

**FABIANA PENALVA DE MELO**

**EFEITOS DE NÍVEIS PROTÉICOS E PROBIÓTICO NO DESEMPENHO DO  
CAMARÃO MARINHO CULTIVADO EM MEIO HETEROTRÓFICO**

**RECIFE**

**2012**



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

**EFEITOS DE NÍVEIS PROTÉICOS E PROBIÓTICO NO DESEMPENHO DO  
CAMARÃO MARINHO CULTIVADO EM MEIO HETEROTRÓFICO**

**Fabiana Penalva de Melo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.

**Prof. Dr. Eudes de Souza Correia**

Orientador

**Recife**

**Fevereiro - 2012**

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

M528e Melo, Fabiana Penalva de  
Efeitos de níveis protéicos e probiótico no desempenho  
do camarão cultivado em meio heterotrófico / Fabiana  
Penalva de Melo. – Recife, 2012.  
51 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, 2012.  
Inclui referências e anexos.

1. Flocos microbianos 2. Proteína 3. Sem remoção  
de água 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**

**Efeitos de níveis protéicos e probiótico no desempenho do camarão marinho cultivado  
em meio heterotrófico**

**FABIANA PENALVA DE MELO**

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida em 03/02/2012 pela seguinte Banca Examinadora

---

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

---

**Prof. Dr. Luiz Vinatea Arana** (Membro externo)  
Departamento de Aquicultura  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

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

---

**Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes** (Membro interno)  
Departamento de Medicina Veterinária  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

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

## Dedicatória

A minha Avó,  
Nívea Oliveira Penalva  
(*In memoriam*)

## **Agradecimentos**

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural Pernambuco, pelo apoio para realização do Curso e ao Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE, em nome de todos os professores e funcionários, pela ótima acolhida nestes anos de convivência e excelente contribuição para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da Bolsa de Pós-Graduação.

Ao estimado Professor Dr. Eudes de Souza Correia que tanto contribuiu para minha formação, pela confiança, amizade, incentivo e exemplo profissional.

Aos membros da Banca Examinadora, titulares e suplentes, pelas críticas e sugestões que contribuíram para melhorar este trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, principalmente a Paulo de Paula Mendes, Emiko Shinozaki Mendes, Maria Raquel Coimbra, Silvio Peixoto e Roberta Soares pela amizade, conselhos e incentivo.

Aos colegas do Laboratório de Sistemas Aquícolas (LAPAQ), Marcony Vasconcelos, Felipe Kássio, Rodolfo de Paula, Rivaldo Siqueira Júnior, Eduardo Lima, Bruna Larissa, Xélem Wambach, pela amizade, companheirismo e ajuda durante o período de execução do experimento. Em especial a Thales Veríssimo, Renato Ribeiro, Maria Gabriela Ferreira e João Paulo Viana de Lima pelo apoio e amizade.

Aos amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, especialmente a Emanuell Felipe, Isabela Bacalhau, Suzianny Maria e Karine Cavalcanti, pela agradável convivência, amizade, apoio e incentivo.

Aos meus pais Luzia Maria Barros e Edvaldo Melo, meus irmãos, Edvaldo Melo Júnior, Eduardo Henrique Penalva, Nívea Penalva Vasconcelos e Neiva Penalva. Aos meus sobrinhos, Ícaro de Melo, Júlia de Melo, Maria Eduarda de Melo, Caio de Melo, Artur de Melo e Joana de Melo. Ao meu tio Raymundo Nonato Barros (*Tio Ray*), pela compreensão, incentivo e torcida.

E, principalmente, a Deus, que está sempre presente em todos os momentos da minha vida.

## Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* alimentado com dietas de diferentes níveis protéicos em sistema heterotrófico com e sem a adição de probiótico. Foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo fatorial 4×2, com quatro níveis de proteína na dieta (200, 250, 300 e 350 g/kg PB), como primeiro fator (P20, P25, P30 e P35), e a adição de probiótico (Pro) na água de cultivo, como segundo fator (P20<sub>Pro</sub>, P25<sub>Pro</sub>, P30<sub>Pro</sub> e P35<sub>Pro</sub>). Foram utilizados 24 tanques em fibra de vidro (800 L de volume útil), abastecidos com uma mistura de 300 litros de água salgada (30 g/L), clorada e declorada, e 500 litros de água salgada proveniente de um cultivo anterior. Cada tanque foi estocado com 240 camarões (300 camarões/m<sup>3</sup>) pesando 1,55±0,1 g. Temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH e salinidade foram aferidos diariamente, enquanto NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P e alcalinidade total foram analisados semanalmente. Não houve diferença significativa nos parâmetros de qualidade da água avaliados, exceto o teor de nitrito que foi influenciado pelos níveis de proteína ( $P < 0,05$ ). Após 50 dias de cultivo o peso final dos camarões foi de 7,2±0,4 g ( $P \geq 0,05$ ). A interação dos níveis protéicos x adição de probiótico influenciaram significativamente ( $P < 0,05$ ) a sobrevivência (70,5-90,0%), biomassa final (1.315-2.002 g/m<sup>3</sup>) e ganho de biomassa (681-1.230 g). No cultivo intensivo do *Litopenaeus vannamei*, com a utilização de bioflocos como fonte de alimento suplementar, é possível reduzir os níveis de proteína da ração de 35 para 20%, sem comprometer o desempenho zootécnico dos camarões e a qualidade da água do cultivo.

**Palavras-chave:** Flocos microbianos, proteína, sem renovação de água.

## Abstract

This study aimed to evaluate the culture of *Litopenaeus vannamei* marine shrimp fed with different protein levels diets in heterotrophic systems with and without probiotic addition. It was adopted a completely randomized design with 4 x 2 factorial arrangement, using four dietary protein levels (200, 250, 300 e 350 g Kg<sup>-1</sup> CP), as the first factor (P20, P25, P30 and P35), and probiotic addition in the water, as the second factor (P20<sub>Pro</sub>, P25<sub>Pro</sub> P30<sub>Pro</sub> e P35<sub>Pro</sub>). For this were used 24 fiberglass tanks (800 L working volume), filled with a mixture of 300 liters of seawater (30 g L<sup>-1</sup>), chlorinated and dechlorinated, and 500 liters of seawater from the before culture. Each tank was stocked with 240 juveniles (300 shrimp m<sup>-3</sup>) averaging 1.55±0.1 g. Water temperature, dissolved oxygen, pH and salinity were measured daily, while NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P and alkalinity were analyzed weekly. There were no significant differences in daily parameters of water quality (temperature, dissolved oxygen, pH and salinity;  $P > 0.05$ ), while the weekly parameters only nitrite was influenced by the protein levels ( $P < 0.05$ ). After 50 days of culture the average shrimp final weight was 7.2±0.4 g ( $P \geq 0.05$ ). The interaction of protein levels vs. probiotic addition influenced significantly ( $P < 0.05$ ) the survival (70.6 to 90.0%), final biomass (1,315-2,002 g/m<sup>3</sup>) and biomass gain (681-1,230 g). In *Litopenaeus vannamei* intensive culture with the utilization of biofloc as supplemental food it is possible to reduce the protein levels of feed from 35 to 20%, without compromising the shrimp growth performance and water quality of culture.

**Key words:** Microbial flocs, protein, zero water exchange



## Lista de figura

	Página
Figura 1. Concentrações médias da amônia, nitrito, nitrato e ortofosfato durante o cultivo <i>L. vannamei</i> alimentado com diferentes níveis protéicos com e sem adição de probiótico.....	37

## Lista de tabelas

	Página
Tabela 1. Efeito dos diferentes níveis de proteína e da adição de probiótico na água sobre os parâmetros de qualidade da água durante o período experimental (média±desvio padrão).....	36
Tabela 2. Efeito dos diferentes níveis de proteína e da adição do probiótico na água sobre o crescimento do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> cultivado durante 50 dias, sem renovação de água.....	39

## Sumário

Página

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Sistemas de cultivo.....	13
2.2. Sistema heterotrófico.....	15
2.3. Relação Carbono:Nitrogênio.....	17
2.4. Probiótico na aquicultura.....	19
2.5. Requerimento protéico do <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	20
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
4. ARTIGO CIENTÍFICO - Efeito de diferentes níveis protéicos no desempenho do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> cultivado em sistema de bioflocos ( <i>Boletim do Instituto de Pesca</i> , ISSN 0046-9939).....	29
4.1. Introdução.....	31
4.2. Material e Métodos.....	33
4.3. Resultados e Discussão.....	35
4.4. Conclusão.....	40
4.5. Agradecimentos.....	40
4.6. Referências.....	40
5. ANEXO.....	45

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de camarão da pesca extrativa e da carcinicultura tem aumentado nas últimas quatro décadas, atingindo mais de 6,5 milhões de toneladas em 2008 (FAO, 2010). Este crescimento foi atribuído ao aumento da produção de camarão cultivado no mundo, que em 2008, originou mais de 52% da produção mundial, foi originada da carcinicultura (FAO, 2010).

Por um longo período, o aumento da produção mundial de camarão cultivado dependeu da expansão dos sistemas tradicionais de cultivo extensivo e semi-intensivo (WASIELESKY et al., 2006a; SAMOCHA et al., 2004; SAMOCHA, 2009). Nos últimos anos, mudanças significativas nas operações de manejo de camarões cultivados, estão sendo atribuídas, principalmente, a avanços tecnológicos, elevada demanda de mercado e redução dos estoques selvagens (SAMOCHA et al., 2004; SAMOCHA, 2009). Essas mudanças estão relacionadas a iniciativas recentes do setor que se concentram na intensificação dos cultivos.

Sistemas intensivos de cultivo de camarão podem ser definidos como tendo controle da entrada de alimentos, alta densidade de estocagem, limitada ou nenhuma troca d'água, aeração intensa e acúmulo de partículas floculadas (bioflocos) (BURFORD et al., 2004; EBELING et al., 2006; HARGREAVES, 2006; RAY et al., 2009). Os flocos são formados por uma densa população microbiana heterotrófica que colonizam as partículas de resíduos orgânicos e absorvem nitrogênio, fósforo e outros nutrientes da água (AVNIMELECH et al., 2008; CHAMBERLAIN et al., 2001a). Este processo melhora a qualidade da água e recicla os resíduos como detritos bacterianos enriquecidos.

Conforme citado por Browdy et al. (2001) e Azim et al. (2008) a presença de nitrogênio é necessária para produzir células microbianas ricas em proteína (bioflocos). Dessa forma, o nitrogênio inorgânico é imobilizado em novas células bacterianas quando o substrato orgânico tem uma alta relação carbono:nitrogênio (AZIM et al., 2008; SCHNEIDER et al. 2006). Em

sistemas aquícolas, a relação C/N pode ser aumentada pela adição de diferentes fontes de carbono orgânico na água de cultivo.

As bactérias heterotróficas utilizam carboidratos como fonte de alimento para gerar energia, crescer e produzir novas células (AVNIMELECH, 1999; HARGREAVES, 2006). A produção bacteriana resultante deste processo pode ser utilizada como fonte alimentar, contribuindo com até 29% de todo nitrogênio retido pelos camarões cultivados (BUFORD et al., 2004).

Os flocos possibilitam às espécies de camarões onívoras, como o *Litopenaeus vannamei*, consumir diretamente a biomassa bacteriana, que é rica em proteínas, aminoácidos e alguns micro elementos (McINTOSH, 2000). O biofoco, formado durante o ciclo de produção, serve como fonte suplementar de alimento para camarões, podendo reduzir o requerimento protéico dos alimentos formulados, conseqüentemente, os custos de produção (CHAMBERLAIN et al., 2001a; BURFORD et al., 2003b).

Dentre os custos de produção, a ração é o item de maior peso, representando mais de 50% das despesas totais nos sistemas aquícolas (TAN e DOMINY, 1997; MARTINEZ-CORDOVA et al., 2003; SHIAU e BAI, 2009). Como as proteínas são os componentes mais caros nas rações para camarão marinho, a proporção de sua inclusão na formulação da dieta afeta diretamente o custo de produção (MATINEZ-CORDOVA et al., 2003).

A indução do alimento natural no ambiente de cultivo é utilizada como estratégia de manejo, o que resulta em redução nos custos com alimentação e aumento da taxa de crescimento dos camarões (OTOSHI et al., 2011). Em sistemas de cultivo heterotrófico, as partículas de biofoco podem contribuir significativamente para as necessidades nutricionais dos camarões, agindo como uma fonte suplementar de alimento (RAY et al., 2009).

Segundo Wasielesky et al. (2006a), o aumento da produtividade natural em sistemas de produção sem troca de água, permite a utilização de alimentos com menores níveis protéicos.

A redução da proteína dos alimentos é mais rentável e ambientalmente amigável, porque reduz a necessidade do uso de farinha de pescado.

Dessa forma, presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes níveis protéicos da ração sobre o crescimento, conversão alimentar e sobrevivência do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema de biofloco, com a utilização de probiótico na água.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Sistemas de cultivo

Os sistemas de produção aquícola podem ser classificados em extensivo, semi-intensivo, intensivo e superintensivo (TACON, 2004), sendo a classificação baseada na produção e no nível de manejo aplicado, podendo ser definidos de acordo com o aporte de nutrientes para o ambiente de cultivo (CORREIA, 1998; TACON, 2002).

Segundo Wasielesky et al. (2006a) a carcinicultura esteve fundamentada em três sistemas de cultivo: extensivo, semi-intensivo e intensivo. Primeiramente, no sistema de produção extensivo, baseado na utilização de viveiros com grandes áreas (100 ha), baixa densidade de estocagem (2,5-5 camarões/m<sup>2</sup>), baixa renovação de água (0-5% renovação de água/dia), sem aeração artificial, pouca fertilização e produtividades médias em torno de 50-500 Kg/ha/ano (TACON, 2002; TACON et al., 2002; TACON et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006a) alimentado exclusivamente pela biota natural dos viveiros.

Subsequentemente, a produção de camarões em sistema semi-intensivo incorporou novas estratégias de cultivo e melhores tecnologias, entre elas protocolos de fertilização, uso de bandejas de alimentação, aumento das densidades de estocagem (10-20 camarões/m<sup>2</sup>), uso parcial de aeração artificial - ao final do cultivo, aumento da taxa de renovação de água (5-20% renovação de água/dia) e produtividade variando de 500-5.000 Kg/ha/ano (CORREIA et al., 2002; TACON, 2002; TACON et al., 2002; NUNES, 2003; TACON et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006a).

Com os avanços no manejo de cultivo a carcinicultura adotou densidades de cultivo mais elevadas, que permitiu produzir camarões com peso médio de 12 g e três ciclos por ano (WURMANN e MADRID, 2006). Com a intensificação das unidades de produção aquícola surgiram vários problemas, entre eles a deterioração da qualidade da água causada pelo acúmulo de metabólitos e a dependência de grandes trocas d'água (AVINIMELECH, 2007).

Segundo Hopkins et al. (1993) sistemas de cultivo intensivo utilizam elevadas taxas de troca d'água que variam de 5 a 30% do volume do viveiro por dia e, estima-se que para produzir 1 kg de camarão seja necessário de 39 a 199 metros cúbicos de água, dependendo do nível de intensificação do sistema de cultivo.

As águas de efluentes do sistema de produção intensiva de camarão são tipicamente caracterizadas por altas cargas de nitrogênio, fósforo, carbono orgânico, partículas de sólidos em suspensão, demanda química de oxigênio e demanda bioquímica de oxigênio (PÁEZ-OSUNA, 2001; PIEDRAHITA, 2003; COHEN et al., 2005) e que sua liberação direta no ambiente, sem tratamento prévio, representa uma perda de nutrientes valiosos, consequentemente, reduzindo a rentabilidade dos cultivos (SMITH et al., 2002).

Em sistemas aquícolas, a entrada de água é uma via comum da introdução de patógenos no meio de cultivo (LOTZ e LIGHTNER, 1999). As principais doenças têm origem viral (LIGHTNER, 1999; LIGHTNER e PANTOJA, 2004) e são agravadas pela deterioração da qualidade da água de cultivo e pelos elevados níveis de trocas de água (LeMOULLAC, 2000). O surgimento de enfermidades, nos cultivos de camarão, tornou-se um problema em muitos países no Sul da Ásia, e Américas do Sul e Central (LIGTHER, 1999), sendo reconhecidos como uma ameaça à sustentabilidade da indústria da carcinicultura, e alguns deles causaram sérias perdas econômicas (LIGHTER et al., 1998).

As frequentes perdas dos ciclos de produção, geraram uma grande preocupação com relação ao surgimento de doenças e os impactos ambientais causados pela liberação dos efluentes no meio ambiente, levando a carcinicultura a procurar práticas para aumentar a biossegurança, como os sistemas de cultivo com limitada ou sem troca d'água e, reduzir o risco de intodução de patógenos (BROWDY et al., 2001; SAMOCHA et al., 2004; HANDY et al, 2004; BURFORD et al., 2004).



## 2.2. Sistema heterotrófico

O aumento da produção mundial de camarões cultivados, por um longo tempo, dependeu das práticas de cultivo extensivo e semi-intensivo. Mais recentemente, o setor tem focado na intensificação dos cultivos (SAMOCHA, 2009). Sistemas de cultivo superintensivos apresentam muitas vantagens sobre os sistemas tradicionais, dentre elas a mínima utilização de água, menor impacto ambiental, aumento da biossegurança e reduzido custo com alimento (RAY et al., 2009).

Recentemente, diversos estudos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de operar sistemas aquícolas de cultivo em regime de limitada ou zero troca d'água, que combinam o tratamento de água com a reciclagem de alimento artificial não consumido, através de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica (AVNIMELECH et al., 1994; CHAMBERLAIN e HOPKINS, 1994; BURFORD et al., 2003a; AVNIMELECH, 2006; WASIELESKY et al., 2006b). Esse tipo de cultivo é conhecido como *Biofloc Technology* (BFT), *Activated Suspension Technique* (AST), *Active Suspension Pond* (ASP), *Zero exchange, aerobic, heterotrophic* (ZEAH) e sistema heterotrófico, entre outros termos (McINTOSH, 1999; McNEIL, 2000; ERLER et al., 2005; WASIELESKY et al., 2006a; AVNIMELECH, 2007; DE SCHRYVER et al., 2008).

As principais vantagens desses sistemas são a redução do uso da água, redução da emissão de efluentes e, conseqüentemente, redução de possíveis impactos ambientais, aumento da conversão alimentar e controle dos níveis dos compostos nitrogenados inorgânicos através da proteína microbiana produzida (BROWDY et al., 2001; WASIELESKY et al., 2006b; AZIM et al., 2008; AVNIMELECH, 2009). Além disso, reduzem o risco de introdução e disseminação de enfermidades, promovendo os benefícios a dieta dos animais cultivados através da produtividade natural dos viveiros (McINTOSH, 2000; BURFORD et al., 2003a; WASIELESKY et al., 2006b).

O cultivo em sistema heterotrófico é realizado mediante o desenvolvimento e o controle da densidade de flocos microbianos na coluna da água através da adição de fontes de carboidratos (AVNIMELECH, 2007; CRAB et al., 2009) e, tem como características trabalhar em condições superintensivas, com viveiros revestidos com manta de polietileno de alta densidade, altas taxas de aeração ( $> 25$  CV/ha), rações com baixo teor protéico ( $< 30\%$  de proteína bruta), elevadas densidades de estocagem de camarões (300 a 500 camarões/m<sup>2</sup>), pouca ou nenhuma renovação d'água e camarões livres de patógenos específicos (BOYD e CLAY, 2002; BURFORD et al., 2003a, 2004; SAMOCHA et al., 2007).

Os princípios do cultivo de peixes e camarões, em sistemas intensivos com limitada troca d'água, foram desenvolvidos simultaneamente em escala experimental, para camarões no Waddel Mariculture Center, Carolina do Sul, EUA, e para peixes, principalmente tilápia, em Israel (HOPKINS et al., 1993; SAMOCHA et al., 2004; BURFORD et al., 2004; AVNIMELECH, 2007).

No início dos anos 1990, a fazenda comercial de camarão Belize Aquaculture Ltda (BAL), na América Central, desenvolveu uma abordagem integrada para o cultivo de camarão, utilizando estoques de pós-larvas selecionadas, ração com baixo nível protéico ( $\sim 20\%$ ), elevadas densidades de estocagem ( $\sim 120$  animais/m<sup>2</sup>) em viveiros revestidos com polietileno de alta densidade (HDPE) e sob constante aeração, sistema de recirculação e tratamento completo da água após a despesca. Estas técnicas de manejo resultaram em níveis de produção em torno de 15 t/ha/ciclo (McINTOSH, 1999, 2000; BROWDY et al., 2001; BOYD e CLAY, 2002; BURFORD et al., 2003a;2004).

Em Belize Aquaculture Ltda e em outros sistemas de cultivo sem troca de água com elevada densidade de estocagem, o principal objetivo do manejo dos viveiros é a mudança de uma comunidade autotrófica para uma comunidade heterotrófica (McINTOSH, 2000). A comunidade heterotrófica desenvolve-se após 7-8 semanas, pela adição de uma fonte de

carbono orgânico, e caracteriza-se por flocos compostos de células bacterianas embutidas em uma matriz de cálcio e silicato (AVNIMELECH, 1999; McINTOSH, 2000). O consumo destes flocos pelos camarões pode contribuir para nutrição e reciclagem dos nutrientes no ambiente de cultivo (McNEIL, 2000).

### **2.3. Relação carbono:nitrogênio**

Em sistema de cultivo heterotrófico, é fundamental a utilização de técnicas e domínio da comunidade bacteriana heterotrófica através do balanceamento e manutenção de altas relações Carbono:Nitrogênio (C/N). O aporte de carbono nos sistemas heterotróficos pode ocorrer de fontes ricas em C orgânico (açúcares, amido, celulose, glucose, acetato, glicerol, etc) (HARI et al., 2006; DE SCHRYVER et al., 2008; AVNIMELECH, 2009) com destaque para o melaço de cana-de-açúcar, empregado como promotor de crescimento bacteriano em viveiros de cultivo no Brasil e no mundo (WASIELESKY et al., 2006b).

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) sugerem que a relação C/N seja entre 12-15g C:g N para uma ótima produção de bactérias heterotróficas. Segundo Wasielesky et al. (2006b) a relação C/N ideal para formação do floco microbiano deve estar na faixa entre 14 e 30:1. Por outro lado, Fontenot et al. (2007) demonstraram que a maior eficiência da comunidade microbiana no tratamento da água de cultivo de camarões ocorre em uma relação C/N de 10:1.

A correta manutenção da relação Carbono:Nitrogênio no desenvolvimento das bactérias heterotróficas em cultivos intensivos e semi-intensivos, resulta na conversão de compostos nitrogenados inorgânicos em células microbianas ricas em proteína (ASADUZZAMAN et al.,

2008). O nitrogênio inorgânico é imobilizado em células bacterianas quando os substratos orgânicos têm uma alta relação C/N (AZIM et al., 2008; CHAMBERLAIN et al., 2001a).

As bactérias heterotróficas utilizam o nitrogênio inorgânico para sintetizar proteína bacteriana em novas células e, pode ser utilizado como fonte de alimento por peixes e camarões (AVNIMELECH, 1999; MCGRAW, 2002; HARI et al., 2004; AZIM et al., 2008). Segundo Burford et al. (2003b) os microrganismos melhoram a qualidade da água e, na forma de partículas floculadas ou “flocos”, fornecem uma fonte suplementar de alimento para os camarões. Flocos bacterianos são formados durante o ciclo de produção e são constituídos principalmente de bactérias, microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de organismos mortos, cianobactérias, protozoários, pequenos metazoários e formas larvais de invertebrados, entre outros (DECAMP et al., 2002; BURFORD et al., 2003a; WASIELESKY et al., 2006b; RAY et al., 2009).

Normalmente, os flocos são compostos de 45% de proteína, que é quase o dobro do nível de proteína dos alimentos das rações utilizadas em viveiros de camarões (McINTOSH, 2000). Do ponto de vista nutricional, Azim e Little (2008) concluíram que o biofloco contém 38% de proteína, 3% de lipídios, 6% de fibra, 12% de cinzas e 19 kJ/g de energia bruta. A presença do floco microbiano rico em proteína, minerais, lipídios e vitaminas, pode reduzir substancialmente o requerimento 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).

## 2.4. Probiótico na aquicultura

O uso de probióticos no cultivo de organismos aquáticos tem aumentando com a demanda por práticas ambientalmente amigáveis (GATESOUBE, 1999). O conceito de probiótico foi definido por Fuller (1989) como “microrganismos vivos utilizados na alimentação, que afetam benéficamente o animal hospedeiro por melhorar seu balanço microbiano intestinal”. Baseado na relação entre os organismos cultivados e os microrganismos presentes no ambiente externo, Verschuere et al. (2000) definiram probióticos como “suplementos microbianos vivos que tem efeito benéfico ao hospedeiro, através da modificação da comunidade microbiana no hospedeiro ou no ambiente de cultivo, proporcionando um melhor consumo ou absorção de ração, maior resposta imunológica do hospedeiro à doenças e, melhor qualidade de água”. Segundo McIntosh (2000), na aquicultura, probiótico refere-se a um suplemento de bactérias selecionadas de cultura simples ou mista, adicionado à água de cultivo.

Na aquicultura, as condições da água são importantes para determinar o rendimento dos cultivos e o impacto causado por seus efluentes. Nesse contexto, a adição de probióticos em tem sido praticada com a intenção de melhorar a água do ambiente de cultivo (MCINTOSH, 2000).

Nos cultivos heterotróficos as comunidades microbianas podem ser manipuladas pela adição de uma fonte de carbono orgânico (melaço) ou através da inoculação de bactérias selecionadas (probióticas) (MORIARTY, 1999; AVNIMELECH, 1999). Esses suplementos microbianos são adicionados aos tanques de cultivo para modificar ou manipular a comunidade bacteriana na água e/ou sedimento e reduzem ou eliminam espécies patogênicas de microrganismos através de processos competitivos, melhorando a qualidade da água de cultivo, o crescimento e a sobrevivência das espécies cultivadas (HAVENAAR et al., 1992; VERSCHUERE et al., 2000).

## 2.5. Exigência protéica do *Litopenaeus vannamei*

A nutrição e alimentação do *Litopenaeus vannamei* tem recebido grande atenção nos últimos 20 anos, por parte dos pesquisadores, produtores e fabricantes de ração (CUZON et al., 2004). Nesse contexto, a utilização dos cultivos em sistema de bioflocos tem despertado o interesse dos pesquisadores quanto às propriedades nutricionais dos flocos bacterianos (agregados bacterianos). Flocos microbianos são ricos e possuem de 38 a 45% de proteína (McINTOSH, 2000; AZIM e LITTLE; 2008), podendo contribuir substancialmente para necessidades nutricionais dos camarões, agindo como uma fonte de alimento suplementar (RAY et al., 2009).

Alimentos para camarões são formulados para conter elevados níveis de proteína e sua qualidade nutricional é amplamente definida pelo conteúdo dos aminoácidos (MILLAMENA et al., 1996). Além de ser o principal e mais caro item na fabricação das rações (AKIYAMA, 1992), as proteínas são nutrientes essenciais indispensáveis para estrutura e funções biológicas de todos os organismos vivos. Crustáceos, como outros animais, necessitam de proteína na forma de aminoácidos essenciais para manutenção das funções vitais, crescimento e reprodução (GUILLAUME, 1997).

Geralmente, recomendam-se níveis ótimos de proteína variando de 30 a 57% para várias espécies de peneídeos (SHIAU, 1998). Entretanto, o requerimento protéico dos camarões pode ser influenciado por fatores bióticos (espécie, estado fisiológico, tamanho) pelas características da proteína (qualidade e fonte da proteína, relação proteína/energia) (KURESHY e DAVIS, 2002; HARDY, 2009) e por fatores abióticos, tais como, temperatura e salinidade da água (GUILLAUME, 1997). As exigências protéicas das espécies são baseadas na resposta do animal, aos diferentes níveis de proteína nas rações, sob um determinado conjunto de circunstância (KURESHY e DAVIS, 2002).

Com relação ao camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, em vários estudos foi focado o requerimento de proteína bruta, variando de 20 a 55% (SAMOCHA et al., 1993; TEICHERT-CODDINGTON e RODRIGUEZ, 1995; VELASCO et al., 1998, 2000) sob diferentes condições experimentais. Entretanto, em alguns estudos foi demonstrado que a produção de camarão em sistemas fechados com zero troca de água, o material orgânico em suspensão produzido nos tanques de cultivo pode servir como uma fonte adicional de proteína para os camarões, aumentando as taxas de crescimento e permitindo a utilização de rações com menores níveis protéicos (BROWDY et al., 2001; HOPKINS et al., 1995; WASIELESKY et al., 2006b; BALLESTER et al., 2010).

### 3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIAMA, D.M. Future considerations for shrimp nutrition and the aquaculture feed industry. In: WYBAN, J. (Ed.) Proceedings of special session on shrimp farming, World Aquaculture Society 1992, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 1992. p.198-205.
- 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.; 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, n.3, 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 Pratical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, LA, United States, 182 p., 2009.
- 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.
- BALLESTER, E.L.C.; ABREU, P.C.; CAVALLI, R.O.; EMERENCIANO, M.; DE ABREU, L.; WASIELESKY JR, W. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, v.16, n.2, p.163-172, 2010.
- 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, 17 p., 2002.
- BROWDY, C.L.; BRATVOLD, D.; STOKES, A.D.; McINTOSH, R.P. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Jory ED, Browdy CL (eds) Proceedings of



the special session on sustainable shrimp culture, aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, p. 20–34, 2001.

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, 2003a.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Microbial communities affect water quality, shrimp performance at Belize Aquaculture. **The global Aquaculture Advocate**, p.63-65, 2003b.

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.

CUZON, G.; LAWRENCE, A.; GAXIOLA, G.; ROSAS, C.; GILLAUME, J. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**, v.235, p.513-551, 2004.

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, n.5, p.50-54, 2001b.

CHAMBERLAIN, G. W.; HOPKINS, J. S. Reducing water use and feed cost in intensive ponds. **World Aquaculture**, v. 25, p. 29-32, 1994.

COHEN, J.M., SAMOCHA, T.M., FOX, J.M., GANDY, R.L., LAWRENCE, A.L. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. **Aquaculture**, v.32, p. 425-442, 2005.

CORREIA, E. S. **Influência da alimentação natural no cultivo semi-intensivo do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879)**. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 1998. 136 p.

CORREIA, E.S.; PEREIRA, J.A.; APOLINÁRIO, M.O.; HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Effect of pond aging on natural food availability and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquacultural Engineering**, v.26, p.61–69, 2002.

CRAB, R.; KOCHVA, M.; VERSTRATE, W.; AVNIMELECH, Y. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. **Aquacultural Engineering**, v.40, p.105-112, 2009.

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.; CONQUEST, L.; FORSTER, I.; TACON, A.G.J. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: Role of eukaryotic microorganisms. In: LEE, C.S. e O'BRYEN, P. (Eds.). **Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems**, World Aquaculture Society 2002, Baton Rouge, Louisiana USA, 2002, p.79-86.

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.; BALLESTER, E.C.; CAVALLI, R.O.; WASIELESKY, W. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. **Aquaculture International**, v.19, n.5, p.891-901, 2011.

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.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO, Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy, 218p., 2010.

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.

FULLER, R. A review: probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, p.365-378, 1989.

GATESOUBE, F.J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.180, p.147-165, 1999.

GUILLAUME, J. Protein and amino acids. In: D'ABRAMO, LR, DE CONKLIN, & MD AKIYAMA (Ed.). **Crustacean Nutrition**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1997, p. 26-50.

HANDY, M., SAMOCHA, T.M., PATNAIK, S., McKEE, D.A. Nursery trial compares filtration system performance in intensive raceways. **The Global Aquaculture Advocate**, v.8, p. 77-79, 2004.

HAVENAAR, R.; TEN BRINK, B.; HUIS IN'T VELD, J.H.J. Selection of strains for probiotic use. In: R. FULLER (Ed.), *Probiotics: the scientific basis*, Chapman and Hall, London, 1992. p. 209-224.

HARDY, R. Protein sources for marine shrimp aquafeeds: Perspectives and problems. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. (Eds). **The rising tide, Proceedings of session on sustainable shrimp Farming**, World Aquaculture Society 2009, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana USA, 2009, p.115-122.

HARGREVES, 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. Improved sustainability in extensive shrimp culture systems: control of carbon nitrogen ratio through addition of carbohydrate to the pond. **Aquaculture**, v.241, p.179-194, 2004.

HOPKINS, J.S.; HAMILTON, R.D.; SANDIFER, P.A.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.D. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.24, n.3, 1993.

HOPKINS, J.S.; SANDIFER, P.A.; BROWDY, C.L. A. 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**, v.26, n.1, 1995.

KURESHY, N.; DAVIS, A.D. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v.204, p. 125-143, 2002.

LeMOULLAC, G. Environmental factors affect immune response and resistance in crustaceans. **The Global Aquaculture Advocate**, December, p. 18-19, 2000.

LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M. Shrimp diseases and current diagnostic methods. **Aquaculture**. v. 164, p. 201–220, 1998.

LIGHTNER, D.V. The penaeid shrimp viruses TSV, IHHNV, WSSV, and YHV: current status in the Americas, available diagnostic methods and management strategies. **Journal Applied Aquaculture**. v.9, n.2, p 27-52, 1999.

LIGHTNER, D. V.; PANTOJA, C. R.; Infectious Myonecrosis (IMN): current status report on the biology of the etiological agent and development of diagnostic methods. In: ROCHA, I. P. (Ed.), *Livro de Resumos da FENACAM*, Natal, Brasil, p. 40, 2004.

LOTZ, J.M.; LIGHTNER, D.V. 1999. Shrimp biosecurity: pathogens and pathogen exclusion.

pp. 67-74 in: R.A. Bullis and G.D. Pruder (editors) Controlled and Biosecure Production Systems. Evolution and Integration of Shrimp and Chicken Models. Proceedings of a Special Session, World Aquaculture Society. Sydney, Australia, April 27-30, 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.

McINTOSH, R. Changing paradigms in shrimp farming: IV. Low protein feeds and feeding strategies. **The Global Aquaculture Advocate**, v.3, p.45-50, 2000.

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

MILLAMENA, O.M.; BAUTISTA-TEREUL, M.N.; KANAZAWA, A. Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodom* Fabricius. **Aquaculture**, v.143, p.403-410, 1996.

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

MORIARTY, D.J.W. Diseases Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. Microbial Biosystems: New Frontiers Proceedings of the eighth International Symposium on Microbial Ecology. In: BELL, C.R.; BRYLINSKY, M.; JOHNSON-GREEN P. (Ed.). Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada, 1999.

MOSS, S. M. Dietary Importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: LEE, C. S.; O'BRYEN, P. (Eds.). **Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 2002. p.1-18.

NUNES, A.J.P. Bandejas de alimentação na engorda de camarão marinho. **Panorama da Aquicultura**, v.13, n.80, p.39-47, 2003.

OTOSHI, C.A.; MOSS, D.R.; MOSS, S.M. Growth-enhancing of pond water on four size classes of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.42, n.3, p.417-422, 2011.

- PÁEZ-OSUNA, F. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. **Environmental Management**. v.28, n. 1, p. 131-140, 2001.
- PIEDRAHITA, R.H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v.226, p. 35–44, 2003.
- 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**, World Aquaculture Society 2009, Baton Rouge, Louisiana USA, 2009, p.255-266.
- SAMOCHA, T.M.; LAWRENCE, A.L.; BRAY, W.A. Design and operation of an intensive nursery raceway system for penaeid shrimp. In: McVEY, J.P. (Ed.) *Handbook of mariculture: crustacean aquaculture*. CRC Press Inc., Boca Raton, 1993, p.173–210.
- 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.
- SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A. M.; BURGER, J. M.; ALMEIDA, R. V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D. L., Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, v.36, p.184-191, 2007.
- SAMOCHA, T.M. Advances in shrimp nursery technologies. 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, 2009, p.195-208.
- 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.
- SHIAU, S.Y. Nutrient requirements of penaeid shrimps. **Aquaculture**, v.168, p.77-93, 1998.
- SHIAU, S.Y e 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, 2009, p.126-132.
- SMITH, D.M.; BURFOD, M.A.; TABRETT, S.J.; IRVIN, S.J.; WARD, L. The effect of feeding frequency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Aquaculture**, v.207, p.125–136, 2002.
- TACON, A.G.J. Thematic Review of Feeds and Feed Management Practices in Shrimp Aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium

Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 69 p. 2002.

TACON, A.G.J.; CODY, J.J.; CONQUEST, L.D.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I.P.; DECAMP, O.E. Effect of cultura 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.

TACON, A.G.J., NATES, S.F.; McNEIL, R.J. 2004. Dietary feeding strategies for marine shrimp: a review. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U., González, M. 2004. Avances en nutrición Acuícola VII. **Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola**. 16-19 Noviembre, 2004. Homosillo, Sonora, México.

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, 1997, p. 520-549.

TEICHERT-CODDINGTON, D.R.; RODRIGUEZ, R. Semi-intensive commercial grow-out of *Penaeus vannamei* fed diets containing differing levels of crude protein during wet and dry seasons in Honduras. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.26, p.72– 79, 1995.

VELASCO, M.; LAWRENCE, A.L.; CASTILLE, F.L.; OBALDO, L.G. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*. In: CRUZ-SUÁREZ, L.E.; RICQUE-MARIE, D.; TAPIA-SALAZAR, M.; OLVERA-NOVOA, M.A.; CIVERA-CERECEDO, R. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19–22, Noviembre 2000, Mérida.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, p.655-671, 2000.

WASIELESKY, W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C.L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, p.396–403, 2006a.

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, n.96, p.14-23, 2006b.

WURMANN, G.; MADRID, R.M. O desenvolvimento da salmonicultura no Chile: lições de um modelo vigoroso e sua possível aplicação na indústria do cultivo do camarão no Brasil. **Panorama da Aquicultura**. v.16, n.93, p.14-23, 2006.

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa dissertação está apresentado no artigo intitulado **“Efeito de diferentes níveis protéicos no desempenho do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema de bioflocos”** (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

**“EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS PROTÉICOS NO DESEMPENHO DO  
CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* CULTIVADO EM SISTEMA DE BIOFLOCO”**

Manuscrito a ser submetido à revista

*Boletim do Instituto de Pesca*, ISSN 0046-9939.

**EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS PROTÉICOS NO DESEMPENHO DO CAMARÃO*****Litopenaeus vannamei* CULTIVADO EM SISTEMA DE BIOFLOCO**

Fabiana Penalva de MELO<sup>1\*</sup>, Maria Gabriela Padilha FERREIRA<sup>1</sup>, João Paulo Viana de LIMA<sup>1,2</sup>, Eudes de Souza CORREIA<sup>1\*</sup>

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

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

**RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* alimentado com dietas de diferentes níveis protéicos em sistema heterotrófico com e sem a adição de probiótico. Foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo fatorial 4×2, com quatro níveis de proteína na dieta (200, 250, 300 e 350 g/kg PB), como primeiro fator (P20, P25, P30 e P35), e a adição de probiótico (Pro) na água de cultivo, como segundo fator (P20<sub>Pro</sub>, P25<sub>Pro</sub>, P30<sub>Pro</sub> e P35<sub>Pro</sub>). Foram utilizados 24 tanques em fibra de vidro (800 L de volume útil), abastecidos com uma mistura de 300 litros de água salgada (30 g/L), clorada e declorada, e 500 litros de água salgada proveniente de um cultivo anterior. Cada tanque foi estocado com 240 camarões (300 camarões/m<sup>3</sup>) pesando 1,55±0,1 g. Temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH e salinidade foram aferidos diariamente, enquanto NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P e alcalinidade total foram analisados semanalmente. Não houve diferença significativa nos parâmetros de qualidade da água avaliados, exceto o teor de nitrito que foi influenciado pelos níveis de proteína ( $P<0,05$ ). Após 50 dias de cultivo o peso final dos camarões foi de 7,2±0,4 g ( $P\geq 0,05$ ). A interação dos níveis protéicos x adição de probiótico influenciaram significativamente ( $P<0,05$ ) a sobrevivência (70,5-90,0%), biomassa final (1.315-2.002 g/m<sup>3</sup>) e ganho de biomassa (681-1.230 g). No cultivo intensivo do *Litopenaeus vannamei*, com a utilização de bioflocos como fonte de alimento suplementar, é possível reduzir os níveis de proteína da ração de 35 para 20%, sem comprometer o desempenho zootécnico dos camarões e a qualidade da água do cultivo.

**Palavras-chave:** flocos microbianos, proteína, sem renovação de água



34 **EFFECT OF DIFFERENT PROTEIN LEVELS ON THE PERFORMANCE**  
35 **OF *Litopenaeus vannamei* SHRIMP REARED IN BIOFLOC SYSTEM**

36  
37 **ABSTRACT**

38 This study aimed to evaluate the culture of *Litopenaeus vannamei* marine shrimp fed with  
39 different protein levels diets in heterotrophic systems with and without probiotic addition. It  
40 was adopted a completely randomized design with 4 x 2 factorial arrangement, using four  
41 dietary protein levels (200, 250, 300 e 350 g Kg<sup>-1</sup> CP), as the first factor (P20, P25, P30 and  
42 P35), and probiotic addition in the water, as the second factor (P20<sub>Pro</sub>, P25<sub>Pro</sub> P30<sub>Pro</sub> e P35<sub>Pro</sub>).  
43 For this were used 24 fiberglass tanks (800 L working volume), filled with a mixture of 300  
44 liters of seawater (30 g L<sup>-1</sup>), chlorinated and dechlorinated, and 500 liters of seawater from  
45 the before culture. Each tank was stocked with 240 juveniles (300 shrimp m<sup>-3</sup>) averaging  
46 1.55±0.1 g. Water temperature, dissolved oxygen, pH and salinity were measured daily,  
47 while NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P and alkalinity were analyzed weekly. There were no  
48 significant differences in daily parameters of water quality (temperature, dissolved oxygen,  
49 pH and salinity;  $P>0.05$ ), while the weekly parameters only nitrite was influenced by the  
50 protein levels ( $P<0.05$ ). After 50 days of culture the average shrimp final weight was 7.2±0.4  
51 g ( $P\geq 0.05$ ). The interaction of protein levels vs. probiotic addition influenced significantly  
52 ( $P<0.05$ ) the survival (70.6 to 90.0%), final biomass (1,315-2,002 g/m<sup>3</sup>) and biomass gain (681-  
53 1,230 g). In *Litopenaeus vannamei* intensive culture with the utilization of biofloc as  
54 supplemental food it is possible to reduce the protein levels of feed from 35 to 20%, without  
55 compromising the shrimp growth performance and water quality of culture.

56  
57  
58 **Key words:** microbial flocs, protein, zero water exchange

59  
60 **INTRODUÇÃO**

61 O desafio enfrentado pelos nutricionistas na aquicultura é continuar a reduzir os custos  
62 com alimentação, melhorar a eficiência alimentar e minimizar os impactos ambientais  
63 causados pelo excesso de nutrientes dos efluentes, originados dos alimentos formulados  
64 (CHAMBERLAIN et al., 2001a; FUNGE-SMITH e BRIGGS, 1998).

65 A utilização de elevadas taxas de troca d'água em sistemas intensivos de cultivo de  
66 camarão, é uma estratégia comum para manter a qualidade da água adequada (HOPKINS et

67 al., 1993). No entanto, em sistemas aquícolas, a entrada de água é a principal via de  
68 introdução de patógenos no ambiente de cultivo (LOTZ e LIGHTNER, 1999).

69 Para minimizar a quantidade de nutrientes liberados nos ecossistemas costeiros e as  
70 perdas de produção causadas por doenças, o cultivo de camarão sob limitada ou zero troca  
71 de água tem dado um passo importante nessa direção (SAMOCHA et al., 2007). Esse sistema  
72 combina o tratamento da água com a reciclagem do alimento não consumido, através de  
73 uma biota aeróbica e heterotrófica (AVNIMELECH et al., 1994; BURFORD et al., 2003a;  
74 WASIELESKY et al., 2006a).

75 O crescimento da comunidade bacteriana heterotrófica é estimulado através da adição  
76 de uma fonte de carbono orgânico (melaço de cana-de-açúcar) (AVNIMELECH 1999;  
77 BURFORD et al., 2003b). Esses microrganismos melhoram a qualidade da água e na forma de  
78 partículas floculadas promovem uma fonte de alimento para os camarões (BURFORD et al.,  
79 2004). Entretanto, a utilização da proteína microbiana depende da habilidade do animal em  
80 capturar e utilizar essa proteína (AVNIMELECH, 1999).

81 Em sistemas de cultivo com tecnologia de bioflocos (BFT), os flocos são formados  
82 durante o ciclo de produção e são compostos de uma ampla variedade de microrganismos,  
83 alimento não consumido, fezes, detritos, exoesqueletos e restos de organismos mortos, entre  
84 outros (DECAMP et al., 2002; BURFORD et al., 2003a; WASIELESKY et al., 2006b; RAY et al.,  
85 2009). Segundo MCINTOSH (2000), flocos bacterianos possuem cerca de 45% de proteína,  
86 sendo esse índice quase o dobro da proteína dos alimentos que são fornecidos aos animais no  
87 ambiente de cultivo.

88 A presença do floco microbiano rico em proteína e aminoácidos pode reduzir  
89 substancialmente o requerimento de proteína nas rações (CHAMBERLAIN et al., 2001b),  
90 consequentemente, ocasionando uma diminuição nos custos com alimentação, que  
91 representam mais de 50% dos custos operacionais nos sistemas aquícolas (TAN e DOMINY,  
92 1997; MARTINEZ-CORDOVA et al., 2003; SHIAU e BAI, 2009).

93 Em vários trabalhos são relatadas a criação de *L. vannamei* utilizando baixos níveis de  
94 proteína bruta na ração e, a água de cultivo com uma alta produtividade primária e  
95 secundária, reduzindo as taxas de troca d'água, visto que o alimento natural pode  
96 complementar uma dieta de baixo valor protéico (MCINTOSH, 2000; BURFORD et al., 2004;  
97 HARI et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006a; BALLESTER et al., 2010).

98 A utilização de alimentos com baixos teores de proteína são parte da aquicultura  
99 responsável, considerando que os efluentes da aquicultura teriam menos poluentes,

100 diminuindo os riscos de eutrofização em áreas costeiras adjacentes (MARTINEZ-CORDOVA  
101 et al., 2003), além de contribuir para a redução dos custos com alimentação. Dessa forma, o  
102 presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho cultivo do camarão *Litopenaeus*  
103 *vannamei* alimentado contendo diferentes níveis protéicos em sistema de cultivo heterotrófico  
104 com a utilização de probiótico na água.

105

## 106 MATERIAL E MÉTODOS

### 107 *Local e condições experimentais*

108 O trabalho experimental foi realizado na Estação de Aquicultura da Universidade  
109 Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil, e foi desenvolvido utilizando-se  
110 vinte e quatro tanques circulares de fibra de vidro, localizados em uma área externa,  
111 abastecidos com 800 L de água salgada (30 g L<sup>-1</sup>), aerados individualmente com quatro  
112 pedras porosas de ar (Ø 1"), mantidos por um compressor radial 2 CV (CR 5, Ibram Ltda, SP,  
113 Brasil).

114

### 115 *Desenho experimental*

116 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com um arranjo fatorial 4 ×  
117 2, com quatro níveis de proteína na dieta (200, 250, 300 e 350 g kg<sup>-1</sup> PB), como primeiro fator,  
118 e a adição de probiótico, como segundo fator. Cada tratamento foi composto por três  
119 repetições num total de vinte e quatro unidades experimentais. Os tratamentos sem adição  
120 de probiótico foram denominados de 'P20', 'P25', 'P30' e 'P35', enquanto os tratamentos com  
121 probiótico na água foram referidos como 'P20<sub>Pro</sub>', 'P25<sub>Pro</sub>', 'P30<sub>Pro</sub>' e 'P35<sub>Pro</sub>'.

122

### 123 *Abastecimento e manejo dos tanques*

124 A água utilizada no experimento foi proveniente do Laboratório de Maricultura  
125 Netuno, onde recebeu filtração prévia. Na Estação de Aquicultura, a água foi clorada a 10  
126 ppm de cloro, com hipoclorito de sódio e, declorada por aeração. Os tanques foram  
127 abastecidos com uma mistura de 300 litros de água salgada limpa (30 g L<sup>-1</sup>) e, 500 litros de  
128 água salgada proveniente de um cultivo anterior (30 g L<sup>-1</sup>). Após a estocagem, diariamente  
129 foi adicionado à água do cultivo melaço de cana-de-açúcar, como substrato para o  
130 desenvolvimento das bactérias e controle dos níveis de amônia. A quantidade de melaço  
131 adicionado foi calculada com base na relação C:N de 6:1, onde 6 g de carbono orgânico são  
132 necessários para imobilizar 1 g de nitrogênio amoniacal encontrado na água de cultivo,

133 conforme recomendado por AVNIMELECH (1999) e SAMOCHA et al. (2007). Nos  
134 tratamentos com adição de probiótico, foi utilizado um probiótico comercial específico para  
135 ser adicionado a água (INVE, Sanolife® PRO-W), composto por cepas liofilizadas de *Bacillus*  
136 *subtilis* e *Bacillus licheniformis*, com densidade celular de  $5 \times 10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup>. O probiótico foi  
137 adicionado diariamente nas quantidades recomendadas pelo fabricante, utilizando 0,001 g de  
138 probiótico L<sup>-1</sup> na água de cultivo. Durante o período de cultivo não houve renovação de  
139 água, apenas reposições semanais, com água doce previamente clorada, para compensar as  
140 perdas por evaporação.

141

#### 142 *Cultivo dos camarões*

143 Pós-larvas de *L. vannamei* em estágio de PL<sub>12</sub> (0,002 g) foram obtidas de uma  
144 larvicultura comercial localizada no Rio Grande do Norte e, transferidas a Estação de  
145 Aquicultura (DEPAq/UFRPE), onde foi realizado um cultivo berçário de 48 dias. Nesta fase,  
146 as pós-larvas foram estocadas numa densidade de 1500 PL m<sup>-3</sup>, alimentadas quatro vezes ao  
147 dia, com ração comercial 450 g kg<sup>-1</sup> PB (INVE, EPAC®) e náuplios de *Artemia* sp. recém  
148 eclodidos (40 náuplios PL dia<sup>-1</sup>), durante uma semana. Ao final desta fase berçário, foram  
149 produzidos juvenis de *Litopenaeus vannamei*, com peso médio de  $1,55 \pm 0,1$  g, os quais foram  
150 estocados aleatoriamente nos tanques de cultivo, numa densidade de 300 camarões m<sup>-3</sup> (240  
151 camarões tanque<sup>-1</sup>), durante um período de 50 dias de cultivo.

152 As dietas utilizadas neste estudo foram fabricadas pela IRCA Produção Animal (IRCA,  
153 PE, Brasil) contendo 200, 250, 300 e 350 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta. As rações 300 e 350 g kg<sup>-1</sup> PB,  
154 estão disponíveis comercialmente (Carcimax HS, IRCA, PE, Brasil). Uma vez por semana,  
155 uma amostra aleatória de 24 camarões de cada unidade experimental foi coletada e pesada,  
156 utilizando balança digital 0,01 g (Balança eletrônica Shimadzu®, BL 3200 H, SP, Brasil). Após  
157 a pesagem os camarões retornaram aos seus respectivos tanques de cultivo.

158 A alimentação foi fornecida quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h) em  
159 bandejas de alimentação, o que permitiu a visualização de restos de alimentação e o ajuste  
160 diário do alimento fornecido. A quantidade de alimento foi calculada com base nos dados  
161 obtidos das biometrias, considerando o crescimento de 1 g semana<sup>-1</sup>, fator de conversão  
162 alimentar de 1,5 e mortalidade estimada de 0,5% semana<sup>-1</sup>, de acordo com SAMOCHA et al.  
163 (2007).

164

165

166 *Análise da qualidade da água*

167 Durante o período experimental, temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH e  
168 salinidade foram verificados em cada tanque, duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 h), com a  
169 utilização de multiparâmetro YSI 556 MPS (YSI Incorporation, Ohio, USA). Semanalmente,  
170 foram coletadas amostras de água de cada tanque para determinação dos níveis do  
171 nitrogênio amônia (NH<sub>3</sub>-N), nitrito-N (NO<sub>2</sub>-N), nitrato-N (NO<sub>3</sub>-N), ortofosfato (PO<sub>4</sub>-P) e  
172 alcalinidade total. Previamente às análises, as amostras foram filtradas utilizando filtro  
173 analítico de 0,45 µm. Os compostos nitrogenados foram mensurados utilizando as versões  
174 dos métodos Hach TNT 830 (método salicilato), 8507 (método de diazotização) e 8539  
175 (redução de cádmio) para NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N e NO<sub>3</sub>-N, respectivamente. A concentração de  
176 ortofosfato foi mensurada usando o método PhosVer®3 8048 (ácido ascórbico). As amostras  
177 foram lidas através de espectrofotômetro digital Hach DR 2800 (Hach Company, Colorado,  
178 USA). Alcalinidade total foi determinada por titulação volumétrica (APHA, 1995). Quando  
179 os níveis de CaCO<sub>3</sub> ficaram abaixo de 100 mg L<sup>-1</sup>, foi adicionado bicarbonato de sódio para  
180 manter os níveis acima de 150 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.

181

182 *Análise estatística*

183 As variáveis de crescimento dos camarões (peso final, biomassa final, sobrevivência,  
184 taxa de crescimento específico e conversão alimentar) e os parâmetros de qualidade da água  
185 foram analisadas utilizando-se a análise de variância (ANOVA), para determinar o efeito dos  
186 níveis protéicos (200, 250, 300 e 350 g kg<sup>-1</sup>) e sua interação com adição de probiótico na água,  
187 ao nível de significância de 5%. Os valores de sobrevivência foram transformados por meio  
188 da função arcsen  $x^{0,5}$ . Os testes de normalidade e homocedasticidade foram efetuados antes  
189 das análises para verificar a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. Nos  
190 casos em que houve diferença significativa, o teste de Tukey foi aplicado para comparação  
191 das médias, ao nível de significância de 5% utilizando o software *SysEAPRO* versão 1.0  
192 (ZAR, 1996).

193

194 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

195 A temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH, salinidade, nitrogênio da amônia,  
196 nitrato, ortofosfato e alcalinidade total não foram afetados pelos níveis protéicos e nem pela  
197 adição de probiótico na água ( $P \geq 0,05$ ) (Tabela 1).

198 Durante o período de cultivo, a temperatura e salinidade variaram de 25,6 a 33,1 °C e  
 199 15,8 g L<sup>-1</sup> a 30,2 g L<sup>-1</sup>, respectivamente. A variação da temperatura e salinidade pode ser  
 200 explicada pelas condições ambientais durante o período de realização do cultivo, o qual foi  
 201 registrado um elevado índice pluviométrico, acima de 300 mm (INMET, 2011). Segundo  
 202 DAVIS et al. (2004) a espécie *L. vannamei* é encontrada em águas com salinidade variando de  
 203 1 a 40 g L<sup>-1</sup>. Entretanto se desenvolve melhor em salinidades entre 15 e 25 g L<sup>-1</sup> (BOYD, 2001).  
 204 LI et al. (2007) reportaram que o *L. vannamei* podem se adaptar a uma ampla faixa de  
 205 salinidade, mas seriam mais suscetíveis à toxicidade da amônia e gastariam mais energia para  
 206 compensar o gasto com a osmorregulação em baixa salinidade.

207 O oxigênio dissolvido apresentou uma média de 5,89 mg L<sup>-1</sup>, portanto superiores aos  
 208 níveis considerados ideais citados por BOYD e CLAY (2002), em que sistemas de cultivo  
 209 superintensivo os níveis de oxigênio devem ser mantidos acima de 4 mg L<sup>-1</sup>. Ocasionalmente,  
 210 foram registrados níveis de pH menores que 7, variando entre 6,72 a 8,84. Segundo  
 211 WASIELESKY et al. (2006b), devido a intensa respiração dos organismos, há uma tendência  
 212 natural do ambiente de cultivo apresentar pH com valores inferiores a 7. No entanto, em  
 213 sistemas de cultivo com bioflocos, níveis de pH abaixo de 7 afetam o crescimento do camarão  
 214 *L. vannamei* (WASIELESKY et al., 2006a).

215 Durante o período experimental a variação do pH pode ser atribuída aos níveis de  
 216 alcalinidade total (> 100 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), constantemente corrigidos pela adição de  
 217 bicarbonato de sódio para aumentar a capacidade de tamponamento da água.

218

219 **Tabela 1.** Efeito dos diferentes níveis de proteína e da adição de probiótico na água sobre os  
 220 parâmetros de qualidade da água durante o período experimental (média±desvio padrão).

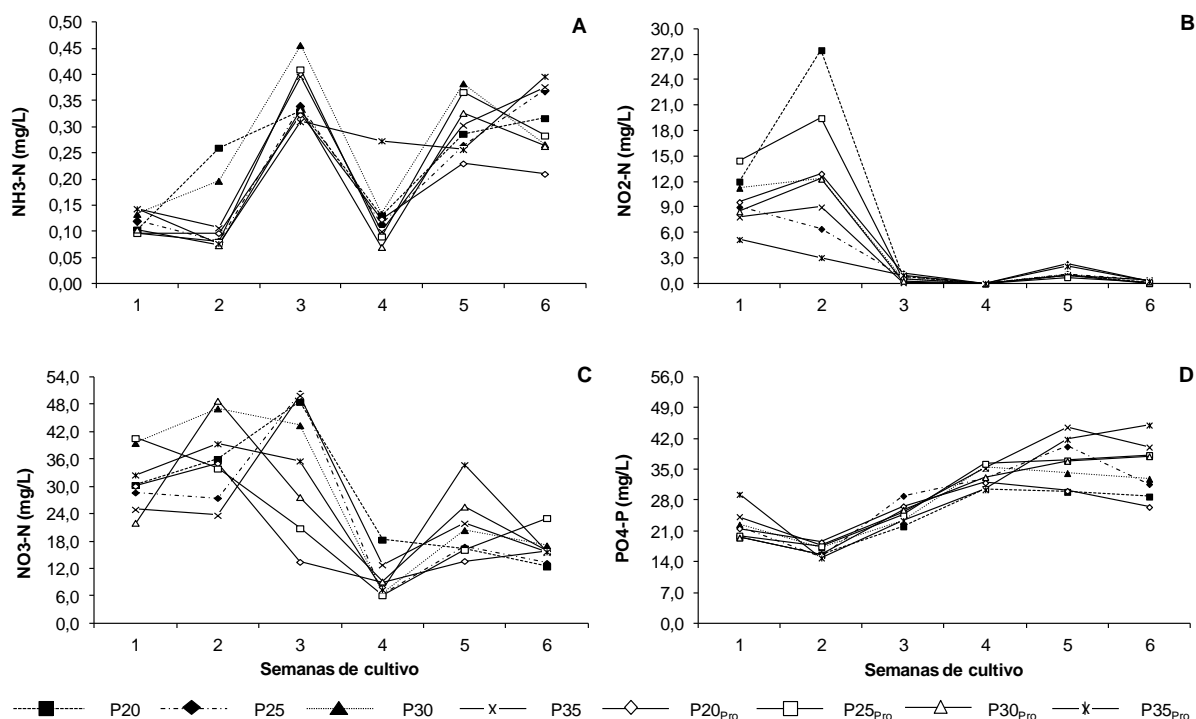
Variáveis	Níveis de proteína (g Kg <sup>-1</sup> )				Adição de Probiótico		ANOVA (valores de P)		
	20	25	30	35	Com Probiótico	Sem Probiótico	NP	P <sub>água</sub>	NP x P <sub>água</sub>
Temperatura (°C)	29,12±1,78	29,19±1,79	29,13±1,75	28,99±1,66	29,11±1,73	29,10±1,76	NS	NS	NS
Oxigênio dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	5,96±0,75	5,95±0,94	5,78±0,81	5,86±0,89	5,88±0,92	5,89±0,79	NS	NS	NS
pH	7,75±0,21	7,69±0,26	7,69±0,24	7,73±0,27	7,69±0,26	7,74±0,24	NS	NS	NS
Salinidade (g L <sup>-1</sup> )	22,50±1,70	22,51±1,94	22,48±1,85	22,52±1,68	22,68±1,84	22,33±1,73	NS	NS	NS
NH <sub>3</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	0,21±0,14	0,22±0,15	0,23±0,15	0,24±0,15	0,21±0,14	0,24±0,15	NS	NS	NS
NO <sub>2</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	5,51±8,76 <sup>b</sup>	4,42±6,93 <sup>ab</sup>	4,10±5,80 <sup>ab</sup>	2,48±3,37 <sup>a</sup>	3,99±6,41	4,29±6,73	*	NS	NS
NO <sub>3</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	24,28±15,74	20,85±13,39	25,96±16,92	26,18±15,45	23,69±16,02	24,98±14,81	NS	NS	NS
PO <sub>4</sub> -P (mg L <sup>-1</sup> )	25,12±6,78	28,68±9,10	27,72±10,21	30,98±13,28	28,38±11,24	27,88±9,15	NS	NS	NS
Alcalinidade total (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	158,9±40,6	159,1±42,3	142,4±46,2	151,0±45,9	154,8±42,2	150,8±45,7	NS	NS	NS

221

222 \*Valores apresentados como médias ± desvio padrão. NP = nível de proteína da dieta; P<sub>água</sub> = probiótico na água; NP x P<sub>água</sub> =  
 223 interação dos níveis de proteína da dieta com a adição de probiótico na água; Letras diferentes na mesma linha indicam  
 224 diferença significativa (P<0,05) entre os tratamentos pelo teste de Tukey. NS = sem diferença significativa (P≥0,05). \* P<0,05.

225

226 As concentrações do nitrogênio inorgânico dissolvido e do ortofosfato ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  
 227  $\text{NO}_3\text{-N}$  e  $\text{PO}_4\text{-P}$ ) durante o período experimental estão apresentadas na Tabela 1 e Figura 1.  
 228 Os níveis de proteína e adição de probiótico na água não tiveram efeito sobre o nitrogênio  
 229 amoniacal, nitrato e ortofosfato ( $P \geq 0,05$ ). As concentrações do  $\text{NH}_3\text{-N}$ , durante o período  
 230 experimental mantiveram-se abaixo de  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ , em todos os tratamentos ( $P \geq 0,05$ ) (Tabela  
 231 1 e Figura 1A). BURFORD et al. (2003a) demonstraram que em viveiros de camarão,  
 232 revestidos de lona e operados em alta densidade de estocagem, níveis de nitrogênio  
 233 amoniacal de  $0,56 \text{ mg L}^{-1}$  não interferiram na produção.



**Figura 1.** Concentrações médias da amônia (A), nitrito (B), nitrato (C) e ortofosfato (D) durante o cultivo do *L. vannamei* alimentado com diferentes níveis protéicos com e sem adição de probiótico.

239 O nitrito foi fortemente influenciado pelos níveis protéicos da dieta ( $P < 0,05$ ).  
 240 Entretanto, as maiores concentrações ( $27,47$  e  $19,47 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$ ) foram registradas na  
 241 segunda semana de cultivo nos tratamentos P20 e P25<sub>Pro</sub>, respectivamente (Figura 1B).  
 242 CORREIA et al. (2010) avaliando o efeito de dietas com alta ( $400 \text{ g kg}^{-1}$ ) e baixa ( $300 \text{ g kg}^{-1}$ )  
 243 proteína bruta em cultivo berçário de *L. vannamei*, reportaram que o camarão pode suportar  
 244 mais que sete dias de exposição a altas concentrações de nitrito, entre  $17,7$  e  $34 \text{ mg L}^{-1}$ , sem  
 245 efeito negativo na sobrevivência.

246 Em sistemas com troca zero de água a diminuição na taxa de decomposição dos  
247 resíduos, pelas bactérias heterotróficas, resulta no acúmulo de nitrogênio inorgânico  
248 (amônia, nitrito e nitrato) (MCINTOSH, 2000). Após a segunda semana de cultivo foi  
249 observado um decréscimo nas concentrações de  $\text{NO}_2\text{-N}$  ( $< 2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) e uma elevação dos  
250 níveis de  $\text{NO}_3\text{-N}$  ( $49,3 \text{ mg L}^{-1}$ ) a partir da terceira semana de cultivo, o que sugere o  
251 estabelecimento da comunidade de bactérias heterotróficas para realização do processo de  
252 nitrificação. Entretanto, alguns estudos registraram que a comunidade heterotrófica leva de 3  
253 a 8 semanas para se desenvolver (BROWDY et al. 2001; BURFORD et al. 2003a).

254 Os níveis de ortofosfato ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ) exibiram uma tendência de aumento com o tempo de  
255 cultivo, com níveis acima de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 1D). McINTOSH (2001) relatou que em  
256 sistemas de cultivo sem troca de água os níveis de fósforo total aumentam com o tempo e  
257 podem atingir níveis superiores a  $25 \text{ mg L}^{-1}$ . HOPKINS et al. (1993) trabalhando em viveiros  
258 com limitada troca d'água, registraram níveis de ortofosfato significativamente maiores, que  
259 os viveiros operados sem troca de água. BURFORD et al. (2003a) reportaram que em  
260 sistemas com limitada troca d'água um maior acúmulo de ortofosfato ocorre em viveiros  
261 revestidos de lona (sem sedimento) comparados a viveiros de terra, que o fósforo se liga ao  
262 sedimento. Segundo HOPKINS et al. (1993) a troca d'água pode ser a forma mais eficaz de  
263 evitar o acúmulo deste nutriente no ambiente de cultivo.

264 Os níveis de proteína da dieta e a adição de probiótico na água não influenciaram  
265 significativamente ( $P \geq 0,05$ ) no crescimento do camarão (Tabela 2). Ao final de 50 dias de  
266 cultivo os camarões apresentaram peso médio final de  $7,17 \pm 0,4 \text{ g}$ , resultando no ganho de  
267 peso médio de  $5,62 \text{ g}$ , sendo as menores médias foram correspondentes ao tratamento P20  
268 ( $6,61$  e  $5,06 \text{ g}$ , respectivamente). SAMOCHA et al. (2004) ao avaliarem o desempenho do  
269 camarão *L. vannamei* alimentados com dietas contendo diferentes níveis protéicos ( $210$  e  $310$   
270  $\text{g kg}^{-1}$ ) com o uso de probiótico, observaram uma melhora significativa no peso final dos  
271 camarões alimentados com uma dieta de  $310 \text{ g kg}^{-1}$ , e o desempenho dos camarões não foi  
272 influenciado pela adição do suplemento bacteriano.

273 A sobrevivência, o ganho de biomassa e a biomassa final foram significativamente  
274 influenciados pela interação dos níveis protéicos x adição de probiótico ( $P < 0,05$ ). A  
275 sobrevivência média registrada no cultivo foi de  $80,2 \pm 6,9\%$ . FRÓES et al. (2007), estudando a  
276 influencia dos diferentes níveis de proteína bruta da ração na sobrevivência do camarão  
277 *Farfantepenaeus paulensis*, registraram uma variação de  $81,62$  a  $93,80\%$ , similar aos  
278 encontrados no nosso estudo. GOMEZ-JIMENEZ et al. (2005) trabalhando em sistemas



279 intensivos de produção de camarão, não encontraram diferenças na sobrevivência, peso final  
 280 e ganho de peso do *L. vannamei* ao alimentarem com rações comerciais contendo diferentes  
 281 níveis de proteína bruta (250, 300, 350 ou 400 g kg<sup>-1</sup>) em um sistema de zero troca de água.  
 282 SAMOCHA et al. (2007) ao trabalharem com *L. vannamei* na engorda com limitada troca de  
 283 água, obtiveram uma maior sobrevivência utilizando dieta com maior teor de proteína bruta  
 284 (310 g kg<sup>-1</sup>).

285  
 286 **Tabela 2.** Efeito dos diferentes níveis de proteína e da adição do probiótico na água sobre o  
 287 crescimento do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado durante 50 dias, sem renovação de  
 288 água.

Variáveis	Níveis proteína (g kg <sup>-1</sup> )				Adição de Probiótico		ANOVA (Valores de P)		
	20	25	30	35	Com Probiótico	Sem Probiótico	NP	P <sub>água</sub>	NP x P <sub>água</sub>
Peso final (g)	6,61±0,56	7,24±0,68	7,34±0,64	7,50±0,78	7,06±0,77	7,29±0,66	NS	NS	NS
Ganho de peso (g)	5,06±0,56	5,69±0,68	5,79±0,65	5,96±0,77	5,51±0,77	5,74±0,66	NS	NS	NS
Ganho de biomassa (g)	833,75±358,61	1078,93±148,2	1072,6±253,4	1069,2±221,6	909,3±286,8	1117,9±193,7	NS	NS	*
Biomassa final (g m <sup>-2</sup> )	1205,8±358,4	1451,6±149,3	1445,0±252,9	1440,0±221,9	1281,2±287,8	1490,0±192,2	NS	NS	*
Sobrevivência (%)	75,55±20,52	83,54±4,65	81,67±10,57	80,00±9,60	75,21±13,79	85,17±8,29	NS	NS	*
TCE (% dia <sup>-1</sup> )	2,89±0,17	3,07±0,19	3,10±0,18	3,15±0,20	3,02±0,22	3,09±0,18	NS	NS	NS
FCA	2,71±1,85	1,79±0,36	1,94±0,51	2,10±0,26	2,35±1,32	1,92±0,43	NS	NS	NS

289  
 290 Valores apresentados como médias ± desvio padrão. NP = nível protéico; P<sub>água</sub> = probiótico na água; NP x P<sub>água</sub> = interação dos  
 291 níveis de proteína com a adição de probiótico na água; TCE = 100 x (ln Pf - ln Pi) x T<sup>-1</sup>. TCE - Taxa de crescimento específico. NS  
 292 = sem diferença significativa (P≥0,05). \* P<0,05.

293  
 294 Os camarões apresentaram crescimento contínuo durante 50 dias de cultivo, com  
 295 desenvolvimento bastante semelhante, variando de 0,71 a 0,83 g semana<sup>-1</sup> entre os  
 296 tratamentos. A variação também foi registrada na taxa de crescimento específico, de 2,89 a  
 297 3,15 % dia<sup>-1</sup> sem diferença significativa entre os tratamentos (P≥0,05). HUAI et al. (2010)  
 298 relataram que o crescimento do *L. vannamei* alimentados com uma dieta de baixa proteína e  
 299 menor concentração de farinha de peixe suplementada com aminoácidos sintéticos pode  
 300 atingir uma performance de crescimento semelhante aos alimentados com dieta de alta  
 301 proteína e alta concentração de farinha de peixe. BALLESTER et al. (2010) cultivando  
 302 *Farfantepenaeus paulensis* em sistema intensivo com floco microbiano e troca zero de água,  
 303 observaram que a dieta contendo 35% de proteína bruta proporcionou maior peso final,  
 304 ganho de peso e taxa de crescimento específico.

305 Diversos autores relataram que pode haver uma redução dos níveis de proteína na  
 306 dieta sem afetar crescimento do camarão, caso haja uma disponibilidade de alimento natural  
 307 em forma de flocos microbianos, no qual este serviria como uma importante fonte de

308 proteína disponível para o camarão (MCINTOSH, 2000; BURFORD et al., 2003a;  
309 WASIELESKY et al., 2006b).

310 Sistemas intensivos com limitada troca de água permitem um melhor controle do  
311 material floculado na coluna d'água (SAMOCHA et al., 2007). Segundo BURFORD et al.  
312 (2003a) esses flocos fornecem uma fonte suplementar de alimento para camarões. Apesar da  
313 elevada densidade de estocagem (300 camarões m<sup>-3</sup>) utilizada no presente trabalho, o FCA  
314 variou de 1,79 a 2,71 ( $P \geq 0,05$ ). O elevado FCA registrado no tratamento P20 foi reflexo da  
315 baixa sobrevivência, do ganho de biomassa e da reduzida biomassa final registrados neste  
316 tratamento. SAMOCHA et al. (2007) utilizando diferentes concentrações de melão no  
317 cultivo intensivo do *L. vannamei* registraram fator de conversão alimentar de 1,59 a 1,95  
318 inferiores ao do presente estudo. BALLESTER et al. (2010) observaram diferenças  
319 significativas, após 45 dias de cultivo, no FCA, ganho de peso e peso final do camarão  
320 *Farfantepenaeus paulensis* alimentado com dietas contendo 250 e 300 g kg<sup>-1</sup>.

321 Em estudos realizados com cultivo intensivo foi indicado que a comunidade  
322 heterotrófica pode contribuir para a manutenção das variáveis de qualidade da água  
323 (THOMPSON et al. 2002; SAMOCHA et al. 2007), como também é uma importante fonte de  
324 nutrientes para o crescimento de organismos aquáticos (BURFORD et al., 2004;  
325 WASIELESKY et al., 2006b).

326

## 327 CONCLUSÃO

328 Em cultivo intensivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, com a utilização de bioflocos  
329 como fonte de alimento suplementar, é possível reduzir os níveis de proteína da ração de 35  
330 para 20%, sem comprometer o crescimento, a conversão alimentar e a sobrevivência dos  
331 camarões. Adicionalmente, nas condições experimentais adotadas, a utilização do probiótico  
332 adicionado à água de cultivo, não teve influência no desempenho zootécnico dos camarões  
333 nem nos parâmetros de qualidade da água.

334

## 335 AGRADECIMENTOS

336 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível  
337 Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado à primeira e à segunda autora. Ao  
338 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da  
339 bolsa de produtividade a Eudes de Souza Correia. A IRCA Produção Animal, na pessoa de  
340 Leonardo Ribeiro Petribu, pela fabricação das rações utilizadas no experimento.

341 Agradecemos também a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) no âmbito do Programa  
342 Nacional de Carcinicultura (RECARCINA) pelo suporte financeiro.

### 343 REFERENCIAS

344 APHA (American Public Health Association), 1995. Standard Methods for the Examination  
345 of Water and Wastewater. 19th ed. APHA, Washington, DC, USA. 1082 pp.

346 AVNIMELECH, Y.; KOCHVA, M., DIAB, S. Development of controlled intensive  
347 aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio.  
348 *Aquaculture Bamidgeh*, v.46, n.3, p.119-131, 1994.

349 AVNIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems.  
350 *Aquaculture*, v. 176, p. 227-235, 1999.

351 BOYD, C.E., 2001. *Manejo da qualidade de água na aqüicultura e no cultivo do camarão marinho*.  
352 Tradução Josemar Rodrigues. Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC),  
353 Recife, PE, 157 pp.

354 BOYD, C.E.; CLAY, J.W. Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Superintensive Shrimp  
355 Aquaculture System. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO  
356 Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public  
357 Discussion. Published by the Consortium. 17 pp. 453, 2002.

358 BALLESTER, E.L.C., ABREU, P.C., CAVALLI, R.O., EMERENCIANO, M., DE ABREU, L. &  
359 WASIELESKY, W. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of  
360 *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs  
361 intensive system. *Aquaculture Nutrition*, v. 16, p. 163-172, 2010.

362 BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; McINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C.  
363 Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize.  
364 *Aquaculture*, v. 219, p. 393-411, 2003a.

365 BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Microbial  
366 communities affect water quality, shrimp performance at Belize Aquaculture. *The global*  
367 *Aquaculture Advocate*, p.63-65, 2003b.

368 BURFORD, M.A., SMITH D.M., TARBRETT S.J., COMAN F.E., THOMPSON P.J., BARLLAY  
369 M.C. & TOSCAS P.J. The effect of dietary protein on the growth and survival of the shrimp  
370 *Penaeus monodon* in outdoor tanks. *Aquaculture Nutrition*, v. 10, p. 15-23, 2004.

371 BROWDY, C.L., BRATVOLD, D., STOKES, A.D. & MCINTOSH, R.P. 2001. Perspectives on  
372 the application of closed shrimp culture systems. In: JORY, E.D. e BROWDY, C.L. (Eds.) *The*

- 373 *new Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*. World Aquaculture  
374 Society, p. 20-34.
- 375 CHABERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. Advantages of  
376 aerated microbial reuse systems with balanced C:N - I: Nutrient transformation and water  
377 quality benefits. *The Global Aquaculture Advocate*, p. 53-56, 2001a.
- 378 CHAMBERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R.; VELASCO, M. Advantages of  
379 aerated microbial reuse systems with balanced C:N. III: Practical Applications. *The global*  
380 *Aquaculture Advocate*, v.4, n.5, p.50-54, 2001b.
- 381 CORREIA, E.S.; SAMOCHA T.M.; WILKENFELD, J.S.; MORRIS, T.C; WEL, L. 2010 Intensive  
382 nursery of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in greenhouse-enclosed raceways  
383 using low and high protein diets under no water exchange. In: AQUACULTURE 2010. San  
384 Diego, 1-5/mar./2010. *Anais...* p225.
- 385 DAVIS, D.A., SAMOCHA, T.M., BULLIS, R.A., PATNAIK, S., BROWDY, C., STOKES, A.,  
386 ATWOOD, H. 2004 Practical diets for *Litopenaeus vannamei*, (Boone. 1931): working towards  
387 organic and/or all plant production diets. In: AVANCES EN NUTRICION ACUICOLA VII.  
388 MEMORIAS DEL VII SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICION ACUICOLA.  
389 *Anais...* Hermosillo, 16-19/nov./2004. *Anais...* p.202-214.
- 390 DECAMP, O.; CONQUEST, L.; FORSTER, I.; TACON, A.G.J. 2002. The nutrition and feeding  
391 of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: Role of  
392 eukaryotic microorganisms. In: LEE, C.S. e O'BRYEN, P. (Eds.). *Microbial approaches to aquatic*  
393 *nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*, World Aquaculture  
394 Society 2002, Baton Rouge, Louisiana USA, 2002, p.79-86.
- 395 FUNGE-SMITH, S.J.; BRIGGS, M.R.P. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds:  
396 implications for sustainability. *Aquaculture*, v.164, p.117-133, 1998.
- 397 FRÓES, C.N., CAVALLI, R.O., ABREU, M.P., WASIELESKY, W., PRENTICE-HERNÁNDEZ,  
398 C. Efeitos de dietas práticas com diferentes níveis de proteína bruta na sobrevivência e  
399 crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). *Atlântica*, v.29,  
400 n.1, p.25-34, 2007.
- 401 GOMEZ-JIMENEZ S., GONZALEZ-FELIX M.L., PEREZ-VELAZQUEZ M., TRUJILLO-  
402 VILLALBA D.A., ESQUERRA-BRAUER I.R., BARRAZA-GUARDADO R. Effect of dietary  
403 protein level on growth, survival and ammonia efflux rate of *Litopenaeus vannamei* (Boone)  
404 raised in a zero water exchange culture system. *Aquaculture Research*, v. 36, p. 834-840, 2005.

- 405 HARI, B.; MADHUSOODANA KURUP, B.; VARGHESE, J.T.; SCHRAMA, J.W.;  
406 VERDEGEM, M.C.J. Improved sustainability in extensive shrimp culture systems: control of  
407 carbon nitrogen ratio through addition of carbohydrate to the pond. *Aquaculture*, v.241,  
408 p.179-194, 2004.
- 409 HOPKINS, J.S.; HAMILTON, R.D.; SANDIFER, P.A.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.D. Effect of  
410 water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen  
411 budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.24, n.3, 1993.
- 412 HUAI M.Y., LIU Y.J., TIAN L.X., DENG S.X., XU A.L., GAO W., YANG H.J. Effect of dietary  
413 protein reduction with synthetic amino acids supplementation on growth performance,  
414 digestibility, and body composition of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.  
415 *Aquaculture*, v. 18, p. 255-269, 2010.
- 416 INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>>.  
417 Acesso em: 11 de março de 2011.
- 418 LI, E.; CHEN, L. ZENG, C.; CHEN, X.; YU, N.; LAI, Q.; QIN, J.G. Growth, body composition,  
419 respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp,  
420 *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*, v.265, 385-390, 2007.
- 421 LOTZ, J.M.; LIGHTNER, D.V. 1999. Shrimp biosecurity: pathogens and pathogen exclusion.  
422 pp. 67-74 in: R.A. Bullis and G.D. Pruder (Eds.) *Controlled and Biosecure Production Systems*.  
423 Evolution and Integration of Shrimp and Chicken Models. Proceedings of a Special Session,  
424 World Aquaculture Society. Sydney, Australia, April 27-30, 1999.
- 425 MARTINEZ-CORDOVA, L.R.; CAMPAÑA-TORRES, A.; e PROCHAS-CORNEJO, M.A.  
426 Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus*  
427 *stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosms. *Aquaculture Nutrition*, v.  
428 9, p. 155-160, 2003.
- 429 MCINTOSH, R.P. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of heterotrophic  
430 bacterial communities. *The Global Aquaculture Advocate*, v. 3, p. 52-54, 2000.
- 431 MCINTOSH, R.P. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of  
432 heterotrophic bacterial communities. *The Global Aquaculture Advocate*. v.4, p.53-58, 2001.
- 433 RAY, A.J.; SHULER, A.J.; LEFFLER, J.W.; BROWDY, C.L. 2009. Microbial ecology and  
434 management of biofloc systems. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. (Eds.). *The rising tide*,  
435 *Proceedings of session on sustainable shrimp Farming*, World Aquaculture Society 2009, Baton  
436 Rouge, Louisiana USA, 2009, p.255-266.

- 437 SAMOCHA, T., DAVIS, D.A., SAOUD, I.P., DEBAULT, K. Substitution of fish meal by co-  
438 extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp,  
439 *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, v. 231, p. 197-203. 2004.
- 440 SAMOCHA, T.M., PATNAIK, S., SPEED, M., ALI, A.-M., BURGER, J.M., ALMEIDA, R.V.,  
441 AYUB, Z., HARISANTO, M., HOROWITZ, A. & BROCK, D.L. Use of molasses as carbon  
442 source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*.  
443 *Aquacultural Engineering*, v. 36, p. 184-191, 2007.
- 444 SHIAU, S.Y. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, v. 168, p. 77-93, 1998.
- 445 SHIAU, S.Y e BAI, S. Micronutrientes in shrimp diets. In: BROWDY, C.L. e JORY, D.E. (Eds.).  
446 **The rising tide, Proceedings of session on sustainable shrimp Farming**, World Aquaculture  
447 Society 2009, Baton Rouge, Louisiana USA, 2009, p.126-132.
- 448 TAN, R.K.H.; DOMINY, W.G. Commercial pelleting of crustacean feeds. In: D'ABRAMO,  
449 LR.; CONKLIN, D.E.; e AKIYAMA, M.D. (Ed.). *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture  
450 Society, Baton Rouge, 1997, p. 520-549.
- 451 THOMPSON, F.L., ABREU, P.C. & WASIELESKY, W. Importance of biofilm for water  
452 quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, v.203, p.263-278. 2002
- 453 WASIELESKY, W. JR, ATWOOD, H., STOKES, A.; BROWDY, C.L. Effect of natural  
454 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture  
455 system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, v. 258, p. 396-403, 2006a.
- 456 WASIELESKY, W.; EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E.; SOARES, R.; CAVALLI, R.;  
457 ABREU, P.C. Cultivos em meios com flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido.  
458 *Panorama da Aquicultura*, v.16, n.96, p.14-23, 2006b.
- 459 ZAR, J.H., 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 622 pp.

## 5. ANEXO

O **Boletim do Instituto de Pesca**, ISSN 0046-9939 (impresso) e ISSN 1678-2305 (online), 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 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.**

Tipos de publicação

### **Artigo Científico**

Trabalho resultante de pesquisa científica, **apresentando dados originais**, obtidos por meio de experimentação e/ou teoria, baseada em métodos consagrados e com planejamento estatístico adequado e discussão criteriosa, com base científica sólida.

### **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.

### **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 também 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, 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: 05001-970 - São Paulo – SP - Brasil

Tel.: (11) 3871-7535

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

O trabalho **também** deverá ser enviado, devidamente identificado, **via e-mail**, para: [ceip@pesca.sp.gov.br](mailto: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 é 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 manuscrito 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 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), Endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e 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, Conclusão(ões), Agradecimentos e Referências devem ser alinhados à esquerda e grafados em letras maiúsculas e em negrito.

### **TÍTULO**

Deve ser claro e conciso, 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, na primeira página, indicada com asterisco, também apostro ao final do título. Recomenda-se não colocar nome de descritor de espécie biológica, a não ser que seja imprescindível. **Evitar títulos longos.**

### **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 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, e **quatro (4)**, no caso de Nota Científica e Relato de Caso. 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**

Obrigatório em qualquer tipo de trabalho. 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) para **Artigos Científicos** e **150** (cento e cinquenta) para **Notas Científicas e Relatos de Caso**.

- **palavras-chave**: no máximo seis (6) e mínimo de três (3), redigidas em letras minúsculas e separadas por ponto e vírgula. **Não devem repetir palavras que constem do Título.**

### **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. 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**

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 pela legenda (autoexplicativa); 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. As **Tabelas devem ser enviadas em word** (não transformá-las em “Figuras”).

**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.

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. 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.

## **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 (ou Resultados e Discussão), Agradecimentos (opcional) e Referências.

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 nome 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.

**Trabalhos de conclusão de curso (TCC) ou monografias não serão aceitos como referências.**

**Dissertações, teses e resumos devem ser evitados como referências. Se for imprescindível sua citação, indicar a URL (endereço na Internet).**

## **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 trabalho que está sendo **submetido** (ou seja o SEU trabalho) 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** (ou seja, o SEU trabalho) 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, 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. 113p. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, APTA). Disponível em: <[http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes\\_pg.php](http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes_pg.php)> Acesso em: 22 ago. 2009.

**c) Livro**

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

ENGLE, R.F. and 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. and 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) 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.

NINHAUS-SILVEIRA; FORESTI; TABATA; RIGOLINO; VERÍSSIMO-SILVEIRA 2002 Cryopreservation of rainbow trout semen: diluent, straw and the vapor column. B. Inst. Pesca, São Paulo, 28(2): 135-139. Disponível em: <[http://www.pesca.sp.gov.br/boletins\\_online.php](http://www.pesca.sp.gov.br/boletins_online.php)> Acesso em: 21 set. 2009.

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 m<sup>2</sup>; 100 peixes m<sup>-1</sup>; 20 t ha<sup>-1</sup>.

### **3. 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 (relato de caso) ou 10 páginas (nota científica), incluindo Tabelas e Figuras e Referências, e se as linhas 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.

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). 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 assinados pelos autores (**preferencialmente**) ou pelo autor responsável.