginas;
 - . Relato de Caso: 15 páginas.

- as **linhas devem ser numeradas sequencialmente, da primeira à última página**. As páginas também devem ser numeradas.

Estrutura de Artigo Científico

A estrutura de Artigo Científico é a seguinte: Título, Autor(es), Qualificação profissional (professor, pesquisador, aluno de pós graduação, pós doutorando, técnico) e Endereços institucionais (completos) e eletrônicos, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract,

Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (opcional), Referências.

O Título, o Resumo e as Palavras-chave devem ser traduzidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português ou espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês ou espanhol.

Os termos: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser alinhados à esquerda e grafados em letras maiúsculas e em negrito.

TÍTULO

Deve ser claro e conciso (não deve se estender por mais do que duas linhas ou dez palavras), redigido em português e inglês ou, se for o caso, em espanhol, inglês e português. Deve ser grafado em letras maiúsculas e centralizado na página. No caso de trabalho desenvolvido com auxílio financeiro, informar qual a Agência financiadora, na primeira página, indicado com asterisco, também apostado ao final do título. Recomenda-se que não seja inserido o nome científico da espécie e a referência ao descritor, a não ser que seja imprescindível (no caso de espécies pouco conhecidas).

NOME(S) DO(S) AUTOR(ES)

Deve(m) ser apresentado(s) completo(s) e na ordem direta (prenome e sobrenome). Redigir em caixa alta apenas o sobrenome pelo qual o(s) autor(es) deve(m) ser identificado(s). A qualificação profissional, filiação do(s) autor(es), bem como o endereço completo para correspondência e o e-mail, deverão ser colocados na primeira página, logo após o nome dos autores, sendo identificado(s) por números arábicos, separados por vírgula quando necessário.

O número **máximo de autores** deverá ser de **seis (6)**, no caso de Artigos Científicos. Serão aceitos mais autores, desde que justificada a atuação de todos na execução/elaboração do trabalho. Caberá ao CEIP verificar a pertinência da justificativa.

RESUMO + Palavras-chave

O Resumo deve conter concisamente o objetivo, a metodologia, os resultados obtidos e a conclusão, em um número máximo de palavras de 250 (duzentas e cinquenta). Deve ser redigido de forma que o leitor se interesse pela leitura do trabalho na íntegra.

- **palavras-chave**: no mínimo três (3) e no máximo seis (6), redigidas em letras minúsculas e separadas por ponto e vírgula. Não devem repetir palavras que constem do Título e devem identificar o assunto tratado, permitindo que o artigo seja encontrado no sistema eletrônico de busca.

ABSTRACT + Key words

Devem ser estritamente fiéis ao Resumo e Palavras-chave.

INTRODUÇÃO

Deve ocupar, preferencialmente, no máximo duas páginas. Deve apresentar o problema científico a ser solucionado e sua importância (justificativa para a realização do trabalho), e estabelecer sua relação com resultados de trabalhos publicados sobre o assunto (de preferência, artigos recentes, publicados nos últimos cinco anos), apresentando a evolução/situação atual do tema a ser pesquisado. O último parágrafo deve expressar o objetivo, de forma coerente com o constante no Resumo.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações devem ser organizadas de preferência em ordem cronológica e descrever sucintamente a metodologia aplicada, de modo que o experimento possa ser reproduzido.

Deve conter, de acordo com a natureza temático-científica, a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, a descrição dos tratamentos e das variáveis, o número de repetições e as características da unidade experimental.

Deve-se evitar detalhes supérfluos, extensas descrições de técnicas de uso corrente e a utilização de abreviaturas não usuais.

Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

Evitar o uso de subtítulo, mas, quando indispensável, grafá-lo em itálico, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

RESULTADOS

Devem ser apresentados como **item único, separado** da Discussão. Podem ser apresentados sob a forma de Tabelas e/ou Figuras, quando necessário. Dados apresentados em Tabelas ou Figuras não devem ser repetidos sistematicamente no texto.

Tabelas: devem ser numeradas com algarismos arábicos e encabeçadas pelo Título (autoexplicativo); recomenda-se que os dados apresentados em tabelas não sejam repetidos em gráfico, a não ser quando absolutamente necessário. As Tabelas devem ter, no máximo, 16 cm de largura. Deve-se evitar, sempre que possível, tabela em formato paisagem.

Abreviaturas também devem ser evitadas, a não ser quando constituírem unidades de medida. Abreviaturas, se necessárias, devem ter seu significado indicado em legenda, abaixo da Tabela.

Figuras: representadas por gráficos, desenhos, mapas ou fotografias, devem ter, **no máximo**, 16 cm de largura e 21 cm de altura. Devem ser numeradas com algarismos arábicos, com Título autoexplicativo abaixo delas. Gráficos e mapas devem ser apresentados em fontes legíveis. Recomenda-se **não** inserir gráficos, mapas ou fotos em tabelas ou quadros. Os gráficos não devem ter linhas de grade nem margens.

Tabelas e Figuras devem ser inseridas no decorrer do texto. Desenhos, mapas e fotografias devem ser apresentados no original e em arquivos distintos, preferencialmente em formato digital “tif” ou “jpeg”, Ex.: *figura x.tif* ou *figura x.jpeg*, e permitir redução para 16 cm ou 7,5 cm de largura, **sem perda de definição**. Figuras coloridas poderão ser incluídas somente quando estritamente necessário.

DISCUSSÃO

A Discussão deve ser elaborada e não apenas uma comparação dos dados obtidos com os observados na literatura. Deve reforçar as idéias principais e as contribuições proporcionadas pelo trabalho, bem como comentar sobre a necessidade de novas pesquisas ou sobre os problemas/limitações encontrados. Evitar repetir valores numéricos, constantes dos resultados, assim como citar Tabelas e Figuras. A Discussão deve conter comentários adequados e objetivos dos resultados, discutidos à luz de observações registradas na literatura.

CONCLUSÕES

As Conclusões devem ser claras, concisas e responder ao(s) objetivo(s) do estudo. Deve ser capaz de evidenciar a solução de seu problema por **meio dos resultados obtidos**.

AGRADECIMENTOS (opcional)

Devem ser sucintos, dirigidos a Instituição(s) ou pessoa(s) que tenha(m) prestado colaboração para a realização do trabalho, e, de preferência, não ultrapassar cinco linhas.

Estrutura de Nota Científica e Relato de Caso

Nota Científica e Relato de Caso devem seguir ordenação similar à de Artigo Científico, contendo Título, Autor(es), Endereços institucional(s) e eletrônico(s), Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos (opcional) e Referências. Resultados e Discussão, **apenas em Relato de Caso**, podem ser apresentados como item único.

A formatação segue o mesmo padrão, com exceção do número máximo de palavras no resumo (**150 palavras**) e número máximo de páginas (incluindo Tabelas e Figuras): **15 páginas**.

Estrutura de Artigo de Revisão

Por se tratar de um artigo diferenciado, não é obrigatório seguir a mesma ordenação aplicada aos demais tipos de artigos. Entretanto, deve conter: Título, Autor(s), Endereço(s) Institucional(s) e eletrônico(s), Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Discussão, Agradecimentos (opcional) e Referências.

REFERÊNCIAS (normas para **TODOS** os tipos de publicação)

São apresentadas em ordem alfabética do sobrenome dos autores, sem numeração. Devem conter os nomes de todos os autores da obra, a data de publicação, o título do artigo e do periódico, por extenso, local da publicação (**sempre** que possível), volume e/ou edição e número/intervalo de páginas.

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e citados no texto são de responsabilidade do autor.

Recomenda-se, **no mínimo, 70% das citações** seja referente a **artigos científicos**, de preferência publicados nos últimos **cinco anos**. **Trabalhos de graduação não serão aceitos**.

Dissertações e teses devem ser evitadas como referências; porém, se estritamente necessárias, devem estar disponíveis on-line. **Livros e Resumos** também devem ser evitados.

Exemplos:

Citações no texto

- Usar o sistema Autor/Data, ou seja, o sobrenome do(s) autor(s) (em letras **maiúsculas**) e do ano em que a obra foi publicada. Exemplos:

- para um autor: “MIGHELL (1975) observou...”; “Segundo AZEVEDO (1965), a piracema...”; “Estas afirmações foram confirmadas em trabalhos posteriores (WAKAMATSU, 1973)”.

- para dois autores: “RICHTER e EFANOV (1976), pesquisando...” Se o artigo que está sendo **submetido** estiver **redigido** em português usar “e” ligando os sobrenomes dos autores. Se estiver redigido em inglês ou espanhol usar “and” (RICHTER and EFANOV, 1976) ou “y” (RICHTER y EFANOV, 1976), respectivamente.

- para três ou mais autores: o sobrenome do primeiro autor deve ser seguido da expressão “*et al.*” (redigido em itálico). Exemplo: “SOARES *et al.* (1978) constataram...” ou “Tal fato foi constatado na África (SOARES *et al.*, 1978).”

- para o mesmo autor, em anos diferentes, respeitar a ordem cronológica, separando os anos por vírgula. Exemplo: “De acordo com SILVA (1980, 1985)...”

- para citação de vários autores sequencialmente, respeitar a ordem cronológica do ano de publicação e separá-los por ponto e vírgula.

Exemplo: “...nos viveiros comerciais (SILVA, 1980; FERREIRA, 1999; GIAMAS e BARBIERI, 2002)...”

- Ainda, quando for **ABSOLUTAMENTE** necessário referenciar um autor citado em trabalho consultado, o nome desse autor será citado apenas no texto (**em letras minúsculas**), indicando-se, entre vírgulas e precedido da palavra latina *apud*, o nome do autor do trabalho consultado, o qual irá figurar na listagem de referências. Ex.: “Segundo Gulland, *apud* SANTOS (1978), os coeficientes...”.

Citações na listagem de REFERÊNCIAS

1. Documentos impressos – Para dois autores, relacionar os artigos referidos no texto, com o sobrenome dos autores (em letras **maiúsculas**), das iniciais dos prenomes (separadas por ponto, sem espaço), separados por “e”, “and” ou “y”, se o texto **submetido** for **redigido** em português, inglês ou espanhol, respectivamente.

Se mais de dois autores, separá-los por ponto e vírgula.

As referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor. Havendo mais de uma obra com a mesma entrada (mesmo sobrenome), considera-se a ordem cronológica e, em seguida, a alfabética do terceiro elemento da referência.

Exemplos:

a) Artigo de periódico

BARBIERI, G. e SANTOS, E.P. dos 1980 Dinâmica da nutrição de *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824), na represa do Lobo, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 32(1): 87-89.

WOHLFARTH, G.W.; MOAY, R.; HULATA, G. 1983 A genotype-environment interaction for growth rate in the common carp, growing in intensively manured ponds. *Aquaculture*, Amsterdam, 33: 187-195.

b) Dissertação e tese (utilizar apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário)

SOUZA, K.M. 2008 *Avaliação da política pública do defeso e análise socioeconômica dos pescadores de camarão-setebarbas (Xiphopenaeus kroyeri) do Perequê – Guarujá, São Paulo, Brasil*. Santos. 113p. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, APTA). Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes_pg.php> Acesso em: 22 ago. 2009.

c) Livro (utilizar apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário)

GOMES, F.P. 1978 *Curso de estatística experimental*. 8ª ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 430p.

ENGLE, R.F. e GRANGER, C.W.J. 1991 *Long-run economic relationship: readings in cointegration*. New York: Oxford University Press. 301p.

d) Capítulo de livro e publicação em obras coletivas

MACKINNON, J.G. 1991 Critical values for cointegration tests. In: ENGLE, R.F. e GRANGER, C.W.J. *Long-run economic relationship: readings in cointegration*. New York: Oxford University Press. p.267-276.

e) Publicação em anais e congêneres de congresso, reunião, seminário (utilizar RESUMOS como referência apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário)

AMORIM, A.F. e ARFELLI, C.A. 1977 Contribuição ao conhecimento da biologia e pesca do espadarte e agulhões no litoral Sul-Sudeste do Brasil. In: CONGRESSO PAULISTA DE AGRONOMIA, 1., São Paulo, 5-9/set./1977. *Anais...* São Paulo: Associação de Engenheiros Agrônomos. p.197-199.

ÁVILA-DA-SILVA, A.O.; CARNEIRO, M.H.; FAGUNDES, L. 1999 Gerenciador de banco de dados de controle estatístico de produção pesqueira marítima – ProPesq@. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 11.; CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1., Recife, 17-21/out./1999. *Anais...* v.2, p.824-832.

2. Meios eletrônicos (Documentos consultados online e em CD-ROM)

- Utilizar as normas de referência de *documentos impressos*, acrescentando o endereço eletrônico em que o documento foi consultado e a data do acesso.

Exemplos:

CASTRO, P.M.G. (sem data, *on line*) *A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais*. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>> Acesso em: 3 set. 2004.

SILVA, R.N. e OLIVEIRA, R. 1996 Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., Recife, 1996. *Anais eletrônicos...* Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21 jan. 1997.

TOLEDO PIZA, A.R.; LOBÃO, V.L.; FAHL, W.O. 2003 Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda) em função da densidade de estocagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 55., Recife, 14-18 jul./2003. *Anais...* Recife: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 1 CD-ROM.

OBSERVAÇÕES:

1. Fórmulas, expressões e equações matemáticas

Podem ser escritas inseridas no texto, se não apresentarem caracteres especiais; caso contrário, devem ser apresentadas isoladamente na linha. Exemplo: Ganho de peso = peso final – peso inicial.

2. Unidades de medida

Devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades (SI). Exemplo: 10 m²; 100 peixes m⁻¹; 20 t ha⁻¹.

3. Casas decimais

Devem ser padronizadas, de acordo com o parâmetro avaliado, ou seja, se foi determinado o comprimento dos animais, com uma casa decimal, indicar, em todo o texto, os valores com uma casa decimal.

4. Anexos e apêndices

Devem ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do trabalho. Caberá aos Revisores e Editores julgar a necessidade de sua publicação.

LISTA DE CHECAGEM

1. Preparar Ofício de encaminhamento (**modelo no link Documentos – download**), devidamente assinados pelos autores (**preferencialmente**) ou pelo autor responsável.

2. Verificar se o texto, incluindo Tabelas e Figuras, está digitado em fonte Book Antiqua, tamanho 11, com espaçamento 1,5, em página A4, com margens superior e inferior de 3,0 cm, e esquerda e direita de 2,5 cm.

3. Verificar se o texto não excede o limite de 25 páginas (artigo científicos e artigo de revisão), 15 páginas (nota científica e relato de caso), incluindo Tabelas e Figuras e Referências, e se as linhas e páginas foram numeradas sequencialmente, da primeira à última página.

4. Verificar se o Resumo e o Abstract não excedem o limite de 250 palavras (artigo científico e artigo de revisão) ou de 150 palavras (nota científica e relato de caso).

5. Verificar se todas as informações sobre os autores estão completas (nome completo, filiação, endereço institucional e e-mail).
6. Fazer revisão linguística criteriosa do texto.
7. Verificar se as Citações e Referências estão de acordo com as normas adotadas pelo Boletim e devidamente correlacionadas.
8. Verificar se as Tabelas e Figuras estão formatadas de acordo com as normas, não excedendo 16 cm de largura e 21 cm de altura.
9. Enviar, via correio, uma cópia impressa do texto original, uma cópia gravada em CD-ROM (arquivo “doc”), devidamente identificado, e os demais documentos solicitados e, via e-mail, uma cópia (arquivo “doc”, devidamente identificado pelo nome do AUTOR). É de total responsabilidade do autor a integridade dos textos enviados.
10. A documentação que não atender estritamente a estas normas não será aceita.
11. Após a aprovação, encaminhar a Cessão de Direitos Autorais e Autorização para publicação em meio eletrônico (**modelo no link Documentos – download**) devidamente assinado pelos autores (**preferencialmente, em um mesmo documento**) ou pelo autor responsável.

Periódico: *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*

Site: <http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria>

ISSN: 1981-0997

A **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** (RBCA) é editada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com o objetivo de divulgar artigos científicos, para o desenvolvimento científico das diferentes áreas das Ciências Agrárias. As áreas contempladas são: Agronomia, Engenharia Agrícola, Engenharia Florestal, Engenharia de Pesca e Aqüicultura, Medicina Veterinária e Zootecnia. Os artigos submetidos à avaliação devem ser originais e inéditos, sendo vetada a submissão simultânea em outros periódicos. A reprodução de artigos é permitida sempre que seja citada explicitamente a fonte.

Forma e preparação de manuscritos

O trabalho submetido à publicação deverá ser cadastrado no portal da revista (<http://www.agraria.pro.br/sistema>). O cadastro deverá ser preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Só serão aceitos trabalhos depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados ou submetidos em publicação em outro veículo. Excetuam-se, nesta limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo.

Os trabalhos subdivididos em partes 1, 2..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores. Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos.

Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

COMPOSIÇÃO SEQUENCIAL DO ARTIGO

- a.** Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula.
- b.** Os artigos deverão ser compostos por, **no máximo, 6 (seis) autores**;
- c.** Resumo: no máximo com 15 linhas;
- d.** Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título;
- e.** Título em inglês no máximo com 15 palavras, ressaltando-se que só a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula;
- f.** Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo;
- g.** Key words: no mínimo três e no máximo cinco;
- h.** Introdução: destacar a relevância do artigo, inclusive através de revisão de literatura;
- i.** Material e Métodos;
- j.** Resultados e Discussão;
- k.** Conclusões devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se nos objetivos da pesquisa;

I. Agradecimentos (facultativo);

m. Literatura Citada.

Observação: Quando o artigo for escrito em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão também constar, respectivamente, em português ou espanhol, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma principal.

Edição do texto

a. **Idioma:** Português, Inglês e Espanhol

b. **Processador:** Word for Windows;

c. **Texto:** fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverá existir no texto palavras em negrito;

d. **Espaçamento:** duplo entre o título, nome(s) do(s) autor(es), resumo e abstract; simples entre item e subitem; e no texto, espaço 1,5;

e. **Parágrafo:** 0,5 cm;

f. **Página:** Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,5 cm, e esquerda e direita de 3,0 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas;

g. Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas as primeiras letras maiúsculas. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula;

h. As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão;

i. Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- Títulos de tabelas e figuras, para artigos escritos em português ou espanhol, deverão ser escrito em fonte Times New Roman, estilo normal e tamanho 9. A tradução em inglês deverá ser inserida logo abaixo com fonte Times New Roman, estilo itálico e tamanho 8. Para artigos escritos em Inglês, as traduções podem ser realizadas em português ou espanhol;

- As tabelas e figuras devem apresentar larguras de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas pela primeira vez. Exemplo de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura numa figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), e posicionada ao lado esquerdo superior da figura e fora dela. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal.

Exemplo do título, o qual deve ficar acima: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá existir um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, e ser diferenciadas através de marcadores de legenda diversos e nunca através de cores distintas. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Fotografias ou outros tipos de figuras deverão ser escaneadas com 300 dpi e inseridas no texto. O(s) autor(es) deverá(ão) primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista uma boa reprodução gráfica. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis, mas, sem separação do título por vírgula.

Exemplos de citações no texto

a. Quando a citação possuir apenas um autor: ... Freire (2007) ou ... (Freire,2007).

b. Quando possuir dois autores: ... Freire & Nascimento (2007), ou ... (Freire & Nascimento, 2007).

c. Quando possuir mais de dois autores: Freire et al. (2007), ou (Freire et al., 2007).

Literatura citada

A citação dos artigos relacionados com o tema do trabalho publicados anteriormente na **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, não é obrigatória, porém é recomendável. O corpo editorial da revista poderá sugerir a inclusão de alguma referência significativa se julgar oportuno.

O artigo deve ter, preferencialmente, no máximo **25 citações bibliográficas**, sendo a maioria em **periódicos recentes (últimos cinco anos)**.

As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

As referências citadas no texto deverão ser dispostas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e conter os nomes de todos os autores, separados por ponto e vírgula. As citações devem ser, preferencialmente, de publicações em periódicos, as quais deverão ser apresentadas conforme os exemplos a seguir:

a. Livros

Mello, A.C.L. de; Véras, A.S.C.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Dubeux Júnior, J.C.B; Freitas, E.V. de; Cunha, M.V. da . Pastagens de capim-elefante: produção intensiva de leite e carne. Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco, 2008. 49p.

b. Capítulo de livros

Serafim, C.F.S.; Hazin, F.H.V. O ecossistema costeiro. In: Serafim, C.F.S.; Chaves, P.T. de (Org.). O mar no espaço geográfico brasileiro. Brasília- DF: Ministério da Educação, 2006. v. 8, p. 101-116.

c. Revistas

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers).

Costa, R.B. da; Almeida, E.V.; Kaiser, P.; Azevedo, L.P.A. de; Tyszka Martinez, D. Tsukamoto Filho, A. de A. Avaliação genética em progênies de Myracrodruon urundeuva Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.4, p.685-693, 2011.

<<http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=v6i4a1277&path%5B%5D=990>> 29 Dez. 2011. doi:10.5039/agraria.v6i4a1277

d. Citações no prelo (aceitas para publicação) devem ser evitadas.

Brandão, C.F.L.S.; Marangon, L.C.; Ferreira, R.L.C.; Silva, A.C.B.L. e. Estrutura fitossociológica e classificação sucessional do componente arbóreo em um fragmento de floresta atlântica em Igarassu–Pernambuco. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 2009. No prelo.

e. Dissertações e teses

Bandeira, D.A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 116p. Tese Doutorado.

f. Trabalhos apresentados em congressos (Anais, Resumos, Proceedings, Disquetes, CD-ROMS) devem ser evitados.

Dubeux Júnior, J.C.B.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Cunha, M.V. da . Fluxo de nutrientes em ecossistemas de pastagens: impactos no ambiente e na produtividade. In: Simpósio sobre o Manejo da Pastagem, 23, 2006, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2006. v.único, p.439-506.

No caso de disquetes ou CD-ROM, o título da publicação continuará sendo Anais, Resumos ou Proceedings, mas o número de páginas será substituído pelas palavras Disquetes ou CD-ROM.

g. WWW (World Wide Web) e FTP (File Transfer Protocol)

Burka, L.P. A hipertext history of multi-user dimensions; MUD history. <http://www.ccs.neu.edu/home/lpb/mud-history-html>. 10 Nov. 1997.

h. Citações de comunicação pessoal deverão ser referenciadas como notas de rodapé, quando forem imprescindíveis à elaboração dos artigos.

Outras informações sobre a normatização de artigos

1) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a primeira letra de cada palavra maiúscula;

- 2) O nome de cada autor deve ser por extenso apenas o primeiro nome e o último sobrenome, sendo apenas a primeira letra maiúscula;
- 3) Não colocar ponto no final de palavras-chave, key words e títulos de tabelas e figuras. Todas as letras das palavras-chave devem ser minúsculas, incluindo a primeira letra da primeira palavra-chave;
- 4) No Abstract, a casa decimal dos números deve ser indicada por ponto em vez de vírgula;
- 5) A Introdução deve ter, preferencialmente, no máximo 2 páginas. Não devem existir na Introdução equações, tabelas, figuras, e texto teórico sobre um determinado assunto;
- 6) Evitar parágrafos muito longos;
- 7) Não deverá existir itálico no texto, em equações, tabelas e figuras, exceto nos nomes científicos de animais e culturas agrícolas, assim como, nos títulos das tabelas e figuras escritos em inglês;
- 8) Não deverá existir negrito no texto, em equações, figuras e tabelas, exceto no título do artigo e nos seus itens e subitens;
- 9) Em figuras agrupadas, se o título dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado;
- 10) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada nome;
- 11) Nos exemplos seguintes o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; $1/s = L.s^{-1}$; $27^{\circ}C = 27^{\circ}C$; $0,14 \text{ m}^3/\text{min}/\text{m} = 0,14 \text{ m}^3.\text{min}^{-1}.\text{m}^{-1}$; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; $\text{mm}/\text{dia} = \text{mm}.\text{d}^{-1}$; $2 \times 3 = 2 \times 3$ (deve ser separado); $45,2 - 61,5 = 45,2-61,5$ (deve ser junto). A % é unidade que deve estar junta ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, colocar a unidade somente no último valor (Exs.: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%). Quando for pertinente, deixar os valores numéricos com no máximo duas casas decimais;
- 12) No texto, quando se diz que um autor citou outro, deve-se usar apud em vez de citado por. Exemplo: Walker (2001) apud Azevedo (2005) em vez de Walker (2001) citado por Azevedo (2005). Recomendamos evitar essa forma de citação.
- 13) Na definição dos parâmetros e variáveis de uma equação, deverá existir um traço separando o símbolo de sua definição. A numeração de uma equação deve estar entre parêntesis e alinhada esquerda. Uma equação deve ser citada no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eq. 4.;
- 14) Quando o artigo for submetido não será mais permitida mudança de nome dos autores, seqüência de autores e quaisquer outras alterações que não sejam por solicitadas pelo editor.

Procedimentos para encaminhamento dos artigos

O autor correspondente deve se cadastrar como autor e inserir o artigo no endereço <http://www.agraria.ufrpe.br> ou

<http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria>

O autor pode se comunicar com a Revista por meio do e-mail agrarias@prppg.ufrpe.br, editorgeral@agraria.pro.br ou secretaria@agraria.pro.br.