

FREDDY VOGLEY DE CARVALHO

**BERÇÁRIO EXPERIMENTAL DE CAMARÕES MARINHOS
EM SISTEMA HETEROTRÓFICO COM USO DE PROBIÓTICO**

**RECIFE
2010**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

BERÇÁRIO EXPERIMENTAL DE CAMARÕES MARINHOS
EM SISTEMA HETEROTRÓFICO COM USO DE PROBIÓTICO

Freddy Vogeley de Carvalho

Orientador: Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto

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

RECIFE
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**Berçário Experimental de Camarões Marinhos
em Sistema Heterotrófico com Uso de Probiótico**

Freddy Vogeley de Carvalho

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura** e aprovada em __/__/____ pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, em sua forma final.

Prof^o. Dr. Paulo de Paula Mendes
Coordenador do Programa

Prof^o. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto - Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^o. Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester - Membro externo
Fundação Universidade Federal do Rio Grande

Prof^o. Dr. Eudes de Souza Correia - Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^o. Alfredo Olivera Gálvez – Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a Roberta Borda Soares – Suplente – Membro interno (Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

O autor deste trabalho gostaria de agradecer a DEUS, por conceder saúde e força para a realização de mais esta conquista;

Aos seus PAIS, por proporcionarem o estudo necessário ao seu desenvolvimento intelectual;

A sua ESPOSA por toda cumplicidade, companheirismo e incentivo ao Mestrado;

Ao Prof^o. Dr. Alfredo Olivera Gálvez, pelo acolhimento no retorno à vida acadêmica;

Ao Prof^o. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto, pela orientação indispensável;

A Prof^a. Dr^a. Roberta Borda Soares, pela colaboração no desenvolvimento dos estudos;

Aos graduandos em Engenharia de Pesca que participaram dos experimentos;

Aos amigos, pela força durante os momentos de dificuldade;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pelos conhecimentos transferidos durante o curso;

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pela oportunidade de qualificação proporcionada;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Mestrado;

Aos membros da banca de avaliação desta Dissertação, pelas contribuições realizadas.

RESUMO

O presente estudo avaliou, em dois experimentos, o berçário de camarões marinhos em sistema heterotrófico com o uso de probiótico. O primeiro experimento comparou o desempenho zootécnico do *Litopenaeus vannamei* (0,024g) e do *Farfantepenaeus subtilis* (0,034g) cultivados durante 52 dias, ambos na densidade inicial de 222 camarões/m². O segundo experimento avaliou o desempenho zootécnico do *L. vannamei* (0,036g) cultivado durante 30 dias, na densidade inicial de 265 camarões/m², com e sem a adição de bactérias probióticas (*Bacillus* spp.) na água. Em ambos os experimentos, os animais foram estocados em tanques tipo “raceway” (0,9m² e 300L), alimentados com ração comercial (35% proteína bruta) e o ambiente heterotrófico induzido através da adição de fertilizante orgânico (melaço) para o ajuste da relação Carbono:Nitrogênio (20:1). Nos dois experimentos, as variáveis físicas e químicas de qualidade da água não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. No primeiro experimento houve diferença significativa no desempenho zootécnico entre as espécies, com maior crescimento (0,31g/semana), maior peso médio final (2,31g) e melhor fator de conversão alimentar (0,70) para o *L. vannamei*, quando comparado ao *F. subtilis* que apresentou crescimento de 0,12g/semana, peso médio final de 0,88g e fator de conversão alimentar de 1,09. Entretanto, o *F. subtilis* obteve maior sobrevivência (83,50%) que o *L. vannamei* (63,25%). Apesar do melhor desempenho zootécnico geral observado para o *L. vannamei*, os resultados indicam potencial de cultivo para o *F. subtilis* em sistema heterotrófico. No segundo experimento, o desempenho zootécnico não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Também não foram observadas diferenças significativas nos resultados das análises bromatológicas. Já nas análises bacteriológicas, foram constatadas reduções significativas das concentrações de *Vibrio* spp. nos camarões do tratamento com a adição de probiótico. Os resultados indicam a manutenção de boa qualidade do ambiente de cultivo durante o berçário experimental de camarões marinhos em sistema heterotrófico.

ABSTRACT

The present study assessed in two experiments, the nursery of marine shrimps in heterotrophic system with the use of probiotics. The first experiment compared the growth performance of *Litopenaeus vannamei* (0.024g) and *Farfantepenaeus subtilis* (0.034g) cultured for 52 days, both at an initial density of 222 shrimp/m². The second experiment evaluated the growth performance of *L. vannamei* (0.036g) grown for 30 days at an initial density of 265 shrimp/m², with and without the addition of probiotic bacteria (*Bacillus* spp.) overboard. In both experiments, the animals were stored in tanks like "raceway" (0.9m² and 300L), and fed commercial feed (35% crude protein) and heterotrophic environment induced by the addition of organic fertilizer (molasses) to adjust the relationship Carbon:Nitrogen (20:1). In both experiments, the physical and chemical parameters of water quality showed no significant differences between treatments. In the first experiment was no significant difference in growth performance between the species with the highest growth (0.31g/week), higher mean final weight (2.31g) and better-feed conversion factor (0.70) for *L. vannamei*, compared to *F. subtilis* with a growth of 0.12g/week, final average weight of 0.88g and feed conversion factor of 1.09. However, *F. subtilis* had a higher survival (83.50%) than the *L. vannamei* (63.25%). Despite the best performance generally observed for *L. vannamei*, the results indicate potential crop for *F. subtilis* in heterotrophic system. In the second experiment, the growth performance showed no significant differences between treatments. There were also no significant differences in the results of chemical analyzes. Already in the bacteriological tests, significant reductions in concentrations of *Vibrio* spp. shrimps of treatment with the addition of probiotic. The results indicate the maintenance of good quality growth environment during the experimental nursery of marine shrimps in heterotrophic system.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	08
Lista de Figuras.....	09
1. Introdução.....	10
2. Objetivos.....	11
Capítulo I.....	11
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivos Específicos.....	11
Capítulo II.....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos.....	12
3. Revisão de Literatura.....	13
4. Artigos Científicos.....	18
4.1 Artigo Científico 1: Análise Comparativa do Berçário de <i>Litopenaeus vannamei</i> e <i>Farfantepenaeus subtilis</i> em Sistema Heterotrófico.....	18
4.2 Artigo Científico 2: Uso de Probiótico no Berçário de <i>Litopenaeus vannamei</i> em Sistema Heterotrófico.....	35
5. Referências.....	56
Anexo.....	65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1 - Média (\pm DP) das variáveis físico-químicas de qualidade da água, ao longo do tempo, no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.....31
- Tabela 2 – Média (\pm DP) dos índices de desempenho zootécnico, no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.....32

CAPÍTULO II

- Tabela 1 – Média (\pm DP) das variáveis físicas e químicas da qualidade de água, ao longo de 30 dias de berçário do *L. vannamei* em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.....52
- Tabela 2 – Média (\pm DP) da concentração de *Vibrio* spp. na água de cultivo e no camarão *L. vannamei*, ao longo de 30 dias de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.....53
- Tabela 3 – Média (\pm DP) da composição centesimal do biofilme microbiano e do camarão *L. vannamei*, após 30 dias de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.....54
- Tabela 4 – Média (\pm DP) dos índices de desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei*, após 30 dias de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.....55

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - (a) Variação dos valores médios de pH (formas geométricas vazadas) e da concentração média de amônia não ionizada (NH_3) (formas geométricas não vazadas), (b) concentração média de nitrato (NO_3), (c) concentração média de nitrito (NO_2), e (d) concentração média de nitrogênio amoniacal total (NAT), ao longo do tempo, no berçário de *L. vannamei* (V) e *F. subtilis* (S) em sistema heterotrófico.....33

1 - INTRODUÇÃO

O cultivo de camarões marinhos apresentou significativo crescimento nas últimas décadas, tornando-se um importante agronegócio a nível mundial. No entanto, a rápida expansão desta cadeia produtiva não foi devidamente acompanhada por manejos que reduzissem os impactos ambientais gerados por sistemas autotróficos tradicionais (SAMOCHA et al., 2007). Efluentes provenientes deste tipo de cultivo são responsabilizados por degradações em ecossistemas e por disseminação de doenças em camarões. Tal situação demanda tecnologias comprometidas com as boas práticas de manejo e melhoria da qualidade de água dos cultivos (HOROWITZ e HOROWITZ, 2001, 2002, 2003).

A manipulação de bactérias heterotróficas naturalmente presentes nos ambientes aquáticos desponta como promissora tecnologia aplicada à sustentabilidade em cultivo de camarões. Estas bactérias são capazes de assimilar compostos nitrogenados, transformando-os em proteína bacteriana através de estímulos obtidos pela adição de fontes extras de carbono orgânico (Ex: melação da cana-de-açúcar) em níveis adequados para manter a relação C:N desejada (>10:1) (McINTOSH et al., 2000; BRATVOLD e BROWDY, 2001). As bactérias utilizam a energia disponibilizada pelo carbono extra e associam-se aos detritos orgânicos, partículas inorgânicas, microalgas, protozoários e metazoários, formando agregados microbianos (bioflocos) que podem contribuir substancialmente na nutrição de camarões cultivados, reduzindo as exigências por proteínas exógenas aos sistemas sem renovação de água (AVNIMELECH, 1999; BURFORD et al., 2003, 2004; BALCÁZAR et al., 2006).

Sistemas heterotróficos de cultivo vêm sendo desenvolvidos a nível mundial, juntamente com a aplicação de agentes probióticos que aumentam a capacidade nutricional dos flocos, proporcionando melhor resposta imunológica dos camarões submetidos a esse tipo de suplementação (LIN et al., 2004; WANG, 2007). O cultivo de camarões marinhos em sistema heterotrófico vem sendo analisado como alternativa biotecnológica para elevar as produções.

O desenvolvimento de novas tecnologias para o cultivo de espécies nativas também representa um promissor campo de estudos. No litoral do Brasil, camarões do gênero *Farfantepenaeus*, como o *F. subtilis*, ocorrem naturalmente (D'INCAO, 1991). Esta espécie tem apresentado bons índices de crescimento em experimentos preliminares realizados em viveiros tradicionais, principalmente quando há abundância de alimento natural (NUNES et al., 1997). Porém, apresentam altas taxas de conversão alimentar, o que representa desvantagem em comparação ao *Litopenaeus vannamei* (NUNES e SANDOVAL, 1997; PEIXOTO et al., 2003). Neste contexto, acredita-se que o desempenho zootécnico de alguns camarões nativos da costa brasileira possa ser melhorado com sistemas heterotróficos, onde há a possibilidade do consumo dos flocos bacterianos nutricionalmente enriquecidos com probióticos. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo realizar estudos sobre a fase berçário de camarões marinhos realizada em sistema heterotrófico, e sobre o uso de probiótico neste tipo de sistema.

2 – OBJETIVOS

CAPÍTULO I

2.1 - OBJETIVO GERAL

Realizar estudos comparativos do berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.

2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a qualidade da água no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico;

Determinar o volume de flocos formados no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico;

Avaliar o desempenho zootécnico no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.

CAPÍTULO II

2.1 - OBJETIVO GERAL

Realizar estudos sobre o uso de probiótico no berçário de *L. vannamei* em sistema heterotrófico.

2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar efeitos do uso de probiótico na qualidade de água no berçário de *L. vannamei* em sistema heterotrófico;

Analisar efeitos do uso de probiótico na concentração de *Vibrio* spp. no berçário de *L. vannamei* em sistema heterotrófico;

Determinar a composição centesimal do biofilme e dos camarões no berçário de *L. vannamei* em sistema heterotrófico, com e sem o uso de probiótico;

Avaliar o desempenho zootécnico no berçário de *L. vannamei* em sistema heterotrófico, com e sem adição de probiótico.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

A rápida expansão da carcinicultura mundial e os impactos promovidos pelo aporte de nutrientes inorgânicos, provenientes de efluentes em fazendas de camarão com cultivo intensivo, tornaram-se uma ameaça ao meio ambiente (COWEY e CHO, 1991). Da mesma forma, problemas relacionados com a propagação de doenças vêm gerando críticas de algumas organizações não governamentais (HOROWITZ e HOROWITZ, 2001). Segundo Samocha et al. (2007), o surto de doenças virais e bacterianas em fazendas de camarão tem resultado em severas perdas de produção em todo o mundo.

O sistema de cultivo tradicional em meio autotrófico tem sido responsabilizado pela deterioração dos ecossistemas costeiros e por grandes perdas econômicas, como resultado das doenças decorrentes de sua descarga poluente (SAMOCHA et al., 2007). Bactérias são comuns na água do mar e podem se tornar patógenos oportunistas, tirando vantagens de mudanças ecológicas da água que é utilizada na aquicultura (SKJERMO e VADSTEIN, 1999).

No Brasil, a carcinicultura é baseada na espécie *L. vannamei*, que atingiu o seu recorde de produção em 2003, com 90 mil toneladas. A partir de 2004 a atividade vem enfrentando diversos problemas com o surgimento de enfermidades, flutuação cambial e adaptação a novos mercados, que juntos reduziram em aproximadamente 30% os valores produzidos entre 2003 e 2006. De acordo com o último censo divulgado, o país produziu 63.134 toneladas de camarão em 2005 (FAO, 2007). Segundo a Agência de Exportações e Investimentos – APEX (2007), a Europa foi o destino de 90,59% das exportações brasileiras de camarão em 2005, uma vez que devido às barreiras econômicas impostas pelos Estados Unidos, o acesso ao mercado norte-americano foi limitado.

Segundo Maia e Nunes (2003), além destas barreiras econômicas, a queda no desempenho de cultivo do *L. vannamei*, ocorreu em razão da incidência de doenças que causam mortalidades, aumento do fator de conversão alimentar e do período do ciclo de

engorda. Seguindo a tendência mundial, essas questões criaram uma larga demanda por sistemas de cultivo mais produtivos, eficientes e sustentáveis com baixo impacto ambiental e livre de doenças (HOROWITZ e HOROWITZ, 2001, 2002, 2003).

Os cultivos superintensivos de camarões sem renovação de água, através de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica, vêm surgindo como um novo paradigma para uma aquicultura responsável e ambientalmente correta. A aplicação destes sistemas de cultivo pode reduzir o risco de introdução e disseminação de doenças, além de incrementar a dieta dos animais através do consumo dos agregados bacterianos que se formam nos viveiros (McINTOSH et al., 2000; BRATVOLD e BROWDY, 2001). Browdy et al. (2001) relatam as vantagens da aplicação destes sistemas inovadores, além de incrementos significativos na produção.

A presença de substratos artificiais reduz os efeitos negativos das altas densidades de estocagem, contribuindo para um melhor desempenho de *L. vannamei* criados em sistemas de cultivo intensivo (BRATVOLD e BROWDY, 2001). O uso de substratos artificiais melhorou o crescimento e a sobrevivência de *F. paulensis* sob condições de cultivo, uma vez que o biofilme formado sobre os substratos contém microrganismos pertencentes à dieta natural de camarões peneídeos, sendo fonte adicional de nutrição, mesmo com a oferta de uma dieta artificial de alta qualidade (BALLESTER et al., 2007).

A adição de fontes extras de carbono (Ex: melação) e o adequado dimensionamento da aeração em sistemas heterotróficos de cultivo, se promove o crescimento da comunidade bacteriana. As bactérias utilizam o nitrogênio em excesso presente na água, vindo das rações, excreção, etc., para a síntese de suas próprias proteínas. Deste modo, as bactérias degradam o excesso de matéria orgânica, possibilitando a realização de sucessivos ciclos de produção de camarões sem a necessidade de renovação da água de cultivo (AVNIMELECH, 1999; 2002). Devido ao aumento da população bacteriana ocorre a formação de macro agregados, ou “flocos”, constituídos principalmente de bactérias, microalgas, partículas orgânicas e

inorgânicas, protozoários e outros microorganismos (BURFORD et al., 2003, 2004; BALCÁZAR et al., 2006).

Uma vez formados, os flocos servem de suplemento alimentar aos animais, o que pode permitir a utilização de dietas com menores teores de proteína bruta, a qual seria suplementada pela produtividade natural, acarretando benefícios econômicos e ambientais (MOSS, 2002; BROWDY et al., 2001; SAMOCHA, 2004). Além de proteína (aminoácidos), os agregados microbianos contêm uma concentração significativa de macro (cálcio, fósforo, potássio e magnésio) e micro-nutrientes (cobre, ferro, manganês e zinco), assim como ácidos graxos (MOSS et al., 2006).

Devido a estas contribuições nutricionais e com a finalidade de minimizar os riscos de acumulação de compostos metabólicos nitrogenados, em sistemas heterotróficos de cultivo, podem ser utilizados alimentos com baixo conteúdo de proteínas sem comprometer o incremento de peso semanal do camarão. O incremento na produtividade natural significa menores custos na produção de camarões, uma vez que se minimiza o uso de farinha de peixe na composição do alimento (WASIELESKY et al., 2006). Alguns estudos relacionaram o incremento do crescimento de camarões aos benefícios nutritivos das bactérias heterotróficas, tais como a produção de vitaminas, a disponibilidade dos minerais e dos elementos traço, assim como a produção de enzimas digestivas importantes (ZIAEI-NEJAD et al., 2006).

A utilização de agregados microbianos que estão presentes nos cultivos possibilita a troca zero ou mínima de água como forma de se alcançar à máxima biossegurança e minimizar os efeitos ambientais adversos da carcinicultura (AVNIMELECH, 2002). Trocas limitadas de água proporcionam aos sistemas de cultivo a redução ou a eliminação de infecções microbianas na água de cultivo, reduzem a carga de nutrientes e a transferência de patógenos para o ambiente, mantendo uma boa qualidade da água dos viveiros de camarões (HOROWITZ e HOROWITZ, 2002). As trocas zero ou mínimas de água são eficientes porque é diminuído o efeito de diluição das trocas de água, fazendo com que as comunidades

de microorganismos sejam mantidas (HOPKINS et al., 1993). Wasielesky et al. 2006 constataram que a presença de comunidades controladas de bactérias heterotróficas pode melhorar a qualidade de água, aumentando a sobrevivência, o peso médio final e o crescimento semanal, reduzindo o consumo de ração e o fator de conversão alimentar dos camarões. Segundo Vita et al. (2008), a composição nutricional do floco microbiano pode ser incrementada pela utilização de bactérias probióticas, apresentando maiores níveis de proteína bruta e extrato etéreo comparado ao tratamento controle, sem adição de probióticos na água de cultivo, num sistema heterotrófico experimental.

O uso de probióticos no berçário e engorda de camarões em sistema heterotrófico, pode ser feito através da fermentação de leveduras, em combinação com melão ou por adição de substratos micro-porosos (SANCHES e ZAPATA, 2002). Probióticos também podem ser adicionados na composição de rações para a alimentação de camarões (SANCHES e ZAPATA, 2002; OCHOA-SOLANO e OLMOS-SOTO, 2006). Ziaei-Nejad et al. (2006) comprovaram a presença de *Bacillus* spp no trato intestinal de *Fenneropenaeus indicus* submetidos a tratamento com probiótico contendo estas bactérias. Segundo Bomba et al. (2002), os probióticos influenciam processos digestivos pelo enriquecimento da população de microrganismos benéficos, atividade de enzimas microbianas, melhor digestibilidade e utilização do alimento. Wang (2007) observou maior crescimento em juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas suplementadas com probiótico, atribuindo este fato ao aumento da atividade enzimática, que proporciona melhor eficiência no aproveitamento do alimento. Da mesma forma, Lin et al. (2004) observaram que com a utilização de probiótico, os coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes como proteína, aminoácidos e fósforo foram melhorados em *L. vannamei*.

O ajuste de novas tecnologias como os sistemas heterotróficos de cultivo para camarões marinhos representa um promissor campo de estudos, inclusive para as espécies nativas do Brasil que apresentem potencial de cultivo. Apesar da importância sócio-

econômica que adquiriu a carcinicultura no país, a atividade ainda permanece concentrada exclusivamente no cultivo da espécie exótica *L. vannamei*. Espécies nativas apresentam melhor tolerância às condições locais, larvas mais resistentes, disponibilidade de reprodutores na região costeira e melhor aceitação no mercado local e internacional (SANDIFER et al., 1993).

Os camarões do gênero *Farfantepenaeus* (*F. brasiliensis*, *F. paulensis* e *F. subtilis*) ocorrem ao longo de todo o litoral brasileiro. O *F. brasiliensis* pode ser encontrado de Cape Hatteras (Carolina do Norte, USA) até o Rio Grande do Sul (Sul do Brasil), apesar de sua maior abundância em Cabo Frio (RJ), Santos (SP) e Cananéia (SP) (ZENGER Jr. e AGNES, 1977). O *F. paulensis* ocorre do nordeste do Brasil (Ilhéus, BA) até o nordeste da Argentina (Mar Del Plata), passando parte do seu ciclo de vida em regiões estuarinas, onde juvenis encontram condições adequadas para seu crescimento (D'INCAO, 1991). A espécie *F. subtilis* se distribui entre o litoral norte de Cuba e o litoral de Cabo Frio (RJ), destacando-se em pesquisa já realizadas, como a mais adequada para o cultivo no litoral nordeste do Brasil, por obter bons índices de crescimento em estudos preliminares realizados em viveiros tradicionais (NUNES et al., 1997).

Camarões do gênero *Farfantepenaeus* tendem a apresentar altas taxas de conversão alimentar, o que representa desvantagem em comparação ao cultivo do *L. vannamei* (NUNES e SANDOVAL, 1997; PEIXOTO et. al., 2003). Estudos mais recentes relatam bons resultados de sobrevivência e crescimento para o *F. paulensis* cultivado em sistema heterotrófico (EMERENCIANO et al., 2007). Neste contexto, acredita-se que o desempenho zootécnico do *F. subtilis* possa ser melhorado com a utilização de sistemas heterotróficos, onde há a possibilidade do consumo de flocos bacterianos nutricionalmente enriquecidos. Devido à inexistência de informações sobre o berçário do *F. subtilis* em sistemas heterotróficos, são necessários estudos para determinar seu potencial com esta tecnologia.

4 - ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 - ARTIGO CIENTÍFICO 1

Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico Ciência Rural.

ANÁLISE COMPARATIVA DO BERÇÁRIO DE *Litopenaeus vannamei* E
Farfantepenaeus subtilis EM SISTEMA HETEROTRÓFICO

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE *Litopenaeus vannamei* AND
Farfantepenaeus subtilis NURSERY IN HETEROTROPHIC SYSTEM

* Freddy Vogeley, Egidio Alves, Joana Vogeley,
Leônidas Oliveira, Roberta Soares, Silvio Peixoto

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Laboratório de Maricultura Sustentável

Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois irmãos, Recife, PE

* freddyvog@hotmail.com

RESUMO

No presente estudo foi comparado o desempenho zootécnico de *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus subtilis* em berçário de sistema heterotrófico. O desenho experimental foi constituído por dois tratamentos (*L. vannamei* e *F. subtilis*), com quatro repetições. O cultivo foi realizado durante 52 dias em tanques tipo “raceway” (0,9m² e 300L), com densidade inicial de estocagem de 222 camarões/m² e peso inicial de 0,024g e 0,034g para *L. vannamei* e *F. subtilis*, respectivamente. Os animais foram alimentados com ração comercial (35% proteína bruta). A formação do ambiente heterotrófico foi induzida através da adição de fertilizante orgânico (melaço) para ajuste da relação Carbono:Nitrogênio (20:1). As variáveis físicas e químicas de qualidade da água não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. A avaliação do desempenho zootécnico apresentou diferenças significativas entre as espécies, com maior crescimento (0,31g/semana), maior peso médio final (2,31g) e melhor fator de conversão alimentar (0,70) para o *L. vannamei*, quando comparado ao *F. subtilis* que apresentou crescimento de 0,12g/semana, peso médio final de 0,88g e fator de conversão alimentar de 1,09. Entretanto, o *F. subtilis* obteve maior sobrevivência (83,50%) que o *L. vannamei* (63,25%). Apesar do melhor desempenho zootécnico obtido pelo *L. vannamei*, os resultados indicam potencial para o berçário do *F. subtilis* em sistemas heterotróficos.

Palavras chave: sistema heterotrófico; flocos microbianos; qualidade de água.

ABSTRACT

In the present study compared the growth performance of *Litopenaeus vannamei* and *Farfantepenaeus subtilis* in nursery heterotrophic system. The experimental design consisted of two treatments (*L. vannamei* and *F. subtilis*) with four replications. The cultivation was carried out during 52 days in tanks like "raceway" (0.9m² and 300L), with initial stocking density of 222 shrimp/m² and initial weight of 0.024g and 0.034g for *L. vannamei* and *F. subtilis*. The animals were fed a commercial ration (35% crude protein). The formation of heterotrophic environment was induced by adding organic fertilizer (molasses) to adjust the relationship Carbon:Nitrogen (20:1). The physical and chemical parameters of water quality showed no significant differences between treatments. The assessment of growth performance showed significant differences between the species with the highest growth (0.31g/week), higher mean final weight (2.31g) and better-feed conversion factor (0.70) for *L. vannamei*, compared to *F. subtilis* with a growth of 0.12g/week, final average weight of 0.88g and feed conversion factor of 1.09. However, *F. subtilis* had a higher survival (83.50%) than the *L. vannamei* (63.25%). Despite the best performance obtained by *L. vannamei*, the results indicate the potential for nursery *F. subtilis* in heterotrophic systems.

Key words: heterotrophic system; microbial flocs; water quality.

INTRODUÇÃO

O rápido crescimento e expansão da carcinicultura fizeram com que os produtores de vários países enfrentassem problemas causados por quebras da produção (SAMOCHA et al. 2007). O manejo inadequado das unidades de produção e a falta de comprometimento com as boas práticas de cultivo proporcionaram maior susceptibilidade a enfermidades causadas por vírus e bactérias (HOROWITZ e HOROWITZ, 2001). As conseqüências epidemiológicas deste problema iniciaram a exploração de alternativas para melhorar a qualidade de água e a produtividade nos cultivos de camarão, sendo o sistema heterotrófico de cultivo uma das tecnologias mais promissoras (WASIELESKY, 2006; CRAB et al., 2007; EMERENCIANO et al., 2007).

O sistema heterotrófico baseia-se na manipulação das comunidades bacterianas presentes no meio aquático, as quais são capazes de assimilar compostos nitrogenados e convertê-los em proteína bacteriana. Para tanto, a relação Carbono:Nitrogênio dos detritos deve ser mantida em níveis acima de 10:1, respectivamente (AVINIMELECH, 1999). O melaço da cana-de-açúcar pode ser utilizado como fonte orgânica de carbono, possibilitando o equilíbrio desejado desta relação, o que facilita a imobilização do nitrogênio presente no meio de cultivo (CRAB et al., 2007; SAMOCHA et al., 2007). Bactérias heterotróficas associam-se a detritos orgânicos, partículas inorgânicas, microalgas, protozoários e metazoários, formando agregados microbianos (bioflocos) que podem contribuir substancialmente com a nutrição dos camarões, reduzindo as exigências por proteínas exógenas nos sistemas sem renovação de água (BURFORD et al., 2003, 2004).

O cultivo da espécie exótica *Litopenaeus vannamei* em sistema heterotrófico vem sendo analisado como alternativa biotecnológica para elevar a produção brasileira. Neste sentido, também devem ser consideradas as vantagens em se cultivar espécies nativas, tais como; a possibilidade de produção com menores impactos ambientais, melhor tolerância às condições locais, larvas mais resistentes a patógenos nativos, disponibilidade de reprodutores

selvagens na região costeira e melhor aceitação no mercado local e internacional (SANDIFER et al., 1993). Na região Nordeste do Brasil, o camarão marinho *Farfantepenaeus subtilis* encontra-se distribuído ao longo da região costeira e representa uma alternativa para produção regional. Apesar do desempenho zootécnico desta espécie já ter sido avaliado nos cultivos tradicionais em viveiros escavados (NUNES et al., 1997), ainda não existem informações disponíveis sobre seu cultivo em sistema heterotrófico. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo realizar uma análise comparativa do cultivo de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho experimental

O estudo comparou dois tratamentos, representados por *L. vannamei* e *F. subtilis*, com quatro repetições por espécie, totalizando oito unidades experimentais. Cada parcela foi constituída por um sistema independente do tipo “raceway”, realizados em tanques de formato retangular (1,74m x 0,52m), com o volume utilizado de 300L.

Manejo experimental

As pós-larvas de *L. vannamei* (PL₁₀) foram obtidas a partir de reprodutores de cativeiro, enquanto as de *F. subtilis* (PL₁₂) foram provenientes de animais selvagens. Ambos os lotes de pós-larvas passaram inicialmente por um período de 15 dias de aclimação ao laboratório. Em seguida, foram aferidos os pesos médios dos animais (*L. vannamei* = 0,024g e *F. subtilis* = 0,034g) e estes foram transferidos para suas respectivas parcelas experimentais.

A densidade de estocagem inicial foi de 222 camarões/m² e o cultivo realizado durante 52 dias. Os animais foram alimentados com ração comercial (35% de proteína bruta), ofertada duas vezes ao dia (08:00h e 18:00h), e na proporção inicial correspondente a 10% da biomassa estimada. As quantidades de alimento foram ajustadas com base na realização de sucessivas biometrias (10 a 15 dias), objetivando manter o fator de conversão alimentar

(FCA) o mais próximo possível de 1, considerando-se as estimativas de sobrevivência (98% a 90%) a e crescimento. Ao final do período de cultivo, todos os animais foram retirados dos tanques, contados e pesados individualmente, para a obtenção da sobrevivência, peso médio final, crescimento semanal em peso, consumo de ração e fator de conversão alimentar (FCA).

Manejo do sistema heterotrófico

As unidades de cultivo foram inicialmente submetidas à fertilização inorgânica para induzir o desenvolvimento da cadeia trófica. Posteriormente, foi realizada a inoculação das diatomáceas *Thalassiosira* sp. e *Chaetoceros* sp. no “mix” de concentração pré-determinada (10^4 células/ml).

Durante os três primeiros dias do experimento foi adicionado o melão como fonte de carbono orgânico, de forma a obter uma relação Carbono:Nitrogênio de 20:1. Os resultados de concentração de amônia não ionizada (NH_3), obtidos a cada 48 horas, foram utilizados para determinar o momento das demais fertilizações orgânicas. Estas foram realizadas com o objetivo de manter os níveis de NAT abaixo de 1mg/L, e para tanto, as quantidades foram estabelecidas numa proporção de 6g de carbono para cada 1g de NAT no sistema, conforme sugerido por Avinimelech (1999) e Samocha et al. (2007).

Para induzir inicialmente populações de organismos heterotróficos, foi aplicado um probiótico comercial à água (Sanolife® PRO-W, INVE), composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na concentração de $5,0 \times 10^{10}$ unidades formadoras de colônia (UFC)/g. O manejo do produto contou com a aplicação de 2ppm realizada 48 horas antes da estocagem inicial e outras duas aplicações a cada cinco dias, durante os 10 primeiros dias de cultivo.

A circulação contínua da água foi obtida com a instalação de duas bombas submersas (2.000L/hora), e uma intensa aeração foi aplicada para agregar e suspender os flocos microbianos, além de manter os níveis de oxigênio dissolvido acima de 3mg/L. Para a análise do volume de flocos microbianos, a água dos tanques foi individualmente coletada

(1.000ml/tanque), com três leituras/tanque, e em intervalos de cinco dias, utilizando-se de um cone graduado (Imhoff).

Monitoramento e análise da qualidade de água

O experimento foi conduzido sem descarte ou troca de água e as variáveis físicas e químicas da água (oxigênio dissolvido, pH, temperatura e salinidade) foram monitoradas duas vezes ao dia (07:00h e 17:00h). A cada dois dias foram coletadas amostras de água (50ml/tanque) para análise laboratorial dos níveis de amônia não ionizada (NH_3), e a cada oito dias (500ml/tanque) para a determinação das concentrações de nitrato (NO_3), nitrito (NO_2), nitrogênio amoniacal total (NAT), fósforo total e clorofila “a” (A.P.H.A., 1995).

Análise estatística

Os dados foram inicialmente avaliados quanto à homogeneidade e normalidade, e em seguida submetidos ao teste T-Student para identificar possíveis diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada através do programa STATISTICA 7.0.

RESULTADOS

As variáveis físicas e químicas de qualidade da água não diferiram significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Entretanto, a água de cultivo do *L. vannamei* apresentou tendência de menor quantidade de clorofila *a* e de maior volume de flocos (Tabela 1).

O monitoramento dos valores médios de pH e da concentração de amônia não ionizada demonstraram uma correlação ($R^2 = 0,498$) que possibilitou determinar os momentos para a realização das fertilizações orgânicas, mantendo os níveis de NAT abaixo de 1mg/L durante todo o cultivo. Dessa forma, as concentrações médias dos compostos nitrogenados, ao longo do tempo, também não apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos, sendo observada uma tendência de redução dos seus níveis a partir do 16º dia de cultivo (Figura 1).

Os índices de desempenho zootécnico diferiram significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Os valores mais elevados de crescimento semanal e peso médio final foram obtidos por *L. vannamei*, além de melhor fator de conversão alimentar (FCA). No entanto, *F. subtilis* apresentou maior sobrevivência (Tabela 2).

DISCUSSÃO

As variáveis físicas e químicas da água foram mantidas em níveis aceitáveis para o crescimento e sobrevivência das espécies, de acordo com resultados obtidos por Boyd e Tucker (1998). Os menores níveis de concentração de clorofila *a*, detectados no tratamento *L. vannamei*, sugerem uma exclusão competitiva das microalgas pelas bactérias heterotróficas que compõem os flocos microbianos. Comunidades bacterianas heterotróficas competem com o crescimento da população de microalgas disputando os nutrientes presentes nos ambientes de cultivo (SAMOCHA et al., 2007). Possivelmente, os maiores níveis de clorofila *a* observados no tratamento *F. subtilis* refletem o alto consumo de flocos por parte desses camarões, na busca por uma suplementação nutricional. A hipótese é reforçada pela menor quantidade de flocos observada no tratamento *F. subtilis* (0,428ml/L), comparado ao *L. vannamei* (1,071ml/L).

O estímulo da biomassa bacteriana heterotrófica através da adição do melão provavelmente proporcionou o aumento do metabolismo e da demanda respiratória, resultando em maior liberação de CO_2 e conseqüente acidificação do meio de cultivo. De acordo com Boyd e Tucker (1998), em sistemas aquáticos, reações bioquímicas decorrentes do processo produtivo podem proporcionar flutuações no pH do meio de cultivo. No presente estudo, a flutuação dos níveis médios de pH demonstrou tendência de correlação com a diminuição dos níveis de amônia não ionizada (NH_3). De Schryver et al. (2008), concluíram que os efeitos exercidos pelas correlações existentes entre as fontes de carbono orgânico, o

oxigênio dissolvido, a temperatura e o pH, sobre os flocos microbianos, são largamente desconhecidos e demandam investigações mais aprofundadas.

A manutenção da qualidade de água na produção de organismos aquáticos tem como maior desafio evitar o acúmulo de resíduos orgânicos durante o processo (SAMOCHA et al., 2007). Estima-se que os baixos níveis de NAT (<1,0mg/L) e a tendência de diminuição dos demais compostos nitrogenados, observados no decorrer do experimento, estão diretamente relacionados com o estabelecimento de comunidades bacterianas heterotróficas responsáveis pela imobilização do nitrogênio livre, em ambos os tratamentos. O estímulo e a manutenção de microrganismos capazes de transformar a matéria orgânica em proteína bacteriana, proporcionado pela adição de fontes de carbono orgânico, têm se mostrado um método eficiente na diminuição dos níveis de compostos nitrogenados no cultivo de camarões (BURFORD et al., 2003, 2004; CRAB et al., 2007).

Os microrganismos colonizam detritos e formam flocos microbianos capazes de suplementar nutricionalmente as dietas comerciais, reduzindo custos com alimentação em sistemas sem renovação de água (BURFORD et al., 2003, 2004) De acordo com Wasielesky (2006), alguns dos mais altos índices de produção podem ser alcançados quando camarões marinhos são cultivados em sistemas heterotróficos, sem descarte ou renovação de água. A suplementação nutricional promovida pela intensa oferta dos flocos microbianos pode ser uma eficiente estratégia para melhorar o crescimento do *F. subtilis* nestes sistemas de cultivo.

O uso de uma ração balanceada para o perfil nutricional do *L. vannamei*, somado às maiores proporções ofertadas em função da sobrevivência superestimada, ajudou a promover maior crescimento semanal e maior peso médio final para esta espécie, em comparação ao *F. subtilis*. O *L. vannamei* é reconhecidamente uma das espécies com menor necessidade protéica dentre os camarões peneídeos (DALL et al., 1990), inclusive quando comparado ao *F. subtilis* (NUNES et al., 1997). Possivelmente, os altos níveis de exigência protéica do *F. subtilis* sejam similares aos níveis exigidos por *Farfantepenaeus paulensis*, espécie de mesmo

gênero encontrada na costa brasileira (ABE et al., 2008). Portanto, o *F. subtilis* poderia obter melhores resultados de desempenho zootécnico, caso a ração utilizada possuísse um perfil nutricional adequado as suas requisições. Fróes (2006) obteve melhores resultados de desempenho para *F. paulensis* cultivado sob condições intensivas, utilizando uma dieta com 45% de proteína bruta. Nesse sentido, o consumo significativamente menor de ração observado no tratamento *F. subtilis* pode ter ocorrido devido sua preferência pelos flocos microbianos em detrimento da ração comercial (35% de proteína bruta) ofertada.

Estudo realizado por Peixoto et al. (2003) objetivando a análise comparativa entre os peneídeos *F. paulensis* e *L. vannamei*, em cultivo tradicional e utilizando dieta específica para *L. vannamei*, também obteve melhor resultado de desempenho zootécnico para *L. vannamei*. Cabe ressaltar que *L. vannamei* é a espécie mais cultivada comercialmente no mundo e que já possui um pacote tecnológico amplamente estabelecido, inclusive em nível de seleção genética, favorecendo seu desempenho quando comparado com outras espécies ainda selvagens. Entretanto, no Brasil, o potencial produtivo de espécies nativas deve ser avaliado com o uso de novas tecnologias, como os sistemas heterotróficos de cultivo.

CONCLUSÃO

Os resultados comprovam o melhor desempenho zootécnico de *L. vannamei* em comparação ao *F. subtilis*. Contudo, ainda podem contribuir para o desenvolvimento de um pacote tecnológico direcionado à produção na fase de berçário do *F. subtilis* em sistema heterotrófico. Ressaltando a necessidade do estabelecimento de um manejo nutricional adequado às exigências de *F. subtilis*, e a seleção de reprodutores nativos, para o favorecimento do desempenho na produção dessa espécie nativa do litoral Nordeste do Brasil.

REFERÊNCIAS

ABE, M.P.; FRÓES, C.N.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; WASIELESKY Jr., W.; CAVALLI, R.O. Substituição da farinha de peixe por farelo de soja em dietas práticas para o camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*). **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 219-224, 2008.

A.P.H.A/A.A.W.W.A/W.E.F. (Ed). Standard methods for the examination of water and waste water. **Washington**, 1995. v. 19 a.

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

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Aquaculture water quality managment. **Kluwer Academic Publishers**, Boston, Massachusetts: 1998. p. 700.

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

BURFORD, M.A.; THOMPSON, P.J.; MCINTOSH, R.P.; BAUMAN, R.H.; PEARSON, D.C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, v. 232, p. 525-537, 2004.

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

DALL, W.; HILL, B.J.; ROTH LISBERG, P.C.; STAPLES, D.J. The biology of the *Penaeidae*. In: BLAXTER, J.H.S.; SOUTHWARD, A.J. (ed.) **Advances in Marine Biology**. Great Britain, 1990. v. 27, p. 159-211.

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

EMERENCIANO, M.G.C.; WASIELESKY, W.J.; SOARES, R.B.; BALLESTER, E.C.; IZEPPI, E.M.; CAVALLI, R.O. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29 (1), p. 1-7, 2007.

FRÓES, C.N. Efeitos de dietas práticas com diferentes níveis de proteína na sobrevivência e crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967). **Master's Thesis**. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande do Sul - Brasil, 2006.

HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Disease control in shrimp aquaculture from a microbial ecology perspective. In: BROWDY, C.L.; JORY, D. (Ed.). Proceedings of the special session on sustainable shrimp farming. Baton Rouge, Louisiana, USA: **The World Aquaculture Society**, 2001. p. 199–218.

NUNES, A.J.P.; GESTEIRA, T.C.V.; GODDARD, S. Food ingestion and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**. v. 149, p. 121-136, 1997.

PEIXOTO, S.M.; WASIELESKY Jr., W.; LOUZADA Jr., L. Comparative Analysis of Pink Shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Culture in Extreme Southern Brazil. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 14, p. 101-111, 2003.

SANDIFER, P.A.; HOPKINS, J.S.; STOKES, A.D.; BROWDY, C.L. Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *P. vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 24, n. 3, p. 295–303, 1993.

SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R.V.; AYUB, Z.; HARISANTo, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, v. 36, p. 184-191, 2007.

WASIELESKY Jr., 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, 2006.

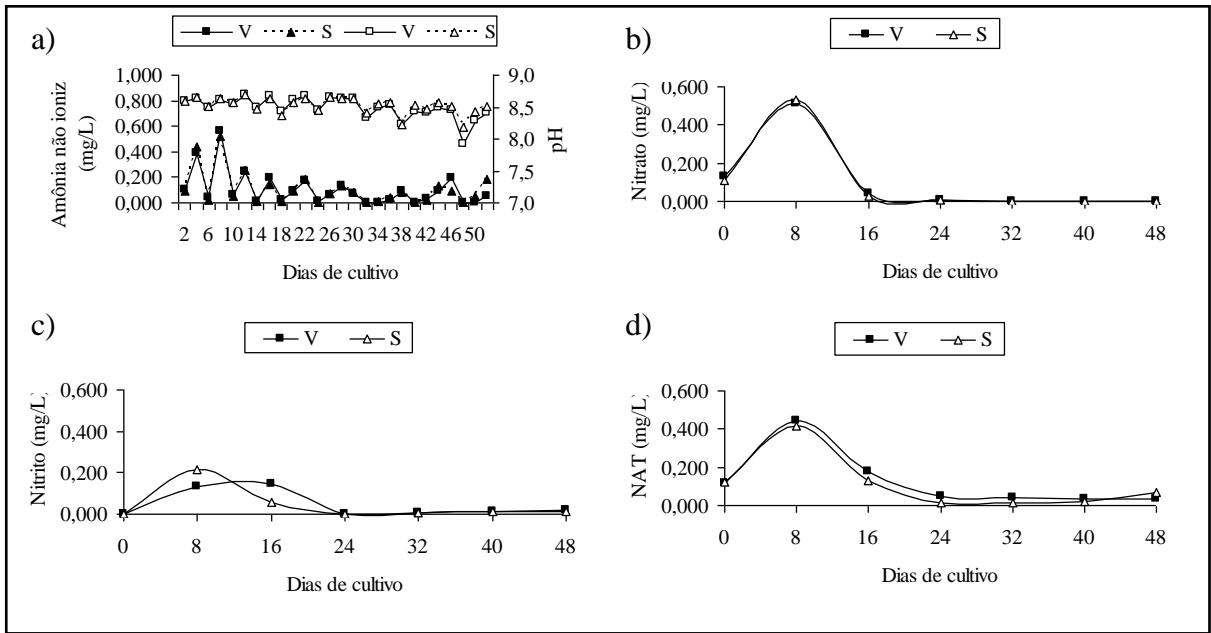
Tabela 1. Média (\pm DP) das variáveis físicas e químicas de qualidade da água, ao longo de 52 dias, no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.

Variáveis	Tratamentos	
	<i>L. vannamei</i>	<i>F. subtilis</i>
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,72 (\pm 0,90)	4,71 (\pm 0,89)
pH	8,49 (\pm 0,18)	8,52 (\pm 0,14)
Temperatura ($^{\circ}$ C)	27,58 (\pm 0,43)	27,64 (\pm 0,45)
Salinidade (g/L)	36,30 (\pm 1,66)	36,36 (\pm 1,55)
Nitrato - NO ₃ (mg/L)	0,099 (\pm 0,182)	0,097 (\pm 0,187)
Nitrito - NO ₂ (mg/L)	0,045 (\pm 0,068)	0,044 (\pm 0,081)
Nitrogênio amoniacal total - NAT (mg/L)	0,127 (\pm 0,146)	0,112 (\pm 0,143)
Amônia não ionizada - NH ₃ (mg/L)	0,103 (\pm 0,141)	0,105 (\pm 0,139)
Fósforo total (mg/L)	0,162 (\pm 0,071)	0,159 (\pm 0,079)
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	0,008 (\pm 0,006)	0,012 (\pm 0,008)
Volume do floco (ml/L)	1,071 (\pm 2,956)	0,428 (\pm 1,372)

Tabela 2. Média (\pm DP) dos índices de desempenho zootécnico, no berçário de *L. vannamei* e *F. subtilis* em sistema heterotrófico.

Índices	Tratamentos	
	<i>L. vannamei</i>	<i>F. subtilis</i>
Sobrevivência (%)	63,25 (\pm 7,27) ^b	83,50 (\pm 11,73) ^a
Peso médio final (g)	2,31 (\pm 0,53) ^a	0,88 (\pm 0,36) ^b
Crescimento (g/semana)	0,31 (\pm 0,02) ^a	0,12 (\pm 0,03) ^b
Consumo de ração (g)	223,16 (\pm 16,47) ^a	166,10 (\pm 33,06) ^b
Fator de conversão alimentar (FCA)	0,70 (\pm 0,08) ^a	1,09 (\pm 0,12) ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$)



Legendas

Figura 1 – (a) Variação dos valores médios de pH (formas geométricas vazadas) e da concentração média de amônia não ionizada (NH_3) (formas geométricas não vazadas), (b) concentração média de nitrato (NO_3), (c) concentração média de nitrito (NO_2), e (d) concentração média de nitrogênio amoniacal total (NAT), ao longo do tempo, no berçário de *L. vannamei* (V) e *F. subtilis* (S) em sistema heterotrófico.

4.2 – ARTIGO CIENTÍFICO 2

Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico Ciência Rural.

USO DE PROBIÓTICO NO BERÇÁRIO DE
Litopenaeus vannamei EM SISTEMA HETEROTRÓFICO

THE USE OF PROBIOTIC IN THE NURSERY OF
Litopenaeus vannamei IN HETEROTROPHIC SYSTEM

* Freddy Vogeley, Joana Vogeley,

Victor Andrade, Roberta Soares, Silvio Peixoto

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Laboratório de Maricultura Sustentável

Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois irmãos, Recife, PE

* freddyvog@hotmail.com

RESUMO

No presente estudo foi avaliado o desempenho zootécnico de *Litopenaeus vannamei* durante o berçário em sistema heterotrófico, com e sem a adição de bactérias probióticas. O estudo foi realizado durante 30 dias em tanques tipo “raceway” (0,9m² e 300L), com densidade de estocagem inicial de 265 camarões/m² e peso inicial de 0,036g. Os animais foram alimentados com ração comercial (35% proteína bruta) duas vezes ao dia. O sistema heterotrófico foi induzido através da adição de fertilizante orgânico (melaço) para o ajuste da relação Carbono:Nitrogênio (20:1). Foi aplicado um probiótico comercial (*Bacillus* spp.) na água de acordo com as recomendações do fabricante (0,5ppm/48h). As análises da qualidade de água e bromatológicas do biofilme aderido ao substrato artificial dos tanques e do camarão não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, as análises bacteriológicas indicaram que no 10º dia de cultivo houve uma redução significativa das concentrações de *Vibrio* spp. nos camarões do tratamento com a adição de probiótico. Apesar do desempenho zootécnico não ter apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, foram observados melhores resultados de produtividade no tratamento com adição de probiótico.

Palavras chave: *Litopenaeus vannamei*; sistema heterotrófico; *Vibrio* spp.; probiótico; qualidade de água.

ABSTRACT

The present study evaluated the growth performance of *Litopenaeus vannamei* during the nursery in heterotrophic system, with and without the addition of probiotic bacteria. The study lasted 30 days in raceway tanks (0.9m² and 300L), with initial stocking density of 265 shrimp/m² and initial shrimp weight of 0.036g. The animals were fed with commercial diet (35% crude protein) two times a day. The heterotrophic system was induced by adding organic fertilizer (molasses) to adjust the Carbon:Nitrogen relationship (20:1). We applied a commercial probiotic (*Bacillus* spp.) was added in the water according to the manufacturer's recommendations (0.5ppm/48h). The analyses of water quality and nutritive value of the biofilm attached to artificial substrate in the tanks and shrimp showed no significant differences between treatments. However, bacteriological analysis indicated that at the 10th day of culture there was a significant reduction in the concentrations of *Vibrio* spp. shrimps reared with the addition of probiotic. Although the shrimp growth performance did not show significant differences between treatments, results observed indicated higher yield values in treatment with probiotic addition.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; heterotrophic culture; *Vibrio* spp.; probiotic; water quality.

INTRODUÇÃO

O ritmo acelerado de crescimento da carcinicultura mundial demanda por tecnologias direcionadas à obtenção de maiores produtividades em sistemas de troca zero de água, utilizando comunidades bacterianas heterotróficas (WASIELESKY, 2006). O cultivo heterotrófico representa o modelo de aquicultura responsável, cujo baixo impacto resulta em sustentabilidade ambiental (DE SCHRYVER et al., 2008).

A adição de fontes extras de carbono orgânico proporciona a relação C:N adequada ao manejo de comunidades heterotróficas (AVINIMELECH, 1999). O uso do melão como fonte de carbono fornece energia para as bactérias degradarem a matéria orgânica excedente, transformando-a em proteína bacteriana que pode ser consumida pelo camarão (BALCÁZAR et al., 2006; CRAB et al., 2007). A proteína bacteriana contém concentrações significativas de macro (cálcio, fósforo, potássio e magnésio) e micro-nutrientes (cobre, ferro, manganês e zinco), além de ácidos graxos (THOMPSON et al., 2002; BALLESTER, et al., 2007) e nitrogênio (FRÓES, 2006; ABREU et al., 2007).

Produtos probióticos contendo bactérias selecionadas (*Bacillus* spp.) podem ser adicionados a sistemas de cultivo, maximizando a ação benéfica dos microorganismos constituintes dos sistemas heterotróficos (ZIAEI-NEJAD et al., 2006; CHIU et al., 2007). A associação das bactérias probióticas aos sistemas heterotróficos proporciona a exclusão de patógenos do gênero *Vibrio* (VERSCHUERE et al., 2000), e influencia nos processos digestórios dos camarões através do aumento da atividade enzimática e absorção de nutrientes (OCHOA-SOLANO e OLMOS-SOTO, 2006; BHASKAR et al., 2007). Estudos recentes utilizando bactérias probióticas resultaram em camarões saudáveis e em melhor desempenho produtivo (VITA et al., 2008; LIU et al., 2009).

A tecnologia do uso de bactérias probióticas no cultivo de camarões marinhos ainda pode ser considerada recente, proporcionando controvérsias sobre sua eficiência. Deste modo,

o presente estudo objetiva avaliar o uso de probiótico na água de cultivo do camarão *L. vannamei* em sistemas heterotróficos.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho experimental

O estudo foi realizado no Laboratório de Maricultura Sustentável (LAMARSU), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram comparados dois tratamentos: um berçário de camarão com a adição de probiótico na água, e outro sem a adição de probiótico (controle). Ambos os tratamentos foram realizados em sistema heterotrófico e com três repetições cada, totalizando seis unidades experimentais. Cada unidade foi constituída por um sistema independente do tipo “raceway”, realizados em tanques de formato retangular (1,74m x 0,52m), com lâmina d’água de 0,35m e volume útil de 300L.

Manejo experimental

As pós-larvas de *L. vannamei* (PL₁₂) foram obtidas junto ao laboratório comercial da empresa Netuno, no litoral Sul do estado de Pernambuco. Na recepção, os camarões foram aclimatados quanto aos parâmetros físicos e químicos da água, e estocados em caixa circular (500L), na densidade de 13 pós-larvas/L, onde passaram por um período pré-berçário de 10 dias para adaptação às condições laboratoriais. A qualidade de água foi monitorada diariamente e a ração (40% de proteína bruta) ofertada três vezes ao dia, em proporções variáveis de 27% a 10% da biomassa estimada, alternada com biomassa congelada de *Artemia*. Após esse período, o peso médio inicial foi determinado (0,036g), e os camarões foram transferidos para suas respectivas unidades experimentais, numa densidade de estocagem inicial de 265 camarões/m², onde permaneceram durante 30 dias de berçário.

A alimentação durante o berçário experimental constou de ração comercial (35% PB), ofertada duas vezes ao dia (08:00h e 18:00h), na proporção inicial correspondente a 10% da biomassa. As quantidades de alimento foram ajustadas com base em biometrias (25

camarões/tanque) realizadas a cada 10 dias, considerando-se as estimativas de sobrevivência e crescimento. Ao final do experimento, todos os camarões foram contados e pesados individualmente. Os dados obtidos possibilitaram a determinação da sobrevivência, biomassa final, peso médio, crescimento semanal em peso, consumo de ração e fator de conversão alimentar (FCA).

Manejo do sistema heterotrófico

As unidades experimentais foram submetidas à fertilização inorgânica na proporção de 10 Nitrogênio:1 Fósforo:3 Sílica antecedendo em 10 dias à estocagem inicial dos camarões para disponibilizar nutrientes necessários ao desenvolvimento de cadeia trófica. Em seguida, foi realizada a inoculação das diatomáceas *Thalassiosira* sp. e *Chaetoceros* sp. numa mistura de concentração pré-determinada (10^4 células/ml). Dois dias após este procedimento, e durante os 10 dias iniciais, o melaço da cana-de-açúcar passou a ser adicionado (0,5g/L) diariamente como fonte extra de carbono orgânico, para estimular o estabelecimento e desenvolvimento de bactérias heterotróficas.

A adição de melaço após a estocagem inicial dos camarões foi realizada de maneira a obter uma relação Carbono:Nitrogênio de 20:1. A concentração da amônia não ionizada (NH_3) foi mensurada a cada 48 horas e seu resultado foi utilizado para determinar o momento das demais fertilizações orgânicas, objetivando a manutenção dos níveis de NAT abaixo de 1mg/L. Para tanto, as quantidades de melaço foram estabelecidas na proporção de 6g de carbono para cada 1g de NAT no sistema, conforme sugerido por Avinimelech (1999) e Samocha et al. (2007).

No tratamento com probiótico, as comunidades bacterianas foram suplementadas com a aplicação de um produto comercial para a água (Sanolife® PRO-W, INVE), composto por *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, na concentração de $5,0 \times 10^{10}$ unidades formadoras de colônia (UFC)/g. O manejo do produto no tratamento com o uso de probiótico contou com a aplicação de 2ppm (10×10^4 UFC mL⁻¹) realizada 24 horas antes da estocagem inicial e

0,5ppm ($2,5 \times 10^4$ UFC mL⁻¹) a cada 48 horas, de acordo com as recomendações do fabricante.

A circulação contínua da água foi promovida por duas bombas submersas instaladas em cada tanque e disponibilizada intensa aeração para suspender as bactérias, proporcionando também níveis de oxigênio dissolvido acima de 3mg/L. Cada tanque possuía uma divisória central de tecido (carpete) que, além de auxiliar a circulação da água, servia de substrato para a fixação de biofilme microbiano.

Análise bacteriológica

As análises bacteriológicas iniciais foram realizadas através de amostragens da água de cultivo e das pós-larvas, antes de serem expostas aos tratamentos. Estas análises foram repetidas em amostragens periódicas com intervalo de 10 dias, durante todo o período experimental.

A estimativa de *Vibrio* spp. totais presentes na água de cultivo foi realizada através de diluições decimais seriadas (1/10) das amostras em solução salina esterilizada (3,5% NaCl). Em seguida, foi retirada uma alíquota (100µl) de cada diluição para plaqueamento em Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bile Sacarose). Após o período de incubação (24 horas) em estufa, na temperatura de 30°C, foram contadas as unidades formadoras de colônias (UFC/ml) das placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias (DOWNES e ITO, 2001).

Para a análise de *Vibrio* spp. nos camarões, foram retirados aleatoriamente 20 animais de cada unidade experimental. Os camarões foram lavados com água destilada e em seguida com solução salina esterilizada (3,5% NaCl) para a remoção das bactérias externas. Posteriormente, os animais foram macerados e uma amostra foi diluída e semeada em Agar TCBS, conforme o procedimento descrito para a análise da água.

Análise bromatológica

Ao final do cultivo foram coletadas amostras dos camarões (100g) de cada parcela experimental, além de amostras úmidas do biofilme microbiano (100g) aderido aos substratos

centrais dos tanques. Este material foi devidamente identificado, refrigerado (-18°C) e enviado ao Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos, do Departamento de Nutrição, da Universidade Federal de Pernambuco, para análise de composição centesimal dos seguintes itens; umidade, proteína bruta, lipídios, cinzas, carboidratos e valor calórico total (VCT).

Monitoramento e análise da qualidade de água

O experimento foi conduzido sem descarte ou troca de água e as variáveis físicas e químicas da água (oxigênio dissolvido, temperatura, salinidade, pH e condutividade) foram monitoradas duas vezes ao dia (07:00h e 17:00h), utilizando o multiparâmetro (YSI-556). Foram coletadas amostras da água de cultivo (250ml) a cada cinco dias para a determinação de alcalinidade (CaCO_3), ortofosfato (P_2O_5), amônia não ionizada (NH_3), nitrito (NO_2) e nitrato (NO_3), através de fotolorimetria (ALFAKIT AT-10P). Além destas análises, diariamente foi feita uma estimativa dos níveis de amônia não ionizada (NH_3) com o uso de “kit reagente” para água salgada (ALCON).

Análise estatística

Os dados foram inicialmente avaliados quanto à homogeneidade e normalidade, e em seguida submetidos ao teste T-Student para identificar possíveis diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada através do programa STATISTICA 7.0.

RESULTADOS

As variáveis físicas e químicas da qualidade de água não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. A concentração média de amônia não ionizada não ultrapassou $0,74\text{mg L}^{-1}$, enquanto a concentração média de ortofosfato (P_2O_5) manteve-se abaixo de $1,89\text{mg L}^{-1}$ durante todo o período experimental (Tabela 1).

A análise bacteriológica da água de cultivo não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Porém, foi observado que o tratamento com adição de probiótico apresentou menores concentrações de *Vibrio* spp. no 10° e 20° dias de cultivo. Já para a análise bacteriológica realizada nos camarões foram detectadas diferenças significativas, indicando uma redução na concentração de *Vibrio* spp. do tratamento com uso de probiótico no 10° dia de cultivo. Neste caso, apesar de não terem ocorrido diferenças significativas no 20° e 30° dias, também foram observadas menores concentrações de *Vibrio* spp nos camarões em relação ao controle (Tabela 2).

As análises bromatológicas do biofilme microbiano e dos camarões não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ao final do experimento. Entretanto, os resultados da bromatologia dos camarões indicaram níveis mais elevados de proteína bruta, lipídios e VCT para o tratamento com adição de probiótico (Tabela 3).

O desempenho zootécnico dos camarões não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com uso de probiótico e controle. Porém, os camarões cultivados com a adição de probiótico na água apresentaram maiores valores de sobrevivência, biomassa final, peso médio, crescimento semanal em peso e FCA (Tabela 4).

DISCUSSÃO

A manutenção da qualidade de água é um dos fatores primordiais para a saúde de camarões cultivados (BOYD e GAUTIER, 2000). No presente estudo, as concentrações de amônia não ionizada ($0,74\text{mg L}^{-1}$) foram mantidas abaixo dos níveis críticos para a espécie cultivada ($>1,0\text{mg L}^{-1}$), ajudando na manutenção de baixas concentrações de nitrito ($0,02\text{mg L}^{-1}$) e nitrato ($0,27\text{mg L}^{-1}$). Bratvold e Browdy (2001) relataram que o uso de substratos artificiais pode aumentar a capacidade de nitrificação durante o cultivo de camarão, resultando na diminuição das concentrações de amônia não ionizada. Provavelmente, os substratos artificiais instalados em nossos tanques disponibilizaram maiores áreas de

superfície para a colonização de bactérias responsáveis pela diminuição, e ou absorção de nitrogenados. Estima-se ainda, que os baixos níveis de ortofosfato ($1,89 \text{ mL}^{-1}$) observados estejam relacionados à absorção de nutrientes realizada pelas bactérias heterotróficas estabelecidas no biofilme. Thompson e Poltz (2006) observaram a diminuição dos níveis de concentração dos compostos fosfatados na medida em que bactérias heterotróficas se estabeleciam em sistemas de cultivo sem a renovação de água.

De acordo com Sarker et al. (1994), bactérias do gênero *Vibrio* podem estar envolvidas tanto na absorção quanto na reciclagem de elementos chave como carbono, nitrogênio e fósforo, disponíveis nos sistemas de cultivo. Em estudo mais recente, Arantes (2007) estabeleceu como ideal a relação C:N de 20:1 no cultivo heterotrófico de *L. vannamei*, sem a adição de probiótico, e observou que entre o 12º e 19º dia a comunidade bacteriana foi constituída por maior quantidade de *Vibrio* spp. Os nossos resultados corroboram com este estudo, quando identificamos maiores concentrações destas bactérias na água do tratamento controle no 10º e 20º dias de cultivo, embora não apresentando diferenças significativas do tratamento com uso de probiótico. Segundo Thompson e Poltz (2006), o tempo de residência da biomassa bacteriana aumenta em sistemas de cultivo sem a renovação de água e suas células tornam-se senescentes ou morrem. Neste processo, estas células se tornam disponíveis para que outras formas bacterianas de características distintas, e aptas a degradação de partículas, se multipliquem, como é o caso do gênero *Vibrio*.

Aguirre-Guzmán et al. (2002), concluíram que bactérias dos gênero *Vibrio* estão naturalmente presentes no ambiente marinho, representando, portanto, uma fonte constante de possíveis infecções para o camarão cultivado. Por outro lado, estes autores argumentam que problemas com *Vibrio* spp. ocorrem principalmente quando condições de estresse surgem durante o cultivo, como quedas de oxigênio, altas concentrações de compostos nitrogenados ou a falta de alimento. Uma vez que a qualidade de água e o manejo alimentar foram mantidos em níveis adequados a sobrevivência e crescimento do *L. vannamei* durante o

presente estudo, sugere-se que as concentrações de *Vibrio* spp. na água não comprometeram a saúde e o desempenho zootécnico da espécie durante o cultivo.

Dentre os mecanismos de ação das bactérias probióticas utilizadas em aquicultura, destacam-se a criação de ambiente hostil para patógenos oportunistas através da produção de compostos inibitórios, e a competição por nutrientes e locais de adesão (GOMEZ-GIL et al., 2000; IRIANTO e AUSTIN, 2002; BALCAZAR et al., 2006). As menores concentrações de *Vibrio* spp. na água durante o 10º e 20º dias de cultivo, e no camarão durante todo o período experimental, estiveram possivelmente associadas a atuação das bactérias probióticas adicionadas ao sistema heterotrófico em comparação com o tratamento controle. Além disso, a degradação de material particulado realizada por *Vibrio* spp. permite a ciclagem de nutrientes a formas regeneradas e dissolvidas, que aliados ao fornecimento constante de energia (carbono orgânico) pode favorecer o desenvolvimento de outros grupos de bactérias em detrimento de espécies de *Vibrio* (ARANTES, 2007). De acordo com Lightner (1993), o gênero *Vibrio* pode ser encontrado no estômago, brânquias e cutícula de camarões selvagens e de cultivo. Entretanto, sintomas de vibrioses estão geralmente ligados ao aumento do número de espécies patogênicas e não ao aumento do número total de *Vibrio* spp. (LAVILLA-PITOGO et al., 1998; SUNG et al., 1999).

Segundo Ballester et al. (2007) o uso de substratos artificiais melhorou o crescimento e a sobrevivência de *F. paulensis* sob condições de cultivo, e o biofilme formado nos substratos foi composto por microrganismos que pertencem a dieta natural dos camarões peneídeos, sendo uma fonte adicional de nutrição. Apesar de Thompson et al. (1999; 2002) encontrarem baixos teores de proteína bruta no biofilme produzido, concluíram que os microrganismos também podem fornecer elementos essenciais, como ácidos graxos poliinsaturados, esteróis, aminoácidos, vitaminas, e carotenóides para os camarões cultivados. Em nossas análises bromatológicas no biofilme também identificamos baixos níveis de proteína bruta, lipídios e VCT, para ambos os tratamentos, com uma tendência de maiores

níveis destes parâmetros para os camarões tratados com probiótico. Esta tendência pode ser resultante do melhor aproveitamento do biofilme enriquecido pelas bactérias probióticas quando ingerido pelos camarões. Segundo Bomba et al. (2002) os probióticos influenciam nos processos digestivos através do enriquecimento da população de microrganismos benéficos, aumentando a atividade de enzimas microbianas, e conseqüentemente, a digestibilidade e aproveitamento do item alimentar ingerido, inclusive biofilme microbiano disponível. De acordo com Vita et al. (2008), a composição nutricional do floco microbiano pode ser incrementada pela utilização de probióticos, promovendo maiores níveis de proteína bruta e extrato etéreo quando comparado ao controle sem adição de probióticos.

A presença de comunidades controladas de bactérias heterotróficas pode melhorar a qualidade da água e a resistência a doenças, influenciando na sobrevivência, ganho de peso, taxa de crescimento e conversão alimentar dos camarões cultivados (TACON et al., 2002; WASIELESKY et al., 2006). Arnold et al. (2009) concluíram que o crescimento de juvenis de *Penaeus monodon* cultivados em sistema heterotrófico com zero troca de água pode ser significativamente melhorada com a adição de substrato artificial. Apesar do presente estudo não ter constatado diferenças significativas entre os tratamentos, os índices de sobrevivência, biomassa final, peso médio, crescimento semanal e fator de conversão alimentar (FCA), demonstraram uma tendência de melhores resultados de desempenho zootécnico quando o probiótico foi adicionado à água. Wang (2007) observou um melhor crescimento em juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas suplementadas com probiótico, atribuindo este fato ao aumento da atividade enzimática que proporciona maior eficiência no aproveitamento dos nutrientes disponíveis no alimento.

O desempenho zootécnico do *L. vannamei* no presente estudo foi satisfatório em relação aos resultados obtidos em estudo realizado por Vogeley et al. (2009), nas mesmas condições de cultivo e utilizando menor densidade (221 camarões/m²), onde foi constatada

sobrevivência inferior (65%) para *L. vannamei*, quando comparado ao presente estudo (92%) com o uso de probiótico.

CONCLUSÃO

A adição de bactérias probióticas durante o berçário em sistema heterotrófico não apresentou diferenças significativas quanto à qualidade de água, aspectos nutricionais e desempenho zootécnico do *L. vannamei*. Os resultados sugerem que as comunidades bacterianas heterotróficas naturalmente presentes foram suficientes na manutenção de condições adequadas para o berçário do *L. vannamei*, na medida em que atuaram nas diminuições da carga de *Vibrios* e do potencial patogênico para os camarões cultivados.

REFERÊNCIAS

- ABREU, P.C.; BALLESTER, E.L.C.; ODEBRECHT, C.; WASIELESKY, W.J.; CAVALLI, R.O.; GRANÉLI, W.; ANESIO, A.M. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 347, p. 88–96, 2007.
- AGUIRRE-GUZMÁN, G.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R. & ASCENCIO, F. Efecto de diferentes espécie de *Vibrio* sobre la sobrevivencia larval del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). **Panorama Acuícola**, v. 7, n. 5, p. 18-19, 2002.
- ARANTES, R. F. O efeito da relação Carbono-Notrogênio sobre a comunidade microbiana no cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* sem renovação. 2007. **Dissertação de mestrado**. Pós-graduação em aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.
- ARNOLD, S.J.; SELLARS, M.J.; CROCOS, P.J.; COMAN, G.J. Intensive production of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon*: an evaluation of stocking density and artificial substrates. **Aquaculture**, v. 261, p. 890 – 896, 2006b.
- ARNOLD, S.J.; COMAN, F.E.; JACKSON, C.J.; GROVES, S.A. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: An evaluation of artificial substrates and stocking density. **Aquaculture**, v. 293, p. 42 – 48, 2009.
- AVINIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 176, p. 227-235, 1999.
- BALCÁZAR, J.L.; BLAS de, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J.L. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**, v. 114, p. 173-186, 2006.
- BALLESTER, E.L.C.; WASIELESKY, W.J.; CAVALLI, R.O.; ABREU, P.C. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. **Aquaculture**. v. 269, p. 355–362, 2007.

- Vogeley, F. Berçário Experimental de Camarões Marinhos... 49
- BOMBA, A.; NEMCOVÁ, R.; GANCARCIKOVÁ, S.; HERICH, R.; GUBA, P.; MUDRONOVAL, D. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 95-99, 2002.
- BOYD, C.E.; GAUTIER, D. Effluent composition and water quality standards. **Global Aquaculture Advocate**. v. 3 (5), p. 61–66, 2000.
- BHASKAR, N., SUDEEPA, E.S., RASHMI, H.N.; SELVI, A.T. Partial purification and characterization of protease of *Bacillus proteolyticus* CFR 3001 isolated from fish processing waste and its anti-bacterial activities. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 2758–2764, 2007.
- BRATVOLD, D.; BROWDY, C.L. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMatsTM) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system, **Aquaculture**. Amsterdam, v. 195, p. 81-94, 2001.
- CHIU, C.H.; GUU, Y.K.; LIU, C.H.; PAN, T.M.; CHENG, W. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. **Fish Shellfish Immunol**. v. 23, p. 364–377, 2007.
- CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270 (1–4), p. 1–14, 2007.
- DOWNES, M.P., ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association (APHA)**, 4th edition, Washington. 2001
- DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, p. 125-137, 2008.
- FRÓES, C. Efeitos de dietas práticas com diferentes níveis de proteína na sobrevivência e crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Perez-Farfante, 1967) **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande, 2006.

GOMEZ-GIL, B., ROQUE, A., TURNBULL, J.F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. **Aquaculture**. v. 191, p. 259-270, 2000.

IRIANTO, A., AUSTIN, B. Probiotics in aquaculture. **Jornal of Fish Diseases**. v. 25, p. 633-642, 2002.

LAVILLA-PITOGO, C. R.; LEANO, E. M.; PANER, M. G. Mortalities of pond culture juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with the dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. **Aquaculture**. v. 164, p. 337-349, 1998.

LIGHTNER, D. V. Disease of culture penaeid shrimp. In: Handbook of Mariculture Crustacean Aquaculture, **CRC Press**, Boca Ráton, 1993.

LIU, C.H.; CHIU, C.S.; HO, P.L.; WANG, S.W. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. **Journal of Applied Microbiology**. v. 107, p. 1031–1041, 2009.

OCHOA-SOLANO, J.L.; OLMOS-SOTO, J. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. **Food Microbiology**. v. 23, p. 519–525, 2006.

SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R.V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, v. 36, p. 184-191, 2007.

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

THOMPSON, F.L.; ABREU, P.C.; WASIELESKY, W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture**. v. 203, p. 263–278, 2002.

- Vogeley, F. Berçário Experimental de Camarões Marinhos... 51
- THOMPSON, J.T.; POLTZ, M.F. Dynamics of *Vibrio* population and their role in environmental nutrient cycling. In: *Biology of Vibrios* (ed. By Thompson, F.L.; Austin, B.; Swings, J.), p. 190-203. **ASM Press**, Washington D.C., 2006.
- 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.
- VITA, G.Q.L.; BALLESTER, E.L.C.; FRÓES, C.; MORIARTY, D.J.W.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.Jr. Effect of probiotic use in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Dissertação de Mestrado**, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, 2008.
- VOGELEY, F.; ALVES, E.; VOGLEY, J.; CARDOSO, L.; MENDES, M.; CAVALLI, R.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Comparative Analysis of the Culture of *Litopenaeus vannamei* and *Farfantepenaeus subtilis* in Heterotrophic System. **Resumo em Congresso**, World Aquaculture Society, 2009.
- WASIELESKY Jr., 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, 2006.
- ZIAEI-NEJAD, S.; REZAEI, M.H.; TAKAMI, G.A.; LOVETT, D.L.; MIRVAGHEFI, A.R.; SHAKOUORI, M. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**, v. 252, p. 516-524, 2006.

Tabela 1. Média (\pm DP) das variáveis físicas e químicas da qualidade de água, ao longo de 30 dias de berçário do *L. vannamei*, em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.

Variáveis	Tratamentos	
	Probiótico	Controle
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	5,04 \pm 0,49	5,07 \pm 0,48
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	28,23 \pm 0,42	28,37 \pm 0,55
Salinidade (g L^{-1})	34,14 \pm 0,69	34,44 \pm 0,91
Ph	8,12 \pm 0,13	8,13 \pm 0,17
Condutividade (mS/cm)	0,70 \pm 0,05	0,70 \pm 0,04
Alcalinidade (mg L^{-1})	129,17 \pm 12,31	128,28 \pm 10,72
Ortofosfato (mg L^{-1})	1,78 \pm 0,89	1,89 \pm 1,04
N-NH ₃ (mg L^{-1})	0,72 \pm 0,15	0,74 \pm 0,12
N-NO ₂ (mg L^{-1})	0,02 \pm 0,03	0,02 \pm 0,03
N-NO ₃ (mg L^{-1})	0,26 \pm 0,22	0,27 \pm 0,27

Tabela 2. Média (\pm DP) da concentração de *Vibrio* spp. na água de cultivo e no camarão *L. vannamei*, durante 30 dias (inicial, 10°, 20° e 30° dia) de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.

Análises	Água (10^4 UFC/ml)		Camarão (10^4 UFC/g)	
	Probiótico	Controle	Probiótico	Controle
Inicial	0,74 \pm 0,00	0,74 \pm 0,00	ND	ND
10° Dia	0,46 \pm 0,40	0,91 \pm 0,59	41,00 \pm 27,00 ^a	184,00 \pm 79,00 ^b
20° Dia	0,43 \pm 0,36	5,73 \pm 9,33	17,50 \pm 0,92	59,40 \pm 65,10
30° Dia	1,80 \pm 1,54	1,44 \pm 1,42	13,00 \pm 8,03	21,20 \pm 9,86

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$)

ND = Não detectado pelo método de análise

Tabela 3. Média (\pm DP) da composição centesimal do biofilme microbiano e do camarão *L. vannamei*, durante 30 dias de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.

Itens	Biofilme		Camarão	
	Probiótico	Controle	Probiótico	Controle
Umidade (g/100g)	92,48 \pm 0,52	91,73 \pm 1,58	79,31 \pm 0,22	78,90 \pm 0,06
Proteína bruta (g/100g)	1,35 \pm 0,32	1,30 \pm 1,32	14,42 \pm 0,59	13,89 \pm 0,44
Lipídio (g/100g)	0,52 \pm 0,01	0,72 \pm 0,36	6,21 \pm 3,50	5,58 \pm 2,96
Cinzas (g/100g)	3,90 \pm 0,22	3,92 \pm 0,45	3,38 \pm 0,05	3,40 \pm 0,02
Carboidrato (g/100g)	1,75 \pm 0,15	2,32 \pm 0,65	ND	0,34 \pm 0,59
VCT (kcal/100g)	17,08 \pm 1,19	20,98 \pm 6,45	113,57 \pm 30,81	107,15 \pm 22,91

ND = Não detectado pelo método de análise

Tabela 4. Média (\pm DP) dos índices de desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei*, durante 30 dias de berçário em sistema heterotrófico, com e sem (controle) a adição de probiótico na água.

Índices	Tratamentos	
	Probiótico	Controle
Sobrevivência (%)	92,17 \pm 7,28	80,50 \pm 19,79
Biomassa final (g)	130,65 \pm 15,37	113,28 \pm 46,37
Peso médio (g)	0,72 \pm 0,15	0,68 \pm 0,17
Crescimento (g/semana)	0,16 \pm 0,03	0,15 \pm 0,04
Consumo de ração (g)	110 \pm 0,00	110 \pm 0,00
Fator de conversão alimentar (FCA)	0,85 \pm 0,09	1,13 \pm 0,60

4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, M.P.; FRÓES, C.N.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; WASIELESKY Jr., W.; CAVALLI, R.O. Substituição da farinha de peixe por farelo de soja em dietas práticas para o camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*). **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 219-224, 2008.

ABREU, P.C.; BALLESTER, E.L.C.; ODEBRECHT, C.; WASIELESKY, W.J.; CAVALLI, R.O.; GRANÉLI, W.; ANESIO, A.M. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 347, p. 88–96, 2007.

AGUIRRE-GUZMÁN, G.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R. & ASCENCIO, F. Efecto de diferentes espécie de *Vibrio* sobre la sobrevivencia larval del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). **Panorama Acuicola**, v. 7, n. 5, p. 18-19, 2002.

A.P.H.A/A.A.W.W.A/W.E.F. (Ed). Standard methods for the examination of water and waste water. **Washington**: 1995. v. 19 a.

APEX - Brasil (Agência Brasileira para Exportação). Disponível em <<http://www.apex-brasil.com.br/>>. Acesso em 20 de Maio de 2007.

ARANTES, R.F. O efeito da relação Carbono-Notrogênio sobre a comunidade microbiana no cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei* sem renovação. **Dissertação de mestrado**. Pós-graduação em aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

ARNOLD, S.J.; SELLARS, M.J.; CROCOS, P.J.; COMAN, G.J. Intensive production of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon*: an evaluation of stocking density and artificial substrates. **Aquaculture**, v. 261, p. 890 – 896, 2006b.

AUSTIN, B.; STUCKEY, L.F.; ROBERTSON, P.A.; EFENDI, I.; GRIFFITH, D.R.W. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. **Journal of Fish Diseases**. v. 18, p. 93–96, 1995.

- AVINIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**. v. 176, p. 227-235, 1999.
- AVINIMELECH, Y. Estanques con suspension ativada. Sistemas de re-uso microbiano. **Boletín Nicovita**. v. 7, p. 01, 2002.
- BALCÁZAR, J.L.; BLAS de, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J.L. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**. v. 114, p. 173-186, 2006.
- BALLESTER, E.L.C.; WASIELESKY, W.J.; CAVALLI, R.O.; SANTOS, M.H.S.; ABREU, P.C. Influência do biofilme no crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em sistemas de berçário. **Atlântica**. v. 25, p. 117–122, 2003.
- BALLESTER, E.L.C.; WASIELESKY, W.J.; CAVALLI, R.O.; ABREU, P.C. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. **Aquaculture**. v. 269, p. 355–362, 2007.
- BHASKAR, N., SUDEEPA, E.S., RASHMI, H.N.; SELVI, A.T. Partial purification and characterization of protease of *Bacillus proteolyticus* CFR 3001 isolated from fish processing waste and its anti-bacterial activities. **BioresourceTechnology**. v. 98, p. 2758–2764, 2007.
- BOMBA, A.; NEMCOVÁ, R.; GANCARCIKOVÁ, S.; HERICH, R.; GUBA, P.; MUDRONOVAL, D. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**. v. 88, p. 95-99, 2002.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Aquaculture water quality managment. **Kluwer Academic Publishers**, Boston, Massachusetts. p. 700, 1998.
- BRATVOLD, D.; BROWDY, C.L. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMatsTM) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system, **Aquaculture**. v. 195, p. 81-94, 2001.

BROWDY, C.L.; BRATVOLD, D.; STOKES, A.D.; MCINTOSH, R.P. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. *In*: BROWDY, C.L.; JORY, D.E., (Ed.). *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture. Aquaculture*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 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, 2003.

BURFORD, M.A.; THOMPSON, P.J.; MCINTOSH, R.P.; BAUMAN, R.H.; PEARSON, D.C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high intensity, zero-exchange system. *Aquaculture*. v. 232, p. 525-537, 2004.

CHIU, C.H.; GUU, Y.K.; LIU, C.H.; PAN, T.M.; CHENG, W. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. *Fish Shellfish Immunol*. v. 23, p. 364–377, 2007.

COWEY, C.B.; CHO, C.Y. Nutritional strategies and aquaculture waste. *In*: CHO, C.Y.; COWEY, C.B., (Ed.). *Proceedings of the 1st International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Wastes using biological approaches*. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, p. 275–276, 1991.

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

DALL, W.; HILL, B.J.; ROTH LISBERG, P.C.; STAPLES, D.J. The biology of the *Penaeidae*. *In*: BLAXTER, J.H.S.; SOUTHWARD, A.J. (ed.) *Advances in marine biology*. v. 27, p. 159-211, 1990.

D'INCAO, F. Pesca e biologia de *Penaeus paulensis* na Lagoa dos Patos, RS. *Atlântica*. v. 13, p. 159-169, 1991.

D'INCAO, F.; VALENTINI, H.; RODRIGUES, L.F. Avaliação da pesca de camarões nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. 1965-1999. **Atlântica**. v.24, p. 49-62, 2002.

DOWNES, M.P.; ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association (APHA)**. 4th edition, Washington. 2001

EMERENCIANO, M.G.C.; WASIELESKY, Jr.W.; SOARES, R.B.; BALLESTER, E.C.; IZEPPI, E.M.; CAVALLI, R.O. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum Biological Sciences** v. 29, n 1, p. 1-7, 2007.

FARZANFAR, A. The use of probiotics in shrimp aquaculture. **Imunology Medical Microbiology**. v. 48, p. 149-158, 2006.

FAO - Fishery Information, Data and Statistics Unit (FIDI). Fishery Statistical Collections. FIGIS Data Collection c2002, 2007. FAO-, Rome. Updated March 2007. Available via FIGIS from: <[http://www.fao.org/figis/servlet/static?](http://www.fao.org/figis/servlet/static?dom=collection&xml=global-aquaculture-production.xml)> dom=collection & xml=global-aquaculture-production.xml.

FRÓES, C.N. Efeitos de dietas práticas com diferentes níveis de proteína na sobrevivência e crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967). **Dissertação de Mestrado**. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande do Sul - Brasil, 2006.

FULLER, R. History and development of Probiotics. In: Fuller, R. (Ed.). *Probiotics: the scientific basis*. New York: R. Chapman & Hall, cap 1, p. 1-8, 1992.

GOLTERMAN, H.J., CLYMO, R.S., OHNSTAD, M.A.M. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. London, **Blackwell Science Publishing**. p. 214 (IBP Handbook, 8), 1978.

GOMEZ-GIL, B., ROQUE, A., TURNBULL, J.F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. **Aquaculture**. v. 191, p. 259-270, 2000

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

- Vogeley, F. Berçário Experimental de Camarões Marinhos... 60
- GRIFFITH, D.R.W. Microbiology and the role of probióticos in equatorian shrimp hatcheries. *In: LAVENS, P.E. e ROELANDS, I. (Ed.) LARVI'95 – Fish and shellfish larviculture symposium, European Aquaculture society. Special Publication, v. 24, p. 478, 1995.*
- GULLIAN, M.; THOMPSON, F.; RODRIGUEZ, J. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. v. 233, p. 1-14, 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 World Aquaculture Society**. v. 24, p. 304 – 320, 1993.
- HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Disease control in shrimp aquaculture from a microbial ecology perspective. *In: BROWDY, C.L.; JORY, D. (Ed.) Proceedings of the special session on sustainable shrimp farming, May 22–25. The World Aquaculture Society. Batson Ridge, Louisiana, USA, p. 199–218, 2001.*
- HOROWITZ, S.; HOROWITZ, A. Microbial intervention in aquaculture. *In: LEE, C.S.; O'BRYEN, P. (Ed.) Proceedings of Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA, p. 119–131, 2002.*
- HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Biosecurity, biofiltration and microbiological community role in sustainable shrimp farming, *In: JORY, D.E., (Ed.) Proceedings of a Special Session on Shrimp Farming. Responsible Aquaculture for a Secure Future. The World Aquaculture Society. Batson Ridge, Louisiana, USA, p. 157–165, 2003.*
- IRIANTO, A., AUSTIN, B. Probiotics in aquaculture. **Journal Fish Diseases**. v. 25, p. 633-642, 2002.
- KOROLEFF, F. Determination of nutrients. *In: GRASSHOFF, K. (ed.) Methods of seawater analysis. Verlag Chemie Weinheim. p. 117-187, 1976.*

LAVILLA-PITOGO, C. R.; LEANO, E. M.; PANER, M. G. Mortalities of pond culture juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with the dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. **Aquaculture**. v. 164, p. 337-349, 1998.

LIGHTNER, D.V. Diseases of penaeid shrimp. In: MCVEY, J.P. (Ed.). CRC Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture. **CRC Press**. p. 393–486, 1993.

LIGHTNER, D.V. Disease of culture penaeid shrimp. In: Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture. **CRC Press**, 1993

LIGHTNER, D.V. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. In: LIGHTNER, D.V. (Ed.). **World Aquaculture Society**. Baton Rouge, LA, USA, p. 305, 1996.

LIN, H.Z.; GUO, Z.; YANG, Y.; ZHENG, W.; LI, Z.J. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. **Aquaculture**. v. 35, p. 1441-1447, 2004.

LIU, C.H.; CHIU, C.S.; HO, P.L.; WANG, S.W. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. **Journal of Applied Microbiology**. v. 107, p. 1031–1041, 2009.

MACKERETH, F.J.H., HERON, J., TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. London, **Scientific Public**. v. 36. p. 212, 1978.

MAIA, E.P.; NUNES, A.J.P. Cultivo de *Farfantepenaes subtilis*, resultados das performances de engorda intensiva. **Panorama da Aquicultura**. v. 13 (79), p. 36-41, 2003.

MCINTOSH, D.; SAMOCHA, T.M.; JONES, E.R.; LAWRENCE, A.L.; MCKEE, D.A.; HOROWITZ, S.; HOROWITZ, A. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. **Aquaculture Engineering**. v. 21, p. 215–227, 2000.

MORIARTY, D.J.W. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. **Aquaculture**. v. 164, p. 351-358, 1998.

MORIARTY, D.J.W. Diseases Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. Microbial Biosystems: New Frontiers Proceedings of the 8th 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. (Ed.). Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems. Baton Rouge: **The World Aquaculture Society**. p. 1-18, 2002.

MOSS, S.M.; FORSTER, I.P.; TACON, A.G.J. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. **Aquaculture**. v. 258, p. 388–395, 2006.

NUNES, A.J.P.; GESTEIRA, T.C.V.; GODDARD, S. Food ingestion and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**. v. 149, p. 121-136, 1997.

NUNES, A.J.P.; SANDOVAL, P.F.C. Dados de produção e qualidade de água de um cultivo comercial semi-intensivo dos camarões *Penaeus subtilis* e *P. vannamei* com a utilização de bandejas de alimentação. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 24 (especial), p. 221-231, 1997.

NUSCH, E.A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. **Archiv Hydrobiologie Beih Ergeb Limnology**. v. 14, p. 14-36, 1980.

OCHOA-SOLANO, J.L., OLMOS-SOTO J. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. **Aquaculture**. v. 23, p. 519-525, 2006.

PEIXOTO, S.M.; WASIELESKY Jr., W.; LOUZADA Jr., L. Comparative Analysis of Pink Shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Culture in Extreme Southern Brazil. **Journal of Applied Aquaculture**. v. 14, p. 101-111, 2003.

ROSENBERRY, B. World shrimp farming. **Shrimp News International**. San Diego, California, USA, v. 13, 2001.

PEIXOTO, S.M.; WASIELESKY Jr., W.; LOUZADA Jr., L. Comparative Analysis of Pink Shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Culture in Extreme Southern Brazil. **Journal of Applied Aquaculture**. v. 14, p. 101-111, 2003.

SAMOCHA, T.M. Heterotrophic intensification of pond shrimp production. *In*: Fifth International Conference on Recirculating Aquaculture. Roanoke, p. 40-48, 2004.

SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R.V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**. v. 36, p. 184-191, 2007.

SANCHÉS, D.; ZAPATA, L.M. Consideraciones para el manejo de bacterias en cultivos intensivos de camaron. **Boletín Nicovita**. v. 7, p. 40, 2002.

SANDIFER, P.A.; HOPKINS, J.S.; STOKES, A.D.; BROWDY, C.L. Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *P. vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. **Journal World Aquaculture**. v. 24, n. 3, p. 295–303, 1993.

SKJERMO, J.E.; VADSTEIN, O. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. **Aquaculture**. v.177, p.333-343, 1999.

TABBU, M.Y. Los efectos benéficos de un producto sobre químicos seleccionados y parámetros de crecimiento en aguas de estanques de *Penaeus monodon*. *In*: World Aquaculture, 1997. Washington. *Anais...* Washington: **World Aquaculture**. p. 19-23, 1997.

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

THOMPSON, F.L.; ABREU, P.C.; WASIELESKY, W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture**. v. 203, p. 263–278, 2002.

- Vogeley, F. Berçário Experimental de Camarões Marinhos... 64
- THOMPSON, J. T ; POLTZ, M. F. Dynamics of *Vibrio* population and their role in environmental nutrient cycling. In: Biology of *Vibrios* (ed. By Thompson, F. L.; Austin, B.; Swings, J.) p. 190-203. **ASM Press**, Washington D.C. 2006.
- 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.
- VITA, G.Q.L.; BALLESTER, E.L.C.; FRÓES, C.; MORIARTY, D.J.W.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.Jr. Effect of probiotic use in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Submetido à dissertação de mestrado**. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, 2008.
- VOGELEY, F.; ALVES, E.; VOGLEY, J.; CARDOSO, L.; MENDES, M.; CAVALLI, R.; SOARES, R.; PEIXOTO, S. Comparative Analysis of the Culture of *Litopenaeus vannamei* and *Farfantepenaeus subtilis* in Heterotrophic System. **Resumo em Congresso**, World Aquaculture Society, 2009.
- WANG, Y. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. v. 259, p. 259-264, 2007.
- WASIELESKY Jr., 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, 2006.
- ZENGER Jr., H. H.; AGNES J. L. Distribuição do camarão-rosa *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis* ao longo da costa sudeste e sul do Brasil. IBAMA. Brasília, Brasil. **Série Documento Técnico**. v. 21: p. 105, 1977.
- ZIAEI-NEJAD, S., REZAEI, M.H., TAKAMI, G.A., LOVETT, D.L., MIRVAGHEFI, A.R., SHAKOUORI, M. The effect of *Bacillus spp.* bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**. v. 252, p. 516-524, 2006.

ANEXO

Revista *Ciência Rural*

Site: <http://www.ufsm.br/ccr/revista/>

ISSN: 0103/8478 **Fator de impacto:** 0.1483

Normas

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica, editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 (210 x 297mm), com no máximo, 25 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações.** Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for necessário o uso deve aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas** (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

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

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

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

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes

concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. Transgênicos. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda. Também devem apresentar a seguinte formatação que se encontra nesse exemplo.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outros expedientes poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.