



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**  
**PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

**HASSAN SABRY NETO**

**VALOR NUTRICIONAL DE FLOCOS MICROBIANOS E RAÇÕES VEGETAIS**  
**PARA O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DO CAMARÃO BRANCO,**  
*Litopenaeus vannamei*

**FORTALEZA 2015**

**HASSAN SABRY NETO**

**VALOR NUTRICIONAL DE FLOCOS MICROBIANOS E RAÇÕES VEGETAIS  
PARA O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DO CAMARÃO BRANCO,  
*Litopenaeus vannamei***

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto  
Nunes

**FORTALEZA 2015**

**HASSAN SABRY NETO**

**VALOR NUTRICIONAL DE FLOCOS MICROBIANOS E RAÇÕES VEGETAIS  
PARA O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DO CAMARÃO BRANCO,  
*Litopenaeus vannamei***

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Sandra Tédde Santaella  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. José Arlindo Pereira  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

---

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

A Deus.

A minha mãe, Maria do Brazão, e a minha família Ana Raphaela, Hayssa, Juan e Filipe, meus maiores incentivadores, que acreditaram no meu potencial, e me apoiaram nos momentos em que mais precisei para concluir esse trabalho.

Aos meus irmãos, Charles, Fernando, Rachel, Adriana e Munira, pelo carinho, apoio, motivação, cumplicidade e incentivo.

Vocês são demais!!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tornar possível a concretização de mais uma benção na minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes, pelo valioso apoio e confiança, por ter aceitado me orientar e pelos ensinamentos a mim dedicados.

À minha esposa Ana Raphaela, pelo amor, compreensão e apoio.

Aos meus filhos Hayssa, Juan e Filipe pela alegria, incentivo para realização do trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Labomar-UFC (Leandro, Sandra, Júnior, Saulo, Pedro, Carolina, Nina, Felipe, Vitor, Ricardo), pelo auxílio no estudo de laboratório e pelos momentos de descontração.

Aos discentes do Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água do Labomar-UFC (Clara, Willime, Hesse, Gutemberg, Yuri, Francisco e Rosa) pelo apoio durante a excursão do trabalho.

À minha irmã Rachel, pelo grande incentivo e apoio prestado.

A todos aqueles que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a finalização do trabalho.

Ao Prof. Dr. Daniel Eduardo Lemos do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo pela valiosa contribuição e apoio durante a pesquisa.

À Prof. Dra. Sandra Tédde Santaella pelo apoio, participação e contribuição no presente projeto.

Ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) pelo apoio de infraestrutura concedida para viabilização das etapas do presente projeto.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo suporte financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

## RESUMO

O setor aquícola vem procurando alternativas para minimizar os custos de produção e os efeitos da descarga de efluentes através da substituição da farinha de peixe por flocos microbianos e ingredientes vegetais. O objetivo desse trabalho foi avaliar o valor nutricional de flocos bacterianos, ingredientes vegetais e o efeito da taxa alimentar sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, cultivado sem troca d'água, na presença de bioflocos. A primeira fase comparou a biodisponibilidade de proteína bruta e gordura a partir de refeições com flocos microbianos, usando água de cultivo de camarão e água do mar limpa. Foi observado que as refeições de bioflocos continham alto conteúdo de cinzas (649,2 – 591,0 g/kg) e baixa proteína bruta (95,9 – 137,3g/kg). A sobrevivência final dos camarões foi de  $93,2 \pm 0,8\%$  e o ganho de biomassa de  $37,1 \pm 1,8\text{g/tanque}$ . O peso corporal final dos camarões variou de  $9,01 \pm 0,15$  a  $9,45 \pm 0,13\text{g}$ . Os bioflocos produzidos com água residual de cultivo de camarões ou água do mar limpa através de sequencia de reatores apresentaram baixo conteúdo de proteína disponível para juvenis de *L. vannamei*. Apesar dos baixos níveis de gordura estar presentes, foi provado ser altamente disponível para a espécie. A inclusão da farinha de biofloco na dieta pareceu ter um efeito promotor no crescimento o qual pode estar associado com minerais traços, ou outros nutrientes. A segunda fase avaliou os efeitos da taxa de proteína de soja, conteúdo lipídico e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais sobre o desempenho do crescimento e digestibilidade de *L. vannamei*. As dietas baseadas em ingredientes vegetais variaram na farinha de soja (SBM) e concentrado proteico de soja (SPC) e nos conteúdos lipídicos na dieta. Uma dieta de farinha de subproduto de salmão foi usada como controle. A farinha de Krill foi incluída em um novo grupo de dietas a base de ingredientes vegetais. Nos tanques de água limpa, nenhum efeito na taxa de SBM:SPC e conteúdo lipídico foram detectados na sobrevivência dos camarões. Entretanto os níveis de lipídios na dieta de 80 e 121 g/kg combinada com uma alta SPC a SBM resultou no menor peso corporal final e mais pobre digestibilidade da proteína bruta, respectivamente. A inclusão da farinha de krill nas dietas vegetais melhorou a alimentação a apenas 10g/kg da dieta, enquanto a 20 g/kg acelerou o crescimento do camarão, incrementou o rendimento e reduziu o Fator de Conversão Alimentar (FCA). A terceira fase avaliou o desempenho zootécnico do camarão branco *L. vannamei* cultivado em sistema heterotrófico. O trabalho foi realizado em duas etapas: (1) período chuvoso e (2) seco. Camarões com peso de  $3,69 \pm 0,68\text{ g}$  ( $n = 240$ ) e  $2,13 \pm 0,51\text{ g}$  ( $n = 300$ ) foram submetidos a aumentos progressivos na taxa alimentar. No cultivo foram medidos os parâmetros de qualidade de água. Nas duas etapas de cultivo os camarões foram alimentados com uma dieta contendo 235g/kg de proteína bruta e melaço. A sobrevivência, produtividade, peso corporal final, crescimento semanal e o FCA, foram obtidos na despesca. Houve um aumento dos sólidos sedimentáveis e totais à medida que ocorreu o incremento da taxa alimentar nos tratamentos, incluindo os tanques controle, sugerindo que o biofloco pode ter contribuído para o melhor desempenho dos animais. Nas duas etapas de cultivo houve um aumento significativo no ganho de peso final ( $9,84 \pm 1,79$  e  $10,45 \pm 1,55\text{g}$ ) e no crescimento ( $0,70 \pm 0,01$  e  $0,82 \pm 0,05\text{g}$ ), a partir do aumento da ração. O FCA aumentou, porém não foi observada diferença estatística entre os tratamentos no período chuvoso, no entanto no período seco houve diferença estatística entre os tratamentos de 153% e 52% e entre o controle. A avaliação do efeito da taxa alimentar sobre o desempenho de juvenis de *L. vannamei*, cultivados em sistema heterotrófico, e alimentados com aumentos gradativos de ração, mostrou melhoria no desempenho zootécnico dos animais.

**Palavras-chave:** bioflocos, camarão branco do Pacífico, digestibilidade, ingrediente vegetal, sistema heterotrófico, desempenho zootécnico.

## ABSTRACT

The aquaculture industry is looking for alternatives to minimize production costs and the impact of wastewater discharge through the replacement of fishmeal by microbial flocs, vegetable ingredients and the effect of feed rate on the performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, farmed without exchange of water in the presence of microbial flakes. The aim of this study was to evaluate the nutritional value of microbial flocs and vegetable ingredients in the diet of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. The first phase compared the bioavailability of crude protein and fat from meals with microbial flocs, using shrimp farming water and clean sea water. It was observed that microbial flocs meals contained high content of ash (from 649.2 to 591.0 g / kg) and low crude protein (95.9 - 137.3g / kg). The final survival of shrimp was  $93.2 \pm 0.8\%$  and the biomass gain of  $37.1 \pm 1.8$  g / tank. The final body weight of shrimp ranged from  $9.01 \pm 0.15$  to  $9.45 \pm 0.13$  g. The microbial flocs produced with waste water from shrimp farming or clean sea water through sequence reactors had low protein content available for juvenile *L. vannamei*. Despite the low levels of fat were present, they have proven to be highly available for the species. The inclusion of microbial flake meal in the diet seemed to have a growth promoting effect which may be associated with trace minerals or other nutrients. The second phase assessed the effects of the soy protein rate, lipid content and minimum level of krill in meals based on vegetable ingredients on the growth performance and digestibility of *L. vannamei*. The diets based on plants ranged in soybean meal (SBM) and soy protein concentrate (SPC) and in lipid content in the diet. A salmon by-product meal diet was used as control. The krill meal was included in a new group of diets based on plant ingredients. In clean water tanks, no effect on the SBM:SPC rate and lipid content was detected in the survival of shrimp. However lipid levels in the diet of 80 and 121 g / kg combined with a high SPC SBM resulted in lower final body weight and poorer digestibility of crude protein, respectively. The inclusion of krill meal in vegetable diets improved the feeding only 10 g / kg of diet, while 20 g / kg accelerated the shrimp growth, increased the yield and reduced FCR. The third phase evaluated the growth performance of the white shrimp *L. vannamei* farmed in a heterotrophic system. The work was carried out in two steps: (1) rainy season and (2) dry season. Shrimps weighing  $3.69 \pm 0.68$  g (n = 240) and  $2.13 \pm 0.51$  g (n = 300) were submitted to progressive increasing in meal of 40%, 54%, 81%, 84 % and 113% and 52%, 77%, 98%, 127% and 153% in steps 1 and 2, respectively. In the culture, the water quality parameters were measured. In this two-step farming, the shrimps were fed with a diet containing 235g / kg of crude protein and molasses. The survival, yield, final body weight, weekly growth and feed conversion factor (FCR) were obtained at harvesting. There was an increase in sedimentary and total solids with the increasing of the feeding rate in the treatments, including the control tanks, suggesting that microbial flakes may have contributed to the better performance of the animals. In both steps of farming, there was a significant increase in the final body weight gain ( $9.84 \pm 1.79$  and  $10.45 \pm 1.55$ g) and in the growth ( $0.70 \pm 0.01$  and  $0.82 \pm 0.05$ g), from the gradual increasing of the feed. The FCR increased, however, no statistical difference was observed between the treatments in the rainy season, however, in the dry season, there was statistical difference between treatments of 153% and 52% and with the control. The evaluation of the effect of feed rate on the performance of juvenile of *L. vannamei* farmed in heterotrophic system and fed with gradual increasing of feed, showed have improved the growth performance of the animals.

**Keywords:** biofloc, Pacific white shrimp, digestibility, plant ingredients, heterotrophic system, growth performance.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Desenho esquemático do sistema de lodos ativados utilizado em escala de laboratório..... 33

**Figura 2.** Peso corporal final de juvenis de *L. vannamei* após 26 dias de cultivo em um sistema com recirculação e filtragem contínua de água. REF (referência), BFL-W (dieta contendo 300 g/kg de bioflocos produzidos a partir de água residual), BFL-C (dieta contendo 300 g/kg de bioflocos produzidos com água do estuário limpa) e NEG (controle negativo). Colunas com as mesmas letras indicam diferença estatística não significativa de acordo com o teste de Tukey HSD ao nível de significância de 0,05 ..... 41

### CAPÍTULO II

**Figura 1.** Peso corporal final dos juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais durante 73 dias, sob sistema de cultivo com água limpa. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa entre as dietas experimentais ao nível de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD. Letras maiúsculas se referem à relação SBM:SPC dentro do mesmo conteúdo lipídico da dieta, enquanto letras minúsculas, vice-versa. Asterisco indica diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ )..... 61

**Figura 2.** Peso corporal final de juvenis de *L. vannamei* alimentados por 72 dias com dietas vegetais com níveis mínimos de inclusão de farinha de Krill. Letras iguais denotam diferenças estatísticas não significativas entre as dietas experimentais com um nível de significância de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD..... 65

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Sólidos sedimentáveis (mL/L) na água de tanques intensivos estocados com 100 camarões/m<sup>3</sup> e submetidos a aumentos progressivos na oferta de ração durante um ciclo de cultivo do *L. vannamei* de 63 e 72, dias no período chuvoso (A) e seco (B). Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de  $\alpha = 0,05$  segundo o teste de Tukey HSD ..... 85

**Figura 2.** Dinâmica da concentração média ( $\pm$  erro padrão) de sólidos suspensos totais (SST, mg/L) e sólidos suspensos voláteis (SSV, mg/L) ao longo de dois cultivos do *L. vannamei* em regime intensivo, sem troca d'água, na presença de bioflocos, durante o período chuvoso (A) e seco (B). Cada ponto representa a média de seis leituras ..... 87

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1** – Concentração de micronutrientes, em parte da solução usada para produzir bioflocos com água do estuário estéril e água residual de cultivo de camarão ..... 34

**Tabela 2** – Composição (em g/kg na base natural ) das dietas experimentais usadas para avaliar a digestibilidade *in vivo* da farinha de bioflocos para juvenis de camarão branco do Pacífico ..... 37

**Tabela 3** – Análise bromatológica ( em g/kg na base seca) da farinha de bioflocos produzidos em reatores usando água residual de tanques de cultivo de camarão branco do Pacífico e água do mar limpa..... 40

**Tabela 4** – Conteúdo de proteína bruta e gordura e coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de dietas contendo farinha de bioflocos produzidos com água residual de cultivo de camarão (BFL-W) e com água do estuário limpa (BFL-C). O controle negativo (NEG) continha 70% da dieta referência (REF) e 30% de farinha de resíduos de peixes ..... 42

### CAPÍTULO II

**Tabela 1** – Ingredientes e composição bromatológica das dietas vegetais ..... 54

**Tabela 2** – Composição das dietas baseadas em ingredientes vegetais com o mínimo de inclusão de farinha de krill ..... 57

**Tabela 3** – Desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais, por 72 dias, sob um sistema de cultivo com água clara. Asteriscos (\*) indicam diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ ) ..... 60

**Tabela 4** – Coeficientes da digestibilidade aparente (CDA) da proteína, lipídio e energia de dietas vegetais para juvenis de *L. vannamei*. Letras minúsculas denotam diferenças não significativas entre as dietas ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ , pelo teste de Tukey HSD. Letras maiúsculas se referem a comparações entre as relações SBM:SPC dentro de um mesmo conteúdo lipídico da dieta, enquanto as minúsculas, vice-versa. Asteriscos (\*) indeicam diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ )....63

**Tabela 5** – Desempenho de juvenis do *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais contendo níveis mínimos de farinha de Krill. Os camarões foram cultivados por 72 dias sob condições de água clara, em um sistema de recirculação. Letras iguais denotam diferença estatística não significativa entre as dietas ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD..... 64

### **CAPÍTULO III**

**Tabela 1** – Tabela alimentar utilizada no presente estudo..... 81

**Tabela 2** – Perfil bromatológico (g/kg de peso seco) dos ingredientes utilizados na ração experimental para o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema heterotrófico..... 82

**Tabela 3** – Desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* submetidos a aumentos progressivos na refeição alimentar, cultivado durante 63 e 72 dias em tanques de 1 m<sup>3</sup> sem troca d'água em regime heterotrófico em período chuvoso e seco, respectivamente. Valores representam a média  $\pm$  desvio padrão de quatro tanques de cultivo. Peso corporal final (g) indica a média da pesagem individual de todos os camarões despescados. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de  $\alpha = 0,05$  segundo o teste de Tukey HSD..... 90

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	Molibdato de amônio
ACLD	Digestibilidade aparente do lipídio bruto
ACPD	Digestibilidade aparente da proteína bruta
ADCs	Coeficiente de digestibilidade aparente ( <i>Aparente apparent digestibility coefficient</i> )
AGED	Digestibilidade aparente da energia bruta
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemistry
BFL-C	Água do estuário limpa
BFL-W	Água residual de cultivos experimentais de camarão
$\text{CaCl}_2$	Cloreto de Cálcio
CF	Fibra bruta
$\text{CoCl}_2$	Cloreto de cobalto
CP	Proteína bruta
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	Óxido de cromo
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	Óxido de cromo
$\text{CuCl}_2$	Cloreto de cobre
EAA	Aminoácidos essenciais
FAO	Food and Agriculture Organization
FCA	Fator de Conversão Alimentar
$\text{FeCl}_2$	Cloreto de ferro
GA	Ácidos graxos
GE	Energia bruta
GESAMP	Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection
$\text{H}_3\text{BO}_4$	Ácido bórico
$\text{K}_2\text{PO}_4$	Fosfato de potássio
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
Lys	Lisina
MB	Matéria seca
MBR	Reator de membrana biológica
Met	Metionina

MgSO <sub>4</sub>	Sulfato de magnésio
NEAA	Aminoácidos não essenciais
NEG	Controle negativo
NH <sub>4</sub> Cl	Cloreto de amônio
NRC	National Research Council
P	Fósforo
REF	Dieta referência
SBM	Farinha de soja
SBR	Sistema de reatores em batelada
SPC	Concentrado proteico de soja
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titânio
Yb(c <sub>2</sub> h <sub>3</sub> o <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	Acetato de itérbio
ZnCl <sub>2</sub>	Cloreto de zinco

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
2.1 Produção de biofloco em sistema heterotrófico.....	20
2.2 Produção de bioflocos em sistema de reatores .....	22
2.3 Utilização de ingredientes vegetais nas dietas para camarões .....	22
2.4 Digestibilidade de ingredientes animais e vegetais utilizados nas dietas .....	25
<b>CAPÍTULO I</b> .....	28
Biodisponibilidade de proteína bruta e gordura da farinha de biofloco produzida em reatores sequenciais em batelada para o camarão branco, <i>Litopenaeus vannamei</i>	
<b>RESUMO</b> .....	29
<b>ABSTRACT</b> .....	30
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
Local de estudo e operação dos reatores em batelada .....	32
Preparação do sistema de bioflocos e amostragem.....	33
Digestibilidade <i>in vivo</i> do biofloco .....	35
Alimento, sistema de cultivo e alimentação .....	35
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>CONCLUSÕES</b> .....	43
<b>REFERÊNCIAS</b> . .....	43
<b>CAPÍTULO II</b> .....	47
Efeito da relação dietética de proteínas da soja, conteúdo lipídico e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais no desempenho zootécnico e digestibilidade do camarão branco <i>Litopenaeus vannamei</i> .	
<b>RESUMO</b> .....	48
<b>ABSTRACT</b> . .....	49
<b>INTRODUÇÃO</b> . .....	50
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	51
Desenho experimental.....	51
Local de estudo, sistema de cultivo e manejo.....	51
Dietas. ....	53
Desempenho zootécnico, digestibilidade e análises estatísticas. ....	58

<b>RESULTADOS</b> .....	59
<b>DISCUSSÃO</b> .....	65
<b>CONCLUSÃO</b> .....	69
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	70
<b>CAPÍTULO III</b> .....	75
Avaliação do efeito da taxa alimentar sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão branco, <i>Litopenaeus vannamei</i> , cultivado em regime intensivo, sem troca d'água, na presença de bioflocos.	
<b>RESUMO</b> .....	76
<b>ABSTRACT</b> .....	77
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	78
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	79
Local de estudo.....	79
Montagem do sistema de cultivo e fertilização da água de cultivo .....	79
Povoamento do sistema, manejo e tratamentos experimentais.....	80
Monitoramento da qualidade de água.....	81
Cultivo, alimentação, desempenho zootécnico e análises estatísticas.....	82
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	83
<b>CONCLUSÕES</b> .....	91
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
<b>3. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	94
<b>4. REFERÊNCIAS GERAIS</b> .....	95

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo estimativas da FAO (2014) a produção aquícola mundial continua a crescer embora a uma taxa mais lenta. Dados estatísticos mostram que a aquicultura mundial atingiu 90,4 milhões de ton. em 2012, sendo 66,6 milhões de toneladas de pescado que inclui peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos e 23,8 milhões de toneladas de algas aquáticas. Ainda segundo a FAO (2014), entre os anos de 1980 a 2012, o volume da produção mundial proveniente da aquicultura aumentou a uma taxa média de 8,6% ao ano.

O cultivo de camarão marinho se expandiu significativamente nas últimas três décadas, tendo desempenhado um papel de grande importância na economia mundial, não só pela geração de empregos, mas também pelo volume produzido. Em 2007, a carcinicultura apresentou um incremento anual em torno de 21%. Essa expansão foi atribuída ao cultivo do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*. Em 1998, a produção da espécie respondia por apenas 10% da produção mundial de camarão cultivado, mas em 2007 alcançou 75% da produção global (WIBAN, 2007).

Com o crescimento da aquicultura, tornou-se necessário um aumento na produção de ingredientes utilizados para produção de alimentos para o setor produtivo. Entre esses ingredientes, estão os de origem animal, como a farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farinha de vísceras, farinha de sangue e também os de origem vegetal, como o farelo de soja, milho, trigo e seus subprodutos, entre outros.

Historicamente, a farinha de peixe tem sido uma das principais fontes de proteína de origem animal utilizada na composição de rações para alimentação de camarão marinho (AMAYA; DAVIS; ROUSE, 2007a). No entanto, nos últimos anos, esse ingrediente teve uma queda na sua produção, passando de 30,2 milhões de toneladas em 1994 para 16,3 milhões em 2012. A redução na disponibilidade de farinha de peixe está diretamente relacionada à baixa captura de peixes utilizados na sua fabricação. Como resultado, a utilização de subprodutos da pesca e do processamento de pescado na elaboração de farinha de peixes aumentou em 2012 (FAO, 2014).

No cultivo de camarões, a alimentação pode representar mais da metade do custo de produção. A proteína é o nutriente mais caro empregado na fabricação de rações e assim considerado um dos entraves para uma maior expansão do setor (KURESH; DAVIS, 2002). Em algumas rações comerciais para camarões, o uso de farinha de peixe como fonte de proteína pode ser elevado. Como consequência, a procura por ingredientes alternativos que

possam substituí-la tem aumentado (MACIAS-SANCHO *et al.*, 2014). Além disso, uma parcela da proteína bruta contida na ração não é incorporada à biomassa do camarão, sendo perdida no ambiente de cultivo na forma de ração não-consumida, fezes e excretas nitrogenadas. Este processo causa prejuízos econômicos e ambientais nos cultivos autotróficos de camarões marinhos (BOYD *et al.*, 2007). A grande quantidade de descarga dos efluentes por parte da aquicultura para os estuários é um grande problema para o sistema tradicional de cultivo.

Nesse contexto, nos últimos anos, o setor aquícola vem procurando alternativas para minimizar os custos de produção e os efeitos da descarga de efluentes através da substituição da farinha de peixe por ingredientes vegetais, do cultivo de camarões em meio heterotrófico e da produção de bioflocos em sistema de reatores (biomassa bacteriana ou flocos bacterianos).

Os camarões peneídeos possuem um hábito alimentar variado durante a sua vida, sendo herbívoro na fase juvenil e passando de maneira gradativa a uma alimentação carnívora na fase adulta. No trato digestivo dos camarões há relatos de materiais de origem vegetal, como sementes. Portanto, a substituição da farinha de peixe por ingredientes de origem vegetal na ração, para diminuir os custos de produção, tem sido uma alternativa estudada por pesquisadores em todo o mundo.

Nos últimos anos, com a redução na produção de farinha de peixe aliado ao seu elevado custo, houve um incremento em pesquisas com ingredientes de origem vegetal, como a soja, a qual apresenta ótima digestibilidade, preço acessível e disponibilidade no mercado para atender a demanda da indústria. No entanto, essa matéria prima é deficiente em alguns aminoácidos essenciais (metionina e lisina), considerados importantes para um melhor desempenho zootécnico do camarão (NUNES *et al.*, 2014). Outros ingredientes vegetais também vêm sendo testados com o objetivo de reduzir a utilização de farinha de peixe e, portanto, diminuir os custos de produção. Entre esses estão, além da soja, o farelo de canola, o milho, o sorgo, o concentrado de arroz, o glúten de trigo, entre outros.

A utilização de flocos microbianos, formados nos sistemas heterotróficos, é um dos tratamentos de águas residuárias empregados na aquicultura. Esse sistema se caracteriza pela pouca ou nenhuma troca de água no cultivo, promovendo a elevação da relação carbono x nitrogênio da água. Esta condição favorece o desenvolvimento de flocos bacterianos os quais são capazes de decompor e metabolizar a matéria orgânica no ambiente de cultivo, exercendo significativo efeito auto-limpante do meio e servindo como fonte de alimento de

alto valor biológico para os camarões cultivados. Trabalhos realizados com bioflocos (KUHN *et al.*, 2009 e 2010, BAUER *et al.*, 2012) demonstraram que a farinha de peixe pode ser parcialmente ou totalmente substituída, entretanto, ainda se desconhece quanto da proteína é de fato absorvida pelo animal.

A substituição da farinha de peixe por ingredientes vegetais, na ração, bem como a utilização de bioflocos no cultivo, precisam ser mais estudados, principalmente em relação à digestibilidade dos ingredientes. Nesse contexto, pesquisas que tragam mais informações sobre esses valores nutricionais são de fundamental importância para uma melhor formulação das rações, evitando-se, portanto, prejuízos econômicos (através da redução nos custos de produção) e ambientais.

Levando em consideração as informações acima, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar o valor nutricional de flocos microbianos e ingredientes vegetais na dieta do camarão *L. vannamei*, tendo como objetivos específicos: (1) investigar o potencial nutricional de bioflocos e ingredientes vegetais na composição da dieta da espécie; (2) quantificar a biomassa de flocos microbianos produzidos em lodos ativados; (3) quantificar a concentração de flocos bacterianos na água de cultivo de camarões submetidos a diferentes taxas alimentares no período chuvoso e seco; (4) avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de camarões cultivados em meio heterotrófico sob diferentes taxas alimentares; (5) analisar o potencial nutricional de flocos bacterianos como componentes proteicos de dietas para o *L. vannamei*; (6) avaliar o desempenho zootécnico dos camarões alimentados com ingredientes vegetais; (7) determinar a digestibilidade aparente de dietas utilizando flocos microbianos e ingredientes vegetais usados na alimentação de juvenis da espécie; (8) determinar a inclusão mínima de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais para promover um maior desempenho zootécnico de camarões.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ingredientes de origem animal como farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de aves, farinha de sangue e farinha de peixe são as principais fontes de proteína usadas na composição de rações para alimentação de camarões cultivados (AMAYA; DAVIS; ROUSE, 2007). A proteína é considerada um dos nutrientes mais caros e mais importantes para o crescimento e sobrevivência dos camarões, sendo tradicionalmente empregada à farinha de peixe como fonte de proteica de alta digestibilidade (OUJIFARD *et al.*, 2012).

Uma redução das capturas de peixes pelágicos marinhos (anchoveta, sardinha, savelha, arenque, pescada branca) utilizados na fabricação da farinha de peixe aliada a um crescente aumento na produção aquícola, tornaram esse insumo mais escasso e caro. Esta menor disponibilidade levou a um aumento de 206% (USD 1.919/ton.) no preço desta matéria prima, entre janeiro de 2005 e janeiro de 2013.

Por outro lado, a produção de farinha de peixe derivada de subprodutos da pesca tem aumentado, alcançando 35% de toda produção mundial em 2012. A China é o principal país consumidor desse insumo, chegando a absorver aproximadamente 30% de toda a farinha de peixe produzida no mundo (FAO, 2014). No setor aquícola, em 2011, os camarões foram os que mais consumiram farinha de peixe na sua alimentação com 27,2%, seguido pelos peixes de água salgada com 18,8% e salmão com 13,7% (TACON *et al.*, 2011). Segundo Sookying e Davis (2011) a farinha de peixe representa em média 20% das formulações para rações para camarão.

A expansão da produção de camarão, de um modo geral, levou a uma procura por alimentos alternativos para compensar a falta de farinha de peixe (SOOKYING; DAVIS, 2011). Nos últimos anos pesquisas voltadas para novas alternativas, como a utilização de bioflocos bacterianos e ingredientes de origem vegetal na substituição gradativa da farinha de peixe nas dietas para camarões marinhos, vem se intensificando, principalmente devido a questões ambientais e econômicas.

O eflúvio da aquicultura tem sido associado a uma descarga de nutrientes com enriquecimento orgânico de ecossistemas aquáticos costeiros receptores (GESAMP, 1991; 1996; THO; MERCKX; UT, 2014). Tentativas para tratar águas residuais da aquicultura, têm variado desde o uso de áreas salgadas construídas (BUHMANN; PAPENBROCK, 2013), passando por bacias de sedimentação (JONES; DENNISON; PRESTON, 2001; ENGLE; VALDERRAMA, 2003), substratos artificiais (STEWART; BOARDMAN; HELFRICH,

2006; ARNOLD *et al.*, 2009), filtração por moluscos bivalves (JONES; DENNISON; PRESTON, 2001), redução da descarga de água (HOPKINS *et al.*, 1993) e mais recentemente, o uso de sistemas de cultivos heterotróficos com baixa ou nenhuma troca d'água (WASIELESKY *et al.*, 2006; AVNIMELECH, 2007; BALLESTER *et al.*, 2010; CRAB *et al.*, 2012).

Um dos problemas ligados à descarga de nutrientes no meio ambiente é o nitrogênio. De acordo Jackson *et al.* (2003), apenas 22% desse elemento que entra no viveiro é convertido e despescado como biomassa de camarões, 14% permanece no sedimento, sendo a maior parte (57%) descartada para o meio. Lopez-Vela *et al.* (2014), trabalhando com *L. vannamei*, observaram que a substituição da farinha de peixe por fontes de origem vegetal (farelo de soja e glúten de trigo) promoveu um aumento significativo na retenção do fósforo, sem contudo afetar a retenção do nitrogênio ou qualquer parâmetro zootécnico. A ração bem balanceada em nutrientes, considerando a digestibilidade proteica das matérias prima, pode reduzir o desperdício, melhorando a retenção do nitrogênio e, conseqüentemente, a qualidade da água, através da redução da descarga de nutrientes para o meio (BURFORD; WILLIAMS, 2001).

## **2.1 Produção de biofoco em sistema heterotrófico**

Os resíduos de água, provenientes da aquicultura, têm sido utilizados para irrigação de lavouras de agricultura (MCINTOSH; FITZSIMMONS, 2003; MIRANDA *et al.*, 2008), fertilização de plantas halófitas aquáticas (BROWN; GLENN, 1999) e para produção de flocos bacterianos (também conhecidos como bioflocos) usados como fonte de alimento na dieta (KUHN; BOARDMAN, 2008; KUHN *et al.*, 2009, 2010). Esses e outros estudos têm relatado que flocos microbianos podem servir como fonte de nutrientes para camarão marinho e outras espécies cultivadas (BURFORD *et al.*, 2004; JU *et al.*, 2008; AZIM; LITTLE, 2008; CRAB *et al.*, 2010; BAUER *et al.*, 2012).

O sistema heterotrófico para cultivo de camarões apresenta vantagens tanto no que diz respeito à questão ambiental como econômica, uma vez que pode operar com pouca ou nenhuma troca de água e utilizar rações com menor conteúdo de proteína, diminuindo dessa forma, os custos de produção e minimizando os impactos ambientais (WASIELESKY *et al.*, 2006). Nesse sistema, há um maior aproveitamento da biota natural como alimento

(BURFORD *et al.*, 2004), possibilitando o uso de diferentes fontes proteicas nas dietas, como inclusive ingredientes alternativos à farinha de peixe (KUHN *et al.*, 2009; 2010).

A tecnologia do cultivo de camarões em meio heterotrófico, com a presença de bioflocos, permite operar o sistema com um mínimo de troca de água. No entanto, o valor nutricional dos bioflocos, assim como suas características morfológicas dependem de um conjunto de parâmetros (oxigênio dissolvido, fonte de carbono orgânico, temperatura, pH, entre outros) os quais estão interrelacionados. Seus efeitos sobre a composição dos bioflocos ainda são pouco conhecidos (SCHRYVER *et al.*, 2008).

Em estudos realizados com a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, cultivada na presença e ausência de bioflocos, foi observado um aumento de mais de 45% nos tanques que adotavam bioflocos. Este estudo confirmou a utilização de bioflocos como fonte de alimento viável para tilápias (AZIM; LITTLE, 2008).

XU *et al.* (2012) trabalhando com juvenis de *L. vannamei* em sistema de biofoco com nenhuma troca de água, observaram que o biofoco pode prover uma fonte de proteína suplementar na dieta e estimular a atividade de proteinases no sistema digestivo. Ainda segundo esses autores, o nível de proteína na dieta pode ser reduzido para 25% sem afetar negativamente o crescimento dos camarões.

Recentemente, um trabalho realizado por Correia *et al.* (2014) mostrou que em sistema de biofoco com 40% e 30% de proteína bruta, os camarões na fase de berçário não apresentaram diferença significativa em relação à sobrevivência. Este trabalho sugere ser possível trabalhar com uma ração com menor conteúdo proteico para diminuir os custos de produção, melhorar a qualidade da água e, conseqüentemente, as condições do ambiente de cultivo. Através do sistema heterotrófico de cultivo de camarão, há, portanto, a manutenção da qualidade da água do cultivo dentro dos limites desejáveis, mesmo quando se emprega elevadas densidades de estocagem (OTOSHI *et al.*, 2006). Ekasari *et al.* (2014) demonstraram que os camarões consomem os flocos microbianos independente do seu tamanho, mas que o tamanho dos bioflocos pode desempenhar um papel importante na sua qualidade, em termos de composição nutricional e retenção de nitrogênio pelos animais.

Estudos demonstraram que em um cultivo super-intensivo em sistema de bioflocos, as rações contendo 30,3% de proteína promoveram um melhor resultado em termos de desempenho zootécnico dos camarões e viabilidade econômica, quando comparado com o sistema tradicional utilizando rações com 32,9% de proteína bruta (JATOBÁ *et al.*, 2014).

## 2.2 Produção de bioflocos em sistema de reatores

A viabilidade da produção de flocos microbianos em reatores sequenciais em batelada já foi demonstrada previamente. Kuhn *et al.* (2009; 2010) produziram bioflocos com efluentes a partir de água residual do cultivo de tilápia utilizando reatores em batelada com suplementação de carbono e com um reator de membrana biológica sem suplementação de carbono. Nesses sistemas de tratamento biológico de águas residuais, os níveis de nutrientes nos flocos microbianos foram altos. Estes autores registraram que o conteúdo de proteína bruta nesses estudos excedeu 380 g/kg (na base de matéria seca) substituindo com êxito a proteína da farinha de peixe e do farelo de soja em dietas para juvenis do camarão *L. vannamei*.

Luo *et al.* (2012) realizaram um estudo utilizando reatores em batelada e sistema de biofoco com recirculação, com um grupo recebendo uma dosagem de glicose como fonte de carbono orgânico e um outro, sem fonte de carbono adicional. Os resultados mostraram que a amônia liberada de sólidos suspensos foi assimilada por bactérias heterotróficas para formar os bioflocos com a suficiente adição de uma fonte de carbono. Os autores também encontraram um maior conteúdo de proteína bruta no reator que tinha a adição de fonte extra de carbono (30,4%), quando comparado com o que não tinha (26,32%). Posteriormente, Liang *et al.* (2014) trabalhando com reatores em batelada em suspensão e usando um sistema de aeração para diferenciar os tratamentos, observaram que o reator onde a aeração era feita de maneira intercalada, ou seja, 5 h funcionando e 5 paradas, apresentou um maior valor de proteína bruta e polissacarídeos. Entretanto, embora não tenha sido detectada diferença significativa, houve uma economia de energia de 50% quando comparado com o tratamento onde a mesma era constante.

Dessa forma, se a produção de bioflocos pode ser realizada artificialmente usando águas residuais de operações da aquicultura, ela pode ser convertida em biomassa seca para servir como fonte potencial de proteína em dietas para camarão, reduzindo a pressão que a descarga de efluentes pode ter em águas receptoras.

## 2.3 Utilização de ingredientes vegetais nas dietas para camarões

Alguns materiais de origem vegetal como sementes, algas e macrófitas aquáticas são frequentemente encontrados no conteúdo intestinal de camarões peneídeos silvestres e

cultivados (DALL *et al.*, 1990). Algumas espécies de peneídeos podem mostrar um hábito alimentar pronunciadamente herbívoro durante seu crescimento, no estágio juvenil, mudando progressivamente para uma dieta mais carnívora na fase adulta (REYMOND; LAGARDÈRE, 1990; NUNES; GODDARD; GESTEIRA, 1996; NUNES; GESTEIRA; GODDARD, 1997; FOCKEN *et al.*, 1998).

Somente nos últimos anos, a habilidade dos peneídeos em processar e absorver nutrientes de uma grande variedade de fontes alimentares de origem vegetal tem sido levada em consideração na formulação de rações para o cultivo de organismos aquáticos. Esta tendência tem sido dirigida, principalmente, por um suprimento instável e por elevados preços da farinha de peixe no mercado. Segundo Sookying; Davis e Silva (2013), a dependência das rações comerciais para camarões marinhos por matérias prima utilizadas na sua composição têm mudado de proteínas animais marinhos para proteínas de plantas terrestres, especialmente a soja.

Alvarez *et al.* (2007) observaram que o farelo de soja poderia substituir a farinha de peixe em até 76,5% em dietas para o camarão *Litopenaeus schmitti*, sem apresentar diferença significativa em termos de sobrevivência em todos os tratamentos aplicados. Entretanto com 100% de substituição, o tratamento mostrou um desempenho ruim no crescimento dos camarões. AMAYA *et al.* (2007a) relataram que o uso de ingredientes vegetais, como o farelo de soja e o glúten de milho, em combinação com 16% de farinha de vísceras de aves substituiu em até 100% a farinha de peixe. Embora a ração vegetal tenha promovido um bom desempenho zootécnico nos camarões torna-se necessário avaliar com maior precisão, o potencial individual dos ingredientes utilizados.

Outro estudo demonstrou que a farinha de peixe pode ser completamente substituída, usando fontes de proteína vegetal em combinação com um subproduto derivado do abate de aves, como alternativa para alimentação do *L. vannamei* cultivado em viveiro, sem comprometer a produção e desempenho econômico do mesmo (AMAYA; DAVIS; ROUSE, 2007b). Bautista-Teruel, Eusebio e Welsh (2003) trabalhando com o *Penaeus monodon* observaram que a utilização da farinha de ervilha, como fonte de proteína na dieta, apresentou um potencial satisfatório.

Subprodutos da soja como o concentrado proteico de soja e o isolado proteico de soja podem ser utilizados na alimentação dos camarões, embora sejam pobres em metionina e lisina e possuam fatores anti-nutricionais. Porém, estes subprodutos da soja ainda são pouco

empregados em rações comerciais para camarões, quando comparados com o farelo de soja (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2009).

Bulbul *et al.* (2013) observaram que a arginina, isoleucina, leucina, valina e prolina no corpo do camarão Kuruma (*Marsupenaeus japonicus*), diminuíram significativamente com o aumento do conteúdo de proteínas vegetais na dieta. Isto significa que a eficiência de retenção de aminoácidos pelo camarão apresentou uma tendência decrescente com o aumento de proteínas vegetais na dieta. Entretanto, essa espécie pode utilizar de maneira eficiente, determinados níveis de proteínas vegetais (combinação de farelo de soja e canola), tendo sido possível a redução na inclusão de farinha de peixe de 40 para 20% na dieta. Neste caso, não foi observado comprometimento no crescimento, utilização do alimento, composição corporal e utilização de nutrientes.

Outros estudos demonstram que o camarão branco do Pacífico, *L. vannamei*, pode ser cultivado, sem efeitos deletérios no seu crescimento, com dietas com 50 a mais de 80% da sua composição derivada de ingredientes vegetais, principalmente o farelo de soja (SOOKYING *et al.*, 2011; SOOKYING; DAVIS, 2011; ROY *et al.*, 2009; FOX *et al.*, 2011; MORRIS *et al.*, 2011). Isto tem sido possível devido a uma melhor compreensão sobre as exigências nutricionais dos camarões (NRC, 2011), disponibilidade comercial de fontes mais refinadas de proteínas da soja (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2009; SÁ *et al.*, 2013) e aminoácidos cristalinos (FORSTER; DOMINY, 2006; FOX *et al.*, 2011; BROWDY *et al.*, 2012; GU *et al.*, 2013; NUNES *et al.*, 2014). A suplementação correta de aminoácidos cristalinos na alimentação de organismos aquáticos representa uma oportunidade para reduzir os custos de formulação diante do mercado volátil de *commodities* de ingredientes proteicos, em especial, frente a uma oferta limitada de farinha de peixe (NUNES *et al.*, 2014).

Trabalho realizado por Macias-Sancho *et al.* (2014) demonstrou que a farinha de peixe pode ser substituída em até 75% pela Arthrospira (*Spirulina platensis*), contribuindo também para promover um aumento nas respostas imunológicas do camarão. Outro estudo utilizando o farelo de soja e de canola, numa proporção de 70% e 30%, respectivamente, mostrou que a farinha de peixe pode ser substituída em até 80% sem causar uma redução no crescimento do camarão *L. vannamei* (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2009).

O crescente aumento no uso de proteínas de origem vegetal em dietas para camarões requer uma abordagem mais abrangente para permitir uma maior aplicação do conceito de dietas vegetais e uma menor dependência das proteínas marinhas. Isto inclui aspectos relacionados ao balanço de ingredientes e nutrientes, digestibilidade de nutrientes

essenciais e uso racional de proteínas marinhas. A utilização de ingredientes alternativos para substituir em parte ou integralmente a farinha de peixe vem sendo aplicado na formulação de rações para camarões marinhos, no entanto, estudos que contribuam para um melhor entendimento da digestibilidade desses materiais são necessários.

#### **2.4 Digestibilidade de ingredientes animais e vegetais utilizados na composição das dietas**

A digestibilidade reflete a percentagem de uma amostra do alimento que é absorvida nas porções distal e proximal do trato intestinal do animal. A utilização de dietas com alta digestibilidade é importante, principalmente, quando o cultivo emprega altas densidades, pois o acúmulo de alimentos não digeridos pode comprometer os parâmetros de qualidade da água, aumentar o custo do seu tratamento, a incidência de doenças no camarão e, conseqüentemente, a mortalidade (LIN *et al.*, 2006).

Existem diferentes métodos para determinação da digestibilidade aparente de alimentos, entre eles: o método da coleta total, o uso de marcadores inertes, digestão *in vitro*, correlações com a composição nutricional e marcadores isotópicos (CABANILLAS-BELTRAN *et al.*, 2001). Através dos métodos de coleta total ou através do uso de marcadores inertes é possível obter estimativas da digestibilidade, desde que detalhes metodológicos importantes sejam considerados, como o uso da dupla extrusão durante a preparação das dietas (SMITH; TABRETT, 2004).

A técnica dos marcadores inertes se tornou a melhor opção para os pesquisadores (SHIAU; WELSH; CHIOU, 1992), porque apresentam baixo custo e facilidade de utilização quando comparado a outros métodos de digestibilidade. O uso de marcadores para medir a digestibilidade de uma ração foi inicialmente usado em nutrição de animais terrestres, sendo posteriormente adaptado para aquicultura. A partir daí, o óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e o acetato de itérbio  $\text{Yb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_3$  foram considerados marcadores de digestibilidade adequados para uso com camarão, pois proporcionaram melhores resultados do que técnicas tradicionais, como a gravimétrica (SMITH; TABRETT, 2004).

Dentre os marcadores estão o óxido de cromo, o acetato de itérbio e o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) sendo o primeiro o marcador mais comumente utilizado em pesquisas e (ou) estudos de digestibilidade de alimentos para animais aquáticos (JONES; DE SILVA, 1998). Isto é devido a uma série de vantagens como, por exemplo, a rapidez das análises, a

simplificação dos bioensaios de alimentação e a possibilidade de se comparar os resultados obtidos com dados da literatura. Todos esses fatores justificam a escolha do método utilizando óxido de cromo nos estudos de digestibilidade para peixes e camarões (LEE; LAWRENCE, 1997).

Cabanillas-Beltran *et al.* (2001) determinaram a digestibilidade da farinha de peixe e do farelo de soja pelo *L. vannamei*, criado em diferentes temperaturas (22°C ou 28°C) e salinidades (16 ou 35 g/L). Os autores observaram que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e aminoácidos do farelo de soja foram superiores aos da farinha de peixe, sugerindo que a proteína da soja foi digerida mais rapidamente, quando comparada a proteína da farinha de peixe. Por isso, é importante a caracterização minuciosa do alimento em estudo, pois a digestibilidade pode variar consideravelmente em função da sua qualidade.

Segundo Molina-Poveda e Morales (2004) a substituição de proteínas de origem animal (farinha de cabeça de camarão, farinha de peixe e farinha de lula) por uma combinação de grãos de cevada fermentada e glúten de trigo em até 33% na dieta não alterou o crescimento e a utilização do alimento comparado à dieta controle. A conversão alimentar e a taxa de eficiência da proteína também não foram significativamente diferentes entre as dietas, contendo níveis de 0, 33 e 66% de substituição da proteína animal. Esses resultados sugerem que se o balanço de aminoácidos e a patabilidade fossem melhorados na dieta, o nível de substituição da proteína animal poderia ser incrementado em até 66% sem redução do crescimento.

Forster *et al.* (2003) avaliaram a qualidade nutricional de três diferentes farinhas de carne e ossos como ingredientes em dietas para juvenis de *L. vannamei*. Nesse trabalho, dois experimentos foram conduzidos: um para o teste de digestibilidade *in vivo*, e o outro, um ensaio de desempenho zootécnico. O experimento de desempenho revelou que a farinha de carne e ossos pode substituir 25% a 75% da farinha de peixe, dependendo da sua qualidade. No entanto, segundo os autores, outros fatores, além da digestibilidade, são importantes na avaliação nutricional de ingredientes, tais como: palatabilidade, efeito nas características físicas do pelete e a interação com outros ingredientes. Portanto, resultados inferiores de digestibilidade não significam, necessariamente, resultados inferiores de desempenho produtivo.

Yang *et al.* (2009) trabalharam com uma dieta referência (DR) e rações teste (composta de 70% da dieta DR e 30% de cada ingrediente) para o *L. vannamei*, usando 0,5% de óxido de cromo como indicador. Nesse estudo foi observado que a farinha de carne e ossos

apresentou uma menor digestibilidade aparente de aminoácidos, quando comparada com os ingredientes testados, entre eles: farinha de peixe, farelo de soja fermentado, farelo de soja extrusada, farelo de soja, farinha de amendoim, farinha de glúten de trigo, glúten de milho, resíduos de subproduto do camarão, entre outros.

Lin *et al.* (2004) determinaram os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), lipídios, fósforo (P), aminoácidos essenciais (AAE), aminoácidos não-essenciais (AANE) e ácidos graxos em dietas para o *L. vannamei*, suplementadas com probiótico (*Bacillus* sp.). Os coeficientes de digestibilidade para MS, PB, lipídios, P, aminoácidos e ácidos graxos na dieta basal foram significativamente menores em relação às outras dietas. Já o CDA do fósforo aumentou com a maior inclusão de probiótico. Os autores concluíram que, exceto pelo CDA dos lipídios, os demais CDAs das dietas suplementadas com 10, 30 ou 50 g de probiótico/kg foram significativamente superiores aos CDAs da dieta basal (não suplementada) e da dieta suplementada com 5 g de probiótico/kg.

Outro trabalho relatou a utilização do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) em dietas para o camarão *L. vannamei*. De acordo com Rivas-Veja *et al.* (2006) o farelo de feijão pode ser considerado uma boa fonte de proteína e carboidrato para o *L. vannamei*, pois a atividade inibidora de tripsina desse ingrediente é baixa e a digestibilidade é considerada elevada. Isto ocorre, principalmente, quando o alimento é tratado termicamente, pois pode melhorar significativamente sua qualidade nutricional. No entanto, existe uma deficiência de alguns aminoácidos considerados essenciais, como por exemplo, a metionina. Os autores ainda enfatizam que mais estudos são necessários para esclarecer os níveis ótimos de inclusão do farelo de feijão caupi na dieta e seu efeito no crescimento e na sobrevivência dos camarões.

## CAPÍTULO I

### **Biodisponibilidade de proteína bruta e gordura da farinha de biofloco produzida em reatores em batelada para o camarão branco, *Litopenaeus vannamei***

Hassan Sabry Neto, Sandra Tédde Santaella, Alberto Jorge Pinto Nunes

Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR. Universidade Federal do Ceará, Av. da Abolição, 3507, Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza, CE, Brasil.

Artigo submetido para publicação na Revista Brasileira de Zootecnia em 01/12/2014

**Biodisponibilidade de proteína bruta e gordura da farinha de biofloco produzida em sistema de reatores em batelada para o camarão branco, *Litopenaeus vannamei*.**

**RESUMO**

O presente estudo comparou a biodisponibilidade de proteína bruta e da gordura da farinha de bioflocos obtida em sistema de reatores em batelada, usando duas fontes de água: água residual de cultivos experimentais de camarão (BFL-W) e, artificialmente, usando água do estuário limpa (BFL-C). Os reatores em batelada operaram por fertilização química e orgânica, feita três vezes por semana. A amostragem de bioflocos ocorreu a cada dois dias durante 81 dias. Para avaliar a digestibilidade, cada tipo de farinha de biofloco foi incorporada a uma dieta referência (REF) na concentração de 300 g/kg de dieta (base natural). Uma outra dieta agiu como controle negativo (NEG), utilizando como ingrediente a farinha de resíduos do processamento de peixes marinhos. A digestibilidade aparente de bioflocos foi estimada pelo método indireto, usando óxido crômico como marcador inerte, na concentração de 10 g/kg de dieta. Juvenis do *L. vannamei*, com  $5,09 \pm 0,79$  g ( $n = 440$ ), foram estocados na densidade 10 camarões/tanque, em 44 tanques de 61 L cada, sob o regime de recirculação contínua de água. Ambas as farinhas de bioflocos continham um alto conteúdo de cinzas (649,2 – 591,0 g/kg), combinada com uma baixa proteína bruta (95,9 – 137,3 g/kg). Após 26 dias, os camarões alcançaram uma sobrevivência final de  $93,2 \pm 0,8\%$  e um ganho de biomassa de  $37,1 \pm 1,8$  g/tanque. O peso corporal final dos camarões variou de  $9,01 \pm 0,15$  a  $9,45 \pm 0,13$  g. O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da proteína bruta da farinha de biofloco BFL-W, BFL-C e dos resíduos de farinha de peixe alcançou 26,0, 25,7 e 64,1%, respectivamente. Similarmente o CDA para gordura foi de 78,9, 67,9 e 85,8%, respectivamente. Esse estudo indicou que a farinha de biofloco apresenta uma baixa disponibilidade de proteína para o *L. vannamei*. Entretanto, embora baixos níveis de gordura estivessem presentes, ela provou ser altamente disponível para a espécie. A inclusão na dieta de farinha de bioflocos pareceu ter um efeito promotor no crescimento para o camarão, o qual pode ser associado com minerais traços ou outros nutrientes não identificados nesse estudo.

**Palavras chave:** reatores em batelada, bioflocos, digestibilidade, camarão.

**Bioavailability of crude protein and fat from biofloc meals produced in sequencing  
batch reactors for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei***

**ABSTRACT**

The present study compared the bioavailability of crude protein and fat from biofloc meals generated with sequencing batch reactors using two water sources, wastewater from shrimp experimental culture (BFL-W) and artificially using clean seawater (BFL-C). Batch reactors operated by chemical and organic fertilization three times per week. Sampling of bioflocs occurred every two days during 81 days. To evaluate digestibility, each type of biofloc meal was incorporated into a reference diet (REF) at 300 g/kg. Another diet acted as a negative control (NEG) by using fish waste meal. The apparent digestibility of bioflocs was estimated by the indirect method using chromic oxide ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) as the inert marker at 10 g/kg of the diet. Juvenile *L. vannamei* of  $5.09 \pm 0.79$  g ( $n = 440$ ) were stocked at 10 shrimp/tank in 44 tanks of 61 L each that operated under a water recirculating regime. Biofloc meals contained a high ash content (649.2 – 591.0 g/kg) combined with a low crude protein (95.9 – 137.3 g/kg). After 26 days, shrimp achieved a final survival of  $93.2 \pm 0.8\%$  and a biomass gain of  $37.1 \pm 1.8$  g/tank. Final shrimp body weight ranged from  $9.01 \pm 0.15$  to  $9.45 \pm 0.13$  g. The apparent digestibility coefficient (ADC) of crude protein in the biofloc produced from BFL-W, BFL-C and fish waste meal reached 26.0, 25.7, and 64.1%, respectively. Similarly, ADC of fat was 78.9, 67.9, and 85.8%, respectively. This study indicated that biofloc meals had a low protein availability for *L. vannamei*. However, although low levels of fat were present, it proved to be highly available for the species. The dietary inclusion of biofloc meal appeared to have a growth promoting effect for shrimp, which may be associated with trace minerals, or other nutrients not identified in this study.

**Keywords:** batch reactor, bioflocs, digestibility, shrimp

## Introdução

A descarga de efluentes da aquicultura tem sido associada ao enriquecimento orgânico e de nutrientes em ecossistemas aquáticos costeiros receptores (Gesamp, 1991, 1996; Tho *et al.*, 2014). Tentativas no tratamento de águas residuais da aquicultura têm variado quanto ao uso de áreas salgadas construídas (Buhmann e Papenbrock, 2013), bacias de sedimentação (Jones *et al.*, 2001; Engle e Valderrama, 2003), substratos artificiais (Stewart *et al.*, 2006; Arnold *et al.*, 2009), filtração por moluscos bivalves (Jones *et al.*, 2001), redução nas taxas de renovação de água (Hopkins *et al.*, 1993) e, mais recentemente, o uso de sistemas de cultivo em meio heterotrófico com mínima troca de água (Wasiolesky *et al.*, 2006; Avnimelech, 2007; Ballester *et al.*, 2010; Crab *et al.*, 2012).

As águas residuais da aquicultura têm sido utilizadas na irrigação de lavouras (McIntosh e Fitzsimmons, 2003; Miranda *et al.*, 2008), fertilização de halófitas aquáticas (Brown e Glenn, 1999) e na produção de flocos microbianos (também conhecidos como bioflocos) usados como fonte alimentar (Kuhn *et al.*, 2008, 2009, 2010). Esses e outros estudos relatam que os flocos microbianos podem servir como uma fonte de nutrientes para os camarões marinhos e outras espécies cultivadas (Burford *et al.*, 2004; Ju *et al.*, 2008; Azim e Little, 2008; Crab *et al.*, 2010; Bauer *et al.*, 2012).

A produção de flocos microbianos em sistema de reatores em batelada foi demonstrada por Kuhn *et al.* (2009; 2010), quando produziram bioflocos com efluentes a partir de água residual do cultivo de tilápia, utilizando reatores, com suplementação de carbono e com um reator de membrana biológica sem suplementação de carbono. Nesses sistemas de tratamento biológico de águas residuais, os níveis de nutrientes nos flocos microbianos foram altos. Estes autores registraram que o conteúdo de proteína bruta nesses estudos excedeu 380 g/kg (na base de matéria seca) substituindo com êxito a proteína da farinha de peixe e do farelo de soja em dietas para juvenis do camarão *L. vannamei*.

Se a produção de bioflocos pode ser realizada artificialmente, usando águas residuais de operações aquícolas, estes podem ser transformados em biomassa seca para servir como fonte potencial de proteína em dietas para camarão, reduzindo a pressão exercida através da descarga de efluentes em águas receptoras. O presente estudo comparou a biodisponibilidade de proteína bruta e gordura em farinhas de bioflocos geradas com reatores em batelada, utilizando duas fontes de água: águas residuais de cultivos experimentais de camarão e, artificialmente, usando água do estuário limpa.

## **Materiais e Métodos**

### *Local de estudo e operação dos reatores em batelada*

Esse estudo foi conduzido no Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC), unidade experimental de aquicultura do LABOMAR/UFC, localizada no município do Eusébio, Estado do Ceará. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com leis vigentes e orientações institucionais incluindo aquelas relacionadas ao bem estar animal. Para o estudo, dois reatores sequenciais, em batelada, foram usados para produzir flocos microbianos com duas fontes de água: (1) água residual derivada de berçários para cultivo de pós-larvas de camarão marinho composto por seis tanques de 3 m<sup>3</sup> cada (biofoco de água residual); e (2) água do estuário desinfetada e filtrada em filtro de areia obtida de um estuário próximo (biofoco de água salgada limpa). Os reatores em batelada foram desenhados baseados em Van-Haandel e Marais (1999), com algumas modificações.

O sistema foi composto por dois reatores, com escala laboratorial (Figura 1). Cada sistema foi instalado no final da descarga de efluentes da estrutura de cultivo experimental de camarões marinhos, mas anterior a um tanque de sedimentação e tratamento de efluentes contendo halófitas aquáticas. Cada reator em batelada foi equipado com um tanque de 1 m<sup>3</sup> para estocagem de água salgada limpa ou água residual dos tanques de cultivo de camarão, duas bombas eletromagnéticas dosadoras (LMI Milton Roy, Ivyland, EUA), um reator de fibra de vidro, uma câmara de assentamento de fibra de vidro e um soprador radial com 2,5 cv de potência para aeração da água. O reator que operou com água limpa, foi interconectado a um tanque com 20 m<sup>3</sup>, onde a água do estuário filtrada e quimicamente desinfetada foi estocada.

Para o funcionamento do sistema houve inicialmente o abastecimento de água (limpa ou água residual) por gravidade para um tanque de 1 m<sup>3</sup>. Uma bomba dosadora que operou com uma taxa de renovação de 180 mL/min. moveu a água do tanque de 1 m<sup>3</sup> para o reator. Uma bomba dosadora adicional com uma taxa de fluxo de 1,2 mL/min. foi usada para recircular à água entre o reator e a câmara de sedimentação. A água foi sempre coletada do fundo e mecanicamente movida para cima.

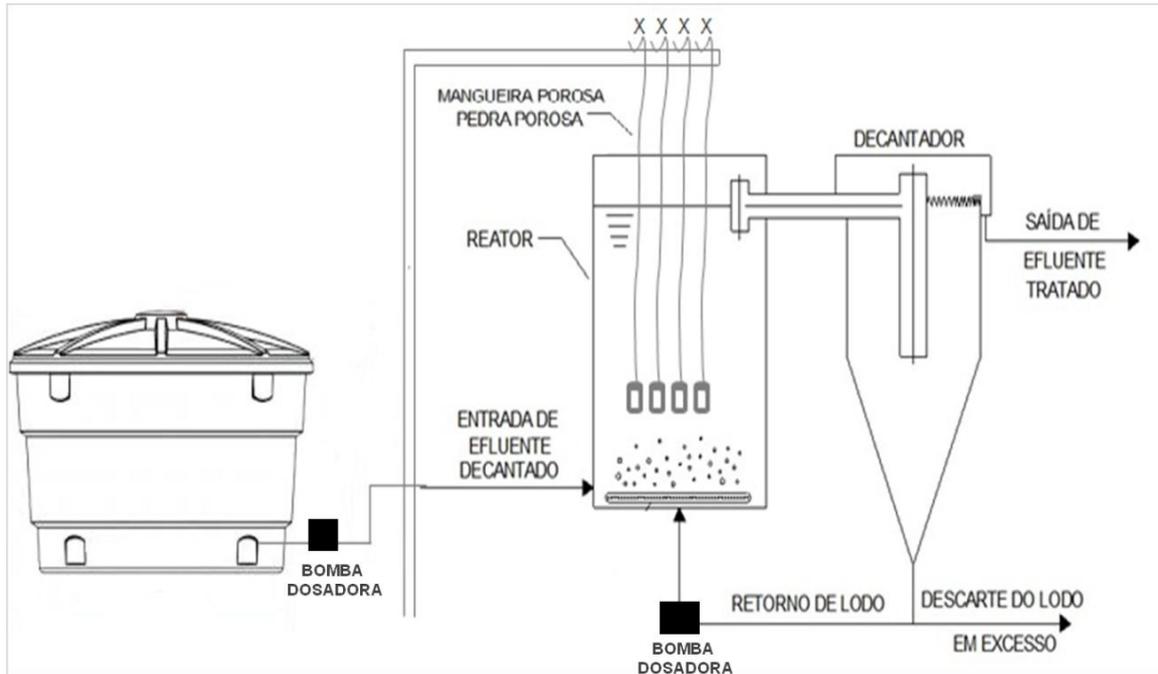


Figura 1 – Desenho esquemático do sistema de lodos ativados utilizado em escala de laboratório

#### *Preparação do sistema de bioflocos e amostragem*

Inicialmente operaram por um período experimental de seis meses usando águas residuais oriundas de experimentos nutricionais de camarão. Para o presente estudo, o sistema foi reiniciado pela remoção de toda a água remanescente e do lodo ativado acumulado no reator e na câmara de sedimentação. O lodo ativado e a água residual foram transferidas para um tanque de 1 m<sup>3</sup> onde o sobrenatante foi coletado após um período de 4 h de descanso. Um total de 80 L de lodo concentrado foi dividido e colocado em cada um dos reatores para servir como inóculo. O volume remanescente de cada reator foi preenchido com água do estuário previamente desinfetada (40 g/L de salinidade) usando hipoclorito de cálcio a 8,0 x 10<sup>3</sup> de 96 g/L (65% de cloro ativo).

Cada reator foi quimicamente e organicamente fertilizado três vezes por semana usando uma solução de nutrientes. Essa mistura foi composta por 60 g de melão de cana de açúcar, 2,3 g de ureia, 5 g de fosfato monocálcico e 100 mL de macronutrientes. Esse último constituído de 16,8 g de cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), 5,3 g de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>), 15 g de fosfato de potássio (K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 6 g de sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) e 1 mL de

micronutrientes (Tabela 1). No reator que operou com água do estuário estéril (biofoco de água limpa), a aplicação de melão de cana de açúcar foi modificada para 100 g.

Tabela 1 – Concentração de micronutrientes em parte da solução usada para produzir biofocos com água do estuário estéril e água residual de cultivo de camarão.

Nutrientes	Concentração (mg/L)
$K_2HPO_4$	25
$NH_4Cl$	25
$MgSO_4$	8,6
$CaCl_2$	5,3
$FeCl_2$	0,3
$H_3BO_4$	0,08
$ZnCl_2$	0,02
$CoCl_2$	0,3
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,2
$CuCl_2$	0,01

Um total de 47 amostras de biofocos de cada tipo (*i.e.*, água residual e água do estuário limpa) foi coletado a cada dois dias durante 81 dias (4/11/2011 à 24/01/2012). O biofoco foi amostrado do fundo da câmara de sedimentação ao volume de 6 L por dia. Após a coleta, o material foi mantido em repouso por 5 min., filtrado em malha de 20 micras, enxaguado com água doce e então estocado a -22 °C. Posteriormente, a biomassa úmida foi seca em uma estufa com recirculação de ar sob 45°C com vistas a alcançar uma umidade final menor que 10 g/kg.

As biomassas secas de biofocos foram moídas individualmente em um moinho tipo martelo (moinho industrial Vieira, modelo 280, 5 cv, Tatuí, SP, Brasil), equipado com uma malha de 600 micras, para produzir farinha. A farinha foi então quimicamente analisada seguindo procedimentos padrões de análise (AOAC, 1990).

### *Digestibilidade in vivo do biofloco*

A digestibilidade aparente da farinha de biofloco foi estimada pelo método indireto usando óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) como marcador inerte a 10 g/kg inclusão na dieta referência. Através deste método, a digestibilidade do nutriente de interesse é estimada baseando-se no enriquecimento das fezes do animal com o indicador da digestão comparado ao nível presente na dieta. Inicialmente a concentração de óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) nas dietas finais e nas fezes dos camarões foi usada para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA):

(1) onde,

$$\text{CDA} = 100 - \left[ 100 \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 f}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 d} \right) \times \left( \frac{\% \text{Nf}}{\% \text{Nd}} \right) \right]$$

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente na dieta (proteína ou gordura);

$\text{Cr}_2\text{O}_3 d$  = % de óxido de cromo nas dietas experimentais;

$\text{Cr}_2\text{O}_3 f$  = % de óxido de cromo presente nas fezes dos camarões;

$Nd$  = conteúdo do nutriente (proteína e gordura) presente nas dietas, e;

$Nf$  = conteúdo do nutriente (proteína e gordura) presente nas fezes dos camarões.

Em seguida, determinaram-se os valores de digestibilidade proteica e da gordura (Cho e Slinger, 1979; Bureau *et al.*, 1999; Bureau e Hua, 2006) dos ingredientes individuais submetidos à avaliação, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{CDA}_{\text{ing. teste}} = \text{CDA}_{\text{dieta teste}} + \left[ (\text{CDA}_{\text{dieta teste}} - \text{CDA}_{\text{dieta ref.}}) \times \left( \frac{0,7 \times D_{\text{ref}}}{0,3 \times D_{\text{ing.}}} \right) \right] \quad (2)$$

onde,

$\text{CDA}_{\text{ing. teste}}$  = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína e gordura) do ingrediente teste;

$\text{CDA}_{\text{dieta teste}}$  = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína e gordura) da dieta teste;

$\text{CDA}_{\text{dieta ref.}}$  = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína e gordura) da dieta referência;

$D_{\text{ref}}$  = percentual do nutriente (proteína e gordura) na dieta referência, e;

$D_{\text{ing.}}$  = percentual do nutriente (proteína e gordura) no ingrediente avaliado.

### *Alimento, sistema de cultivo e alimentação*

Uma dieta referência (REF) foi formulada com ingredientes práticos para satisfazer plenamente as exigências nutricionais reportadas na literatura para o *L vannamei* (NRC, 2011;

Tabela 2). A partir dessa dieta, três outras dietas foram preparadas contendo 70% da dieta referência e 30% do ingrediente em teste (farinha de bioflocos produzido com água residual e farinha de bioflocos produzido com água do estuário limpa). Uma quarta dieta usando farinha de resíduo do processamento de peixes marinhos foi incluída para agir como controle negativo (NEG). As dietas foram preparadas em uma extrusora laboratorial, conforme descrito por Browdy *et al.* (2012). Peletes com afundamento rápido, com 2,0 mm de diâmetro, foram utilizados ao longo de todo o período de cultivo.

O ensaio de digestibilidade foi realizado em sistema de recirculação de água composto de 44 tanques com 61 L cada. Um total de 11 tanques foi designado para cada tratamento dietético. Cada tanque foi coberto com uma rede, equipado com aeração e com seu próprio sistema de entrada e saída de água. Os camarões da espécie *L. vannamei* foram adquiridos de uma larvicultura comercial (Aquatec Aquacultura Ltda., Canguaretama, Brasil) como pós-larva 10 (PL10) e cultivados até o tamanho juvenil em laboratório.

Os juvenis pesando  $5,09 \pm 0,78$  g ( $n = 440$ ) foram estocados na densidade de 10 camarões/tanque e aclimatados por três dias com a dieta de referência (REF) antes de se iniciar o estudo. As dietas foram administradas diariamente às 07:00, 13:00 e 16:00 h em uma pequena bandeja de alimentação repousada no fundo do tanque.

As fezes dos camarões foram recuperadas pelo método de sifonamento (Cruz-Suárez *et al.*, 2008). Uma hora após a oferta do alimento, as bandejas de alimentação foram removidas e o fundo do tanque limpo através de sifonamento. Este procedimento foi acompanhado de duas coletas consecutivas de fezes, 1,25 e 2,15 h após os horários de oferta do alimento às 7:00 e 13:00 h. Esse intervalo é suficiente para permitir a evacuação gástrica de mais da metade da refeição ingerida pelo camarão (Nunes *et al.*, 2000). Sempre quando observada muda nos tanques de cultivo, os procedimentos de coleta de fezes foram interrompidos até o retorno normal de consumo alimentar. A coleta de fezes durou 26 dias consecutivos, ocasião em que os camarões foram despescados, pesados e contados.

Tabela 2 – Composição (em g/kg na base natural) das dietas experimentais usadas para avaliar a digestibilidade *in vivo* da farinha de biofloco para juvenis de camarão branco do Pacífico

Ingredientes	Inclusão (g/kg, base natural)/Dieta			
	REF	BFL-W	BFL-C	NEG
Farelo de soja <sup>1</sup>	349,6	---	---	---
Farinha de trigo <sup>2</sup>	250,0	---	---	---
Farinha de salmão <sup>3</sup>	150,0	---	---	---
Concentrado proteico de soja <sup>4</sup>	80,0	---	---	---
Farinha de vísceras de aves <sup>5</sup>	60,0	---	---	---
Lecitina de soja	25,0	---	---	---
Farinha de glúten de trigo	20,0	---	---	---
Farinha de krill <sup>6</sup>	20,0	---	---	---
Óleo de salmão	20,0	---	---	---
Premix mineral-vitamínico <sup>7</sup>	15,0	---	---	---
Óxido crômico III	10,0	---	---	---
Colesterol <sup>8</sup>	0,4	---	---	---
Dieta referência (REF)	---	700,0	700,0	700,0
Biofloco de água residuária (BFL-W)	---	300,0	---	---
Biofloco de água limpa (BFL-C)	---	---	300,0	---
Resíduo de farinha de peixe	---	---	---	300,0

<sup>1</sup>Indústria e Comércio de Rações Dourado Ltda. (Eusébio, CE). 476 g/kg de proteína bruta (PB), 32 g/kg de gordura, 61 g/kg de cinzas, 42 g/kg de fibra bruta (FB), 103 g/kg de umidade, 3,859 kcal/kg de energia bruta (EB), 14 g/kg de metionina (Met) e 35 g/kg de lisina (Lys).

<sup>2</sup>Moinhos Cruzeiro do Sul S/A (Olinda, PE). 134 g/kg PB, 22 g/kg gordura, 12 g/kg cinzas, 8 g/kg FB, 110 g/kg umidade, 4,043 kcal/kg EB, 2 g/kg Met, 3 g/kg Lys.

<sup>3</sup>Pesqueira Pacific Star (Puerto Montt, Chile). 628 g/kg PB, 107 g/kg gordura, 160 g/kg cinzas, 1 g/kg FB, 99 g/kg umidade, 4,559 kcal/kg EB, 17 g/kg Met, 4,6 g/kg Lys.

<sup>4</sup>Sementes Selecta S.A. (Goiânia, GO). 626 g/kg PB, 8 g/kg gordura, 42 g/kg cinzas, 43 g/kg FB, 82 g/kg de umidade, 4,017 kcal/kg GE, 13 g/kg Met, 59 g/kg Lys.

<sup>5</sup>Kabsa S.A. (Porto Alegre, RS). 667 g/kg PB, 171 g/kg gordura, 97 g/kg cinzas, 24 g/kg umidade, 5,127 kcal/kg EB, 13 g/kg Met, 32 g/kg Lys.

<sup>6</sup>QRILL™ meal, Aker Biomarine ASA (Oslo, Noruega). 590 g/kg PB, 180 g/kg de gordura, 130 g/kg de cinzas, 60 g/kg FB, 7,1 g/kg umidade, 4,610 kcal/kg EB, 19 g/kg Met, 38 g/kg Lys.

<sup>7</sup>Rovimix Camarão Extensivo. DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, SP). Níveis de garantia por kg do produto: vitamina A, 1.000.000 IU; vitamina D3, 300.000 IU; vitamina E, 15.000 IU; vitamina K3, 300 mg; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina B2, 2.500 mg; vitamina B6; 3.500 mg; ácido nicotínico, 10.000 mg; ácido pantotênico, 5.000 mg; biotina, 100 mg; ácido fólico, 800 mg; vitamina C, 25.000 mg; colina, 40.000 mg; inositol, 20.000 mg; 2.000 mg; cobre, 3.500 mg; cobre quelatado, 1.500,0 mg; zinco, 10.500 mg; zinco quelatado, 1.500 mg; manganês, 4.000 mg; selênio, 15 mg; selênio quelatado, 15 mg; iodo, 150 mg; cobalto, 30 mg; cromo 80 mg; preenchedor, 1.000 g.

<sup>8</sup>Cholesterol XG, Dishman Netherlands B.V. (Veenendaa, Holanda). 91 g/kg de colesterol ativo.

<sup>9</sup>Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (Paulínia, SP). Produzido a partir de fauna acompanhante (ou) resíduo de peixe (restos e refugo). 652 g/kg PB, 150 g/kg gordura, 184 g/kg cinzas, 55 g/kg FB, 8,0 g/kg umidade, 4,512 kcal/kg EB, 14 g/kg Met, 3,7 g/kg Lys.

## Resultados e Discussão

Um total de 1.965 e 1.145 g de farinha de bioflocos seco (água residual e água do estuário limpa, respectivamente) foram obtidos durante o período de 81 dias de produção. Ambos os tipos de farinha de bioflocos mostraram um perfil bromatológico caracterizado por um alto conteúdo de cinzas (entre 649,2 e 591,0 g/kg) combinado com um baixo teor de proteína bruta (entre 95,9 e 137,3 g/kg). Esses resultados diferem de estudos realizados com flocos microbianos produzidos em reatores em batelada usando efluentes do cultivo de tilápia e açúcar como um meio de cultivo (Kuhn *et al.*, 2009). Esses autores reportaram um teor de proteína bruta, cinza, gordura e fibra bruta para farinhas de bioflocos produzidos em reatores sequenciais em batelada de  $490 \pm 15$ ,  $134 \pm 6$ ,  $11,3 \pm 0,9$ ,  $126 \pm 1$  g/kg, respectivamente. Embora a coleta de flocos microbianos no presente estudo e no trabalho de Kuhn *et al.* (2009), tenha sido semelhante, um maior esforço teria que ser empreendido para reduzir a quantidade de cinzas com vistas a concentrar a parcela proteica das amostras.

Em outro trabalho, Kuhn *et al.* (2010) produziram bioflocos a partir de efluentes de tilápia por dois métodos: (1) com reatores sequenciais em batelada (SBR) usando

suplementação de carbono (sacarose), e; (2) com um reator de membrana biológica (MBR) sem suplementação de carbono. Para a farinha de bioflocos produzida com tratamento SBR e MBR, o conteúdo de proteína bruta e cinza, alcançaram 388 e 405 g/kg e 247 e 118 g/kg, respectivamente. Estes valores desviaram dos resultados obtidos neste estudo. Azim e Little (2008) registraram que bioflocos obtidos em tanques de cultivo de tilápia de Nilo *Oreochromis niloticus*, continham entre  $379,3 \pm 23,8$  e  $384,1 \pm 36,2$  g/kg de proteína bruta,  $31,6 \pm 3,1$  e  $32,3 \pm 2,1$  g/kg de gordura,  $133,8 \pm 13,5$  e  $118,3 \pm 8,0$  g/kg de cinzas,  $62,7 \pm 4,4$  e  $57,2 \pm 18,6$  g/kg de fibra. Os autores concluíram que os bioflocos foram uma fonte de alimento viável para tilápia, exceto em relação aos seus baixos níveis de gordura.

Matéria mineral (cinzas) está invariavelmente presente em ingredientes usados para fabricar alimentos para organismos aquáticos. Entretanto, dependendo da sua natureza e origem, esta tem valor nutricional limitado já que peixes e camarões não a digerem. Elevados níveis de cinza são frequentemente encontrados em farinhas produzidas a partir de resíduos do abate de animais terrestres ou do processamento de peixes. Entretanto, raramente os valores de cinzas excedem 250 g/kg (NRC, 2011, Tabela 19-1), enquanto o conteúdo de proteína pode ser maior que 400 g/kg (na base seca).

No presente estudo, o conteúdo de proteína bruta na farinha de bioflocos produzida a partir de água do estuário limpa foi superior à farinha de bioflocos produzida com água residual (Tabela 3). Isto pode ser resultado da aplicação de ureia durante a fase inicial de desenvolvimento do biofoco produzido usando água do estuário limpa. A análise de proteína é baseada no método Kjeldahl, em que o conteúdo de nitrogênio total da amostra é convertido a proteína bruta multiplicando por um fator teórico de 6,25 (assumindo que a proteína contém aproximadamente 160 g/kg de nitrogênio). Portanto, o excesso de nitrogênio nessas farinhas de bioflocos resultantes da aplicação de ureia poderia refletir em altos níveis de proteína bruta analisada pelo método Kjeldahl. No entanto, isto não implica que esta proteína está biologicamente disponível para os camarões. Baseado em análises químicas preliminares, (altos níveis de cinzas e baixo conteúdo de proteína), ambos os tipos de bioflocos produzidos neste estudo não seriam considerados de interesse como um ingrediente para alimentação de camarões.

Tabela 3 – Análise bromatológica (em g/kg na base seca) da farinha de bioflocos produzidos em reatores usando água residual de tanques de cultivo de camarão branco do Pacífico e água do estuário limpa.

Parâmetros	Composição (g/kg, base seca) da farinha de bioflocos	
	Com água residual	Com água do estuário limpa
Matéria seca	928,6	913,2
Proteína bruta	95,9	137,3
Gordura	7,2	9,1
Fibra	< 5	< 5
Cinzas	649,2	591,0
Cálcio	23,5	21,1
Fósforo total	10,1	9,3

No presente estudo, os camarões alcançaram uma sobrevivência final de  $93,2 \pm 0,8\%$  e um ganho de biomassa de  $37,1 \pm 1,8$  g/tanque ( $P > 0,05$ , ANOVA). Houve uma diferença estatística significativa no peso corporal final dos camarões, particularmente entre os tratamentos das dietas REF e BFL-C ( $P < 0,05$ , Tukey HSD; Figura 2). Camarões alimentados com BFL-C atingiram  $9,45 \pm 0,13$  g comparados com  $8,93 \pm 0,14$  g para os camarões alimentados com a dieta REF.

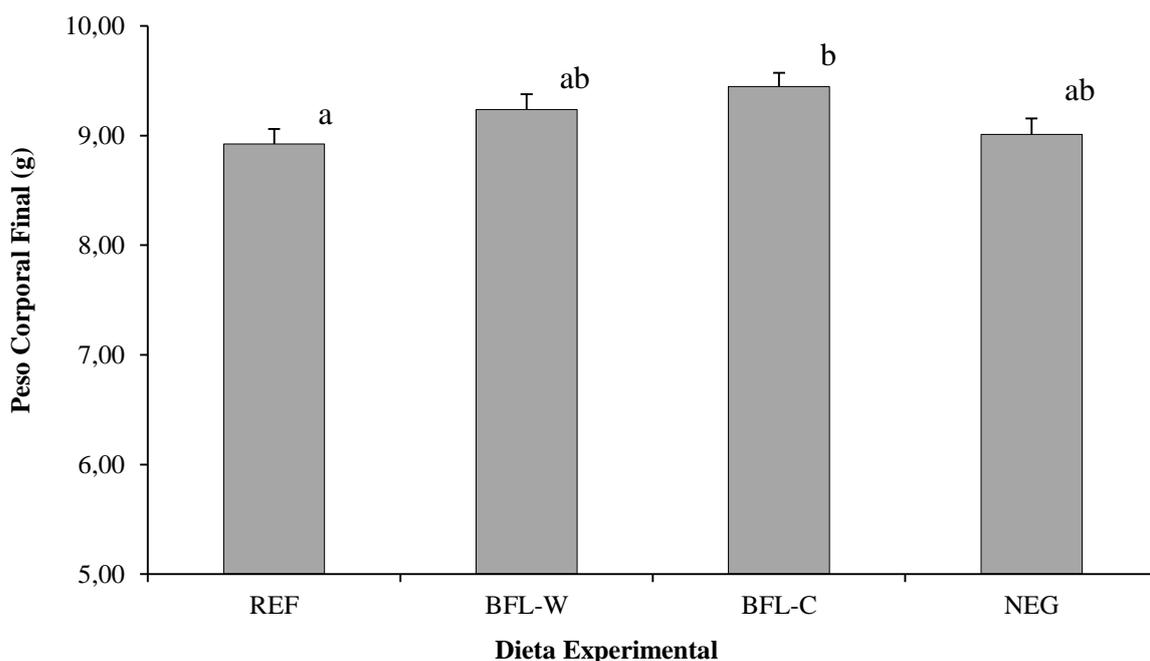


Figura 2 - Peso corporal final de juvenis de *L. vannamei* após 26 dias de cultivo em um sistema com recirculação e filtragem contínua de água. REF (referência), BFL-W (dieta contendo 300 g/kg de biofoco produzido a partir de água residual), BFL-C (dieta contendo 300 g/kg de biofoco produzido com água do estuário limpa) e NEG (controle negativo). Colunas com as mesmas letras indicam diferença estatística não significativa de acordo com o teste de Tukey HSD ao nível de significância de 0,05.

A dieta NEG apresentou os maiores valores de proteína bruta e gordura entre todas as dietas testadas (Tabela 4). Entretanto, esta dieta apresentou um menor coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para proteína bruta (74,7%), quando comparado aos níveis obtidos com BFL-W (75,0%) e a dieta referência (80,9%), porém maior que a BFL-C (73,1%). A dieta REF apresentou o maior CDA para ambos, proteína bruta e gordura (Tabela 4).

O baixo CDA para proteína bruta nas dietas BFL-W, BFL-C e NEG reflete a biodisponibilidade dos ingredientes testados. O CDA da proteína bruta na farinha de biofoco produzida com água residual (BFL-W) e com água do mar limpa (BFL-C) e a farinha de peixe produzida com resíduos do beneficiamento de pescado (NEG), alcançou 26,0, 25,7 e 64,1%, respectivamente. Da mesma forma, o CDA da gordura foi 78,9, 67,9, e 85,88%, respectivamente.

Em geral, o CDA da proteína bruta em ingredientes usados em rações para camarões varia entre 58 e 97% (NRC, 2011). Estas incluem farinha de sangue (CDA = 66-71%), farinha de canola (80%), farinha de glúten de milho (59%), farinha de semente de algodão (83%), farinha de anchova (83-89%), farinha de krill (81%), farinha de carne e ossos (60-88%), farinha de vísceras de aves (79%), farinha de camarão (58%), farelo de soja (89-97%) e concentrado proteico de soja (93%). Ingredientes com CDA de proteína bruta abaixo de 50% não são considerados viáveis para o uso como fonte proteica em dietas para camarões.

Tabela 4 – Conteúdo de proteína bruta e gordura, e coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de dietas contendo farinha de bioflocos produzidos com água residual do cultivo de camarão (BFL-W) e com água do estuário limpa (BFL-C). O controle negativo (NEG) continha 70% da dieta referência (REF) e 30% de farinha de resíduos de peixes.

Nutriente/CDA	Coeficiente de Digestibilidade Aparente (% base seca)/Dieta			
	REF	BFL-W	BFL-C	NEG
Proteína bruta (g/kg)	413	331	342	489
CDA da dieta (%)	80,9	75,0	73,1	74,7
CDA do ingrediente (%)	-	26,0	25,7	64,1
Gordura (g/kg)	85,7	49,1	50,9	97,9
CDA da dieta (%)	93,8	93,1	92,6	90,2
CDA do ingrediente (%)	-	78,9	67,9	85,8

No presente estudo, ambos os tipos de farinha de bioflocos mostraram uma digestibilidade muito baixa para proteína bruta, menor que o controle negativo (NEG). Até o presente momento nenhum valor de CDA para proteína bruta e gordura para bioflocos foram relatados na literatura. Entretanto, Kuhn *et al.* (2009) tiveram sucesso na substituição da farinha de soja e da farinha de peixe na alimentação de juvenis do *L. vannamei* por bioflocos produzido com efluentes do cultivo de tilápia. Kuhn *et al.* (2010) trabalharam com uma inclusão de bioflocos entre 10 a 30% da dieta. Os autores alcançaram uma maior taxa de crescimento dos camarões, entre 1,44 a 1,66 g/semana, quando os animais foram alimentados com dietas contendo bioflocos comparado aqueles sem essa dieta. Ju *et al.* (2008) produziram algumas dietas de laboratório para juvenis de *L. vannamei* contendo bioflocos (intacto ou em pó). Os autores relataram que camarões alimentados por 8 semanas com dietas contendo 20%

do bioflocos intactos, alcançaram as maiores taxas de crescimento mesmo quando comparados com um controle comercial.

Nesse estudo, o maior peso corporal final dos camarões foi observado quando os camarões foram alimentados com uma dieta contendo 30% dos bioflocos produzidos com água do estuário limpa e 70% da dieta referência. Estes dados sugerem que os bioflocos podem ter um efeito promotor no crescimento de *L. vannamei*. É possível que este efeito não esteja diretamente associado com a proteína presente nos bioflocos, mas com outros nutrientes, tais como macro (cálcio, fósforo, potássio e magnésio) e/ou micro minerais (cobre, ferro, manganês e zinco). No entanto, estes resultados devem ser confirmados por um maior período de cultivo (tipicamente 10 semanas). Análises químicas mais profundas devem ser realizadas em bioflocos para melhor compreender a sua influência sobre o crescimento dos camarões.

### **Conclusões**

Este estudo indicou que os bioflocos produzidos com água residual de cultivo de camarões ou água do estuário limpa através de reatores em batelada tem um baixo conteúdo de proteína disponível para juvenis de *L. vannamei*. Entretanto, apesar dos baixos níveis de gordura, estarem presentes, este nutriente demonstrou ser altamente disponível para a espécie. O perfil nutricional da farinha de biofloco foi caracterizado por um alto conteúdo de minerais. A inclusão da farinha de bioflocos na dieta pareceu ter um efeito promotor no crescimento dos camarões, o qual pode estar associado com minerais traços, ou outros nutrientes não identificados nesse estudo.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio financeiro através do edital MCT/CNPq de 14/2009-Universal, o qual tornou possível a execução deste trabalho.

## Referências

- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Arnold, S. J.; Coman, F. E.; Jackson, C. J.; Groves, S. A. 2009. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. *Aquaculture* 293:42-48.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264:140-147.
- Azim, M.E. and Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283:29-35.
- Ballester, E. L. C.; Abreu, P. C.; Cavalli, R. O.; Emerenciano, M.; Abreu, L.; Wasielesky, W. Jr. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition* 16:163-172.
- Bauer, W.; Prentice-Hernandez, C.; Tesser, M. B.; Wasielesky, W. Jr.; Poersch, L. H. S. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 342-343.
- Brown, J. J. and Glenn, E. P. 1999. Reuse of highly saline aquaculture effluent to irrigate a potential forage halophyte, *Suaeda esteroa*. *Aquacultural Engineering* 20:91-111.
- Buhmann, A. and Papenbrock, J. 2013. Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: Basic principles, current uses and future perspectives. *Environmental and Experimental Botany* 92:122-133.
- Bureau, D. P.; Harris, A. M.; Cho, C. Y. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180:345-358.
- Bureau, D. P. and Hua, K. 2006. Letter to the editor of *Aquaculture*. *Aquaculture* 252:103-105.
- Burford, M. A.; Thompson, P. J.; McIntosh, R. P.; Bauman, R. H.; Pearson, D. C. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232:525-537.

- Cho, C. Y. and Slinger, S. J. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. p. 239–247. In: Halver, J. and Tiews, K., eds. Proceedings of the World Symposium on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Hamburg, Germany.
- Cruz-Suárez, L. E.; Villarreal-Colmenares, H.; Tapia-Salazar, M.; Nieto-López, M. G.; Villarreal-Cavazos, D. A.; Ricque-Marie, D. 2008. Manual de metodologías de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* para ingredientes y dietas para camarón. Universidad Autónoma de Nuevo León, Mty., N.L., Mexico.
- Engle, C. R. and Valderrama, D. 2003. Farm-level costs of settling basins for treatment of effluents from levee-style catfish ponds. *Aquacultural Engineering* 28:171-199.
- GESAMP. 1991. Reducing environmental impacts of coastal aquaculture. *GESAMP Reports and Studies* 47:35 p.
- GESAMP. 1996. Monitoring the ecological effects of coastal aquaculture. *GESAMP Reports and Studies* 57:38 p.
- Hopkins, J. S.; Hamilton II, R. D.; Sandifer, P. A.; Browdy, C. L.; Stokes, A. D. 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics, and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 24:304-320.
- Jones, A. B.; Dennison, W. C.; Preston, N. P. 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. *Aquaculture* 193:155–178.
- Ju, Z. Y.; Foster, I.; Conquest, L.; Dominy, W. 2008. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition* 14:533-543.
- Kuhn, D. D. and Boardman, G. D. 2008. Use of microbial flocs generated from tilapia effluent as a nutritional supplement for shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in recirculating aquaculture systems. *Journal of the World Aquaculture Society* 39:72-82.
- Kuhn, D. D.; Boardman, G. D.; Lawrence, A. L.; Marsh, L.; Flick Jr., G. J. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture* 296:51-57.
- Kuhn, D. D.; Lawrence, A. L.; Boardman, G. D.; Patnaik, S.; Marsh, L.; Flick Jr., G. J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303:28-33.

- McIntosh, D. and Fitzsimmons, K. 2003. Characterization of effluent 322 from an inland, low-salinity shrimp farm: what contribution could this water make if used for irrigation. *Aquacultural Engineering* 27:147-156.
- Miranda, F. R.; Lima, R. N.; Crisóstomo, R. A.; Santana, M. G. S. 2008. Reuse of inland low-salinity shrimp farm effluent for melon irrigation. *Aquacultural Engineering* 39:1–5.
- NRC. 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. Animal Nutrition Series. National Research Council of the National Academies. The National Academies Press, Washington, D.C.
- Nunes, A. J. P. and Parsons, G. J. 2000. Effects of the Southern brown shrimp, *Penaeus subtilis*, predation and artificial feeding on the population dynamics of benthic polychaetes in tropical pond enclosures. *Aquaculture* 183: 125-147.
- Stewart, N. T.; Boardman, G. D.; Helfrich, L. A. 2006. Treatment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) raceway effluent using baffled sedimentation and artificial substrates. *Aquacultural Engineering* 35:166–178.
- Tho, N.; Merckx, R.; Ut, V. N. 2014. Impacts of saline water irrigation and shrimp pond discharges on the surrounding waters of a coastal district in the Mekong delta of Vietnam. *Environmental Earth Sciences* 71:2015-2027.
- Van-Haandel, A. and Marais, G. 1999. O comportamento do sistema de lodo ativado. Teoria e aplicações para projetos e operação. Campina Grande.
- Wasielesky Jr., W.; Atwood, H.; Stokes, A.; Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258:396-403.

## CAPÍTULO II

**Efeito da relação dietética de proteínas da soja, conteúdo lipídico da dieta e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais no desempenho zootécnico e digestibilidade do camarão branco *Litopenaeus vannamei*.**

Hassan Sabry-Neto<sup>1</sup>, Daniel Lemos<sup>2</sup>, Thiago Raggi<sup>2</sup>, Alberto J.P. Nunes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>LABOMAR – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Avenida da Abolição, 3207 – Meireles, Fortaleza, Ceará, 60.165-081, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Aquicultura (LAM), Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo (USP), Praça do Oceanográfico, 191 –Cidade Universitária, São Paulo, São Paulo, 05.508-900, Brasil.

Artigo submetido a *Aquaculture Nutrition* em 12/01/2015

**Efeito da relação dietética de proteínas da soja, conteúdo lipídico da dieta e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais no desempenho zootécnico e digestibilidade no camarão branco *Litopenaeus vannamei*.**

**RESUMO**

Este estudo avaliou os efeitos da relação dietética de proteínas da soja, conteúdo lipídico e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais sobre o desempenho zootécnico e digestibilidade do *L. vannamei*. Nove dietas vegetais variaram a relação de inclusão dietética da farinha de soja (SBM) e concentrado proteico de soja (SPC) em 1:2,3, 1:1 e 2,5:1 e o conteúdo lipídico das dietas em  $121,4 \pm 9,4$ ,  $102,3 \pm 1,2$  e  $79,9 \pm 1,2$  g/kg (na base seca). Uma dieta adicional, contendo 120 g/kg de farinha de salmão foi usada como controle. Um novo lote de dietas vegetais foi elaborado para conter 0,5, 10, 20 e 30 g/kg de farinha de Krill. Após 10 semanas de cultivo em tanques de  $0,5 \text{ m}^3$  com água limpa, não foi observado nenhum efeito sobre a sobrevivência final dos camarões com resultado da variação na relação dietética SBM:SPC e do conteúdo lipídico das mesmas. Entretanto, os níveis dietéticos de lipídios de 80 e 121 g/kg combinado com uma alta relação SPC:SBM resultou no menor peso corporal final e menor digestibilidade aparente da proteína bruta, respectivamente. A farinha de Krill aumentou o consumo alimentar na inclusão de 10 g/kg da dieta, enquanto a 20 g/kg, acelerou o crescimento dos camarões, aumentou a produtividade e reduziu o Fator de Conversão Alimentar (FCA).

**Palavras chaves:** proteínas da soja, dietas vegetais, desempenho, digestibilidade, camarão, farinha de krill.

**Effects of soy protein ratio, lipid content and minimum level of krill meal in plant-based diets in the growth and digestibility of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei***

**ABSTRACT**

This study evaluated the effects of soy protein ratio, lipid content and the minimum dietary level of krill meal in plant-based diets over the growth performance and digestibility of *L. vannamei*. Nine plant-based diets varied the soybean meal (SBM) and soy protein concentrate (SPC) inclusion ratio at 1:2.3, 1:1, and 2.5:1, and their dietary lipid content at  $121.4 \pm 9.4$ ,  $102.3 \pm 1.2$ , and  $79.9 \pm 1.2$  g kg<sup>-1</sup> (in a dry matter basis). An additional diet containing 120 g kg<sup>-1</sup> of salmon by-product meal was used as a control. Krill meal was included at 0, 5, 10, 20, and 30 g kg<sup>-1</sup> in a new set of plant-based diets. After 10 weeks in clear-water tanks of 0.5 m<sup>3</sup>, no effect of SBM:SPC ratio and dietary lipid content was detected on shrimp survival. However, dietary lipid levels of 80 and 121 g kg<sup>-1</sup> combined with a high SPC to SBM resulted in the lowest final body weight and the poorest apparent crude protein digestibility, respectively. Krill meal increased feed intake at only 10 g kg<sup>-1</sup>, while at 20 g kg<sup>-1</sup>, it accelerated shrimp growth, increased yield and reduced FCR.

**Keywords:** soy proteins, plant-based diets, performance, digestibility, shrimp, krill meal

## Introdução

Material vegetal como sementes, algas e macrófitas aquáticas é frequentemente encontrado como parte do conteúdo estomacal de camarões peneídeos silvestres e cultivados (Dall *et al.*, 1990). Algumas espécies possuem o hábito alimentar herbívoro pronunciado no estágio juvenil de desenvolvimento, migrando progressivamente para uma dieta mais carnívora na fase adulta (Reymond e Lagardère, 1990; Nunes *et al.*, 1996, 1997; Focken *et al.*, 1998).

Somente nos últimos anos que a habilidade dos peneídeos em processar e absorver nutrientes de uma grande variedade de fontes alimentares de origem vegetal tem sido aplicada na formulação de rações para o cultivo de organismos aquáticos. Esta tendência tem sido dirigida, principalmente, por um suprimento instável e por elevados preços da farinha de peixe no mercado. Como resultado, as rações comerciais para camarões marinhos vêm aumentando o uso de proteínas vegetais, especialmente a soja (Sookying *et al.*, 2013).

Estudos têm demonstrado que o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, pode ser cultivado sem efeitos deletérios no seu crescimento, com dietas contendo de 50 a mais que 80% da sua composição derivada de ingredientes vegetais principalmente o farelo de soja (Sookying *et al.*, 2011; Sookying e Davis, 2011; Roy *et al.*, 2009; Fox *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2011). Isto tem sido possível devido a uma melhor compreensão sobre as exigências nutricionais dos camarões (NRC, 2011), disponibilidade comercial de fontes mais refinadas de proteínas da soja (Cruz-Suárez *et al.*, 2009; Sá *et al.*, 2013) e aminoácidos cristalinos (Forster e Dominy, 2006; Fox *et al.*, 2011; Browdy *et al.*, 2012; Gu *et al.*, 2013; Nunes *et al.*, 2014). Esses progressos têm superado parcialmente os fatores anti-nutricionais (Francis *et al.*, 2001) e a deficiência de alguns nutrientes essenciais, característicos de muitos ingredientes de origem vegetal (Gatlin *et al.*, 2007).

O crescente aumento no uso de proteínas de origem vegetal em dietas para camarões requer uma abordagem mais abrangente para permitir uma maior aplicação do conceito de dietas vegetais e uma menor dependência das proteínas marinhas. Isto inclui aspectos relacionados ao balanço de ingredientes e nutrientes, digestibilidade de nutrientes essenciais e uso racional de proteínas marinhas. A utilização de ingredientes alternativos para substituir em parte ou integralmente a farinha de peixe vem sendo aplicado na formulação de rações para camarões marinhos, no entanto, estudos que contribuam para um melhor entendimento da digestibilidade desses materiais são necessários.

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da relação dietética de proteínas da soja, conteúdo lipídico e nível mínimo de farinha de krill em dietas baseadas em ingredientes vegetais sobre o desempenho zootécnico e digestibilidade em juvenis do camarão branco *L. vannamei*.

## **Material e métodos**

### ***Desenho experimental***

Este estudo foi dividido em três etapas realizadas de forma consecutiva com juvenis do camarão branco *L. vannamei* para determinar: (1) o efeito de dietas vegetais sobre o desempenho zootécnico da espécie cultivada em água clara; (2) o coeficiente de digestibilidade aparente para a proteína, lipídios e energia bruta de dietas vegetais para juvenis da espécie, e; (3) avaliar o nível mínimo dietético de farinha de krill em dietas vegetais capazes de promover o crescimento de juvenis da espécie.

Para as etapas (1) e (2), nove dietas foram formuladas e compostas em mais de 90% por ingredientes vegetais de origem aquática ou terrestre. As dietas foram divididas em três grupos, cada uma variando a relação dietética do farelo de soja e do concentrado proteico de soja (relação SBM:SPC) e seus conteúdos em lipídios. Uma dieta adicional foi usada como controle, contendo 450,0, 120,0 e 19,5 g/kg (como base) de SBM, farinha de salmão e farinha de carne e ossos, respectivamente. Na etapa (3), uma dieta vegetal foi formulada sem farinha de krill. A partir dessa dieta, quatro outras dietas experimentais foram preparadas, aumentando gradualmente as inclusões de farinha de krill, em 5, 10, 20 e 30 g/kg da dieta (g/kg na base natural).

### ***Local de estudo, sistema de cultivo e manejo***

Os estudos sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* foram realizados no Centro de Estudos em Ambientes Costeiros (CEAC) do LABOMAR/UFC (Eusébio, CE). Na etapa (1), camarões com  $3,13 \pm 0,35$  g (média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 2.000$ ) de peso corporal foram estocados na densidade de 72 animais/m<sup>2</sup> (41 camarões/tanque), em 50 tanques de 0,5 m<sup>3</sup>, com filtragem e recirculação contínua de água. Inicialmente, os camarões foram aclimatados por 13 dias com uma ração comercial para engorda de camarões

marinhos contendo 350 g/kg de proteína bruta. Inicialmente, camarões com peso corporal de  $3,97 \pm 0,52$  g ( $n = 500$ ) foram alimentados com nove dietas vegetais e uma dieta controle por 73 dias. Cinco tanques de cultivo foram designados para cada tipo de dieta. Durante o período de cultivo, a salinidade da água, o pH e a temperatura alcançaram  $36 \pm 2$  g/L ( $n = 2.950$ ),  $7,85 \pm 0,18$  ( $n = 2.950$ ), e  $28,5 \pm 0,56^{\circ}\text{C}$  ( $n = 2.950$ ), respectivamente.

Na fase (3) do estudo, camarões com  $2,84 \pm 0,52$  g ( $n = 800$ ) foram estocados na densidade de 70 camarões/m<sup>2</sup> (40 camarões/tanque) e cultivados por 72 dias, com dietas experimentais, em 20 tanques de 0,5 m<sup>3</sup>, abrigados em área coberta. Nesta etapa, foram designados quatro tanques para cada tipo de dieta. Durante o período de cultivo, a qualidade da água foi mantida a  $35 \pm 1$  g/L de salinidade ( $n = 1.260$ ),  $7,95 \pm 0,36$  de pH ( $n = 1,260$ ) e  $28,2 \pm 0,65^{\circ}\text{C}$  de temperatura ( $n = 1.260$ ). Nas fases de cultivo (1) e (3) a qualidade da água e o manejo alimentar seguiram um protocolo similar ao descrito por Nunes *et al.* (2011).

Na fase (2), a digestibilidade aparente (proteína, lipídios e energia) das dietas vegetais contendo 5 g/kg de óxido de cromo III foi avaliada na Estrutura de Aquicultura Marinha da Universidade de São Paulo (Instituto Oceanográfico, Ubatuba, SP) durante 50 dias. Camarões com  $4,69 \pm 0,17$  g ( $n = 1.350$ ) de peso corporal foram estocados em 30 tanques cônicos levemente circulares com 0,5 m<sup>3</sup> cada (1.040 x 675 mm; diâmetro x altura). Os tanques foram estocados com até 70 camarões/m<sup>2</sup> (45 camarões/tanque), sendo designadas três réplicas por dieta em adição ao controle. Todos os tanques de cultivo apresentavam um dispositivo individual de decantação, conforme descrito por Carvalho (2011) e Carvalho *et al.* (2013), acoplados a tubos Falcon de 50 mL para repouso e coleta das fezes dos camarões e alimento não consumido. Os camarões foram alimentados continuamente com alimentadores automáticos das 12:00 às 07:00 h da manhã do dia seguinte (80% da ração diária) e às 11:30 h (20% da ração diária). A coleta de fezes foi realizada cinco dias por semana, 1 h após os tubos Falcon serem limpos pela manhã (09:15, 10:15 e 11:15 h) e a tarde (13:30; 14:30 e 15:30 h). As amostras de fezes dos camarões foram filtradas com uma bomba a vácuo, seguindo-se de uma lavagem suave com água destilada para remoção do sal e estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Todas as amostras foram liofilizadas precedendo às análises químicas.

As amostras das dietas experimentais e fezes foram analisadas em replicata para proteína bruta (micro Kjeldahl), lipídios totais (extrato etéreo) e energia bruta (bomba calorimétrica adiabática) de acordo com a AOAC (2002). O conteúdo do marcador inerte nas dietas e fezes foi analisado como cromo em replicatas, por espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES), através de um Arcos-SOP (Spectro

Analytical Instruments GmbH) com solução de cromo padrão (Specsol, 1,00 mg/g +/- 0,003 mg/g), rastreado por um material padrão de referência (3112a – NIST, EUA). Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das dietas testes foram calculados segundo Sugiura *et al.* (1998), como:  $CDA (\%) = 100 - [100 (\% \text{ nutriente ou energia nas fezes} \div \% \text{ nutriente ou energia nas dietas}) \times (\% \text{ marcador nas dietas} \div \% \text{ marcador nas fezes})]$

### ***Dietas***

Novas dietas com base vegetal e uma dieta controle foram formuladas para serem isonitrogenadas ( $444,2 \pm 6,2$  g/kg, base da matéria seca) e isoenergéticas ( $21,2 \pm 0,5$  MJ/kg). As dietas vegetais foram divididas em três grupos, cada uma variando a relação dietética de inclusão do farelo de soja (SBM) e do concentrado proteico de soja (SPC) e seus conteúdos lipídicos nas dietas (Tabela 1). Os ingredientes vegetais foram de origem terrestre ou aquática e ocuparam acima de 90% do total da composição da dieta. A farinha de trigo foi usada em uma inclusão fixa de 200,0 g/kg (na base natural) para aumentar a estabilidade física do pelete na água. A farinha de Spirulina foi adicionada a 5,0 g/kg como um promotor da atratividade e palatabilidade (Silva-Neto *et al.*, 2012).

O SBM e o SPC agiram como a principal fonte de proteína nas dietas. A relação da inclusão nas dietas (SBM:SPC) atingiram proporções aproximadas de 1:2,3 (346 e 150 g/kg, respectivamente), 1:1 (260 e 260 g/kg) e 2,5:1 (155 e 400 g/kg). Para cada uma das relações SBM:SPC, três níveis dietéticos de lipídios foram adotados:  $121,4 \pm 9,4$ ,  $102,3 \pm 1,2$  e  $79,9 \pm 1,2$  g/kg (na base da matéria seca). A manipulação dos níveis lipídicos nas dietas ocorreu variando as inclusões do óleo de soja. De forma a acomodar os diferentes níveis de óleo de soja e SBM, a inclusão do glúten de milho e do farelo de arroz sofreu uma pequena variação entre as dietas. O óleo de salmão, a lecitina de soja e o colesterol foram incluídos a níveis fixos de 20,0, 20,0, e 1,0 g/kg para garantir concentrações dietéticas mínimas de ácidos graxos poliinsaturados da série ômega-3 (*n-3 LC-PUFA*; Sá *et al.*, 2013), fosfolipídios e colesterol (Gong *et al.*, 2000; Morris *et al.*, 2011), respectivamente.

Tabela 1 – Ingredientes e composição bromatológica das dietas vegetais.

Ingredientes	Dietas/Composição (g/kg da dieta, base natural) <sup>1</sup>									
	1:2,3/121	1:2,3/102	1:2,3/80	1:1/121	1:1/102	1:1/80	2,5:1/121	2,5:1/102	2,5:1/80	Controle
Concentrado protéico de soja <sup>2</sup>	3450	345,0	346,7	260,0	260,0	260,0	157,5	154,6	152,2	4,3
Farelo de soja <sup>3</sup>	150,0	150,0	150,0	260,0	260,0	260,0	400,0	400,0	400,0	450,0
Farinha de trigo <sup>4</sup>	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	194,9	200,0	200,0	200,0
Glúten de milho <sup>5</sup>	67,1	64,9	62,2	74,9	72,7	70,4	80,0	80,0	80,0	40,3
Óleo de soja <sup>6</sup>	67,0	46,3	21,1	65,4	44,7	24,0	63,5	42,7	21,9	10,0
Quirreria de arroz <sup>7</sup>	67,0	90,0	100,0	35,7	58,7	81,7	0,0	18,6	41,8	77,5
Farinha de Spirulina	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	0,0
Farinha de salmão <sup>8</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	120,0
Farinha de carne e ossos <sup>9</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	19,5
Sulfato de magnésio	6,2	6,2	7,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
Sal comum	4,7	4,7	5,0	4,9	4,9	4,9	5,0	5,0	5,0	0,0
Outros <sup>10</sup>	88,0	88,0	88,0	88,0	88,0	88,0	88,0	88,0	88,0	72,2
Composição aproximada (g/kg da dieta, base da matéria seca)										
Proteína bruta <sup>15</sup>	448,0	452,8	443,2	437,5	451,3	448,8	442,6	440,8	444,7	432,6
Gordura bruta <sup>15</sup>	125,9	102,8	78,5	127,5	103,2	81,0	121,0	100,9	80,2	71,4
Fibra bruta <sup>15</sup>	14,7	14,6	13,2	19,0	16,2	17,9	25,1	24,1	22,2	23,1

Cinzas <sup>15</sup>	125,9	102,8	78,5	127,5	103,2	81,0	121,0	100,9	80,2	71,4
Extrato não nitrogênado <sup>16</sup>	338,2	355,3	380,8	340,1	351,5	374,6	330,2	352,9	371,6	382,6
Energia bruta <sup>15</sup> (MJ/kg)	21,9	21,5	21,1	20,7	20,4	21,0	21,5	21,4	21,4	21,1

<sup>1</sup>Relação dietética (SBM:SPC)/conteúdo de gordura bruta na dieta. Farelo de soja (SBM): concentrado proteico de soja (SPC).

<sup>2</sup>Sementes Selecta S.A. (Goiânia, GO.), 626,3 g/kg de proteína bruta (PB); 7,7 g/kg de gordura bruta; 42,3 g/kg de cinzas; 43,3 g/kg de fibra bruta (FB); 82,2 g/kg umidade.

<sup>3</sup>Farelo de Soja 46, Bunge Alimentos S.A. (Luis Eduardo Magalhães, BA). 455,8 g/kg de PB; 22,8 g/kg de gordura; 61,5 g/kg de cinzas; 56,7 g/kg de FB; 111,1 g/kg de umidade.

<sup>4</sup>Dona Benta Tipo 1, J, Macedo S.A. (Fortaleza, CE). 119,5 g/kg de PB; 30,1 g/kg de gordura; 5,8 g/kg de cinzas; 0,5 g/kg de FB; 100,0 g/kg de umidade.

<sup>5</sup>Protenose<sup>®</sup>, Ingredion Brasil (São Paulo, SP). 657,9 g/kg de PB; 26,7 g/kg de gordura; 13,7 g/kg de cinzas; 17,4 g/kg de FB; 75,6 g/kg de umidade.

<sup>6</sup>Bunge Alimentos S.A. (Luis Eduardo Magalhães, BA). 980,0 g/kg de gordura.

<sup>7</sup>Usina Catende (Catende, PE.), 65,2 g/kg de PB; 15,3 g/kg de gordura; 9,0 g/kg de cinzas; 4,3 g/kg de FB; 116,7 g/kg de umidade.

<sup>8</sup>Pesquera Pacific Star S.A. (Puerto Montt, Chile). 739,1 g/kg PB; 122,6 g/kg de gordura; 156,7 g/kg de cinzas; 8,56 g/kg de FB; 110,9 g/kg de umidade.

<sup>9</sup>NORDAL Nordeste Indl, de Derivados Animais Ltda. (Maracanaú, CE). 409,7 g/kg de CP; 151,1 g/kg de gordura; 335,98 g/kg de cinzas; 26,6 g/kg de FB; 67,8 g/kg de umidade.

<sup>10</sup>Outros (dietas vegetais e controle) incluídos, respectivamente: 20,0 e 9,18 g/kg de fosfato de cálcio; 20,0 g/kg de premix vitamínico-mineral<sup>11</sup>; 20,0 e 25,0 g/kg de lecitina de soja<sup>12</sup>; 20 e 10 g/kg de óleo de salmão<sup>13</sup>; 10,0 g/kg de cloreto de potássio (somente na dieta 1:2/100); 7,0 g/kg aglutinante sintético; 1,0 g/kg de colesterol<sup>14</sup>.

<sup>11</sup>Rovimix Camarão Extensivo, DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, SP), Níveis de garantia por kg do produto: vitamina A, 1,000,000 IU; vitamina D3, 300,000 IU; vitamina E, 15,000 IU; vitamina K3, 300,0 mg; vitamina B1, 3,000,0 mg; vitamina B2, 2,500,0 mg; vitamina B6; 3,500,0 mg; vitamina B12, 6,0 mg; ácido nicotínico, 10,000,0 mg; ácido pantotênico, 5,000,0 mg; biotina, 100,0 mg; ácido fólico, 800,0 mg; vitamina C, 25,000,0 mg; colina, 40,000,0 mg; inositol, 20,000,0 mg; ferro 2,000,0 mg; cobre, 3,500,0 mg; cobre quelatado, 1,500,0 mg; zinc, 10,500,0 mg; zinco quelatado, 4,500,0 mg; manganês, 4,000,0 mg; selênio, 15,0 mg; selênio quelatado, 15,0 mg; iodo, 150,0 mg; cobalto, 30,0 mg; cromo 80,0 mg; preenchedor, 1,000,0 g.

<sup>12</sup>Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (Paulínia, SP). 927,6 g/kg de gordura; 61,1 g/kg de cinzas; 620,0 de fosfolipídio total.

<sup>13</sup>Pesquera Pacific Star S.A. (Puerto Montt, Chile), 980,0 g/kg de gordura.

<sup>14</sup>Cholesterol XG, Dishman Netherlands B.V. (Veenendaa, Holanda). 91 g/kg de colesterol ativo.

<sup>15</sup>Valores analisados.

<sup>16</sup>Calculado pela diferença (1.000.0 - PB - gordura - fibra - cinzas).

Uma dieta adicional foi formulada para agir como controle. Esta dieta continha aproximadamente os mesmos ingredientes das dietas vegetais, exceto em relação à inclusão de farinha de salmão e farinha de carne e ossos, incluídos a 120,0 e 19,55 g/kg, respectivamente. Nenhuma farinha de *Spirulina* foi incluída nesta dieta, sendo que a inclusão de SBM foi incrementada para 450,0 g/kg. A inclusão de SPC, glúten de milho e óleo de salmão foram reduzidos para 4,3, 40,3 e 10,0 g/kg, respectivamente. As dietas usadas para os ensaios de digestibilidade aparente foram preparadas usando óxido de cromo III ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) como marcador inerte. O óxido de cromo foi incorporado em todas as fórmulas sob a inclusão de 5 g/kg ao custo da farinha de trigo.

Um novo grupo de dietas vegetais foi preparado para determinar o nível mínimo de farinha de krill na dieta capaz de promover um aumento no crescimento de juvenis do camarão *L. vannamei* (Tabela 2). Estas dietas continham uma relação SBM:SPC de 1:2 (150 e 300 g/kg) e conteúdo lipídico bruto de 109,1 g/kg. A farinha de krill foi incluída a 5, 10, 20 e 30 g/kg do total ao custo do glúten de milho. Como a inclusão da farinha de krill na dieta aumentou, o óleo de soja foi ajustado para manter uniforme o teor de gordura bruta em todas as dietas. Uma dieta adicional, sem qualquer farinha de krill, foi usada como controle.

Tabela 2 - Composição das dietas baseadas em plantas com o mínimo de inclusão de farinha de krill.

Ingredientes <sup>1</sup>	Dietas/Composição (g/kg da dieta, base natural) <sup>1</sup>				
	Controle	Inclusão de Farinha de Krill (g/kg da dieta)			
		5	10	20	30
SPC	300,0	300,0	300,0	300,0	300,0
Farinha de trigo	240,0	240,0	240,0	240,0	240,0
Farinha de soja	150,0	150,0	150,0	150,0	150,0
Glúten de milho	108,4	104,0	99,5	90,6	81,8
Quirreria de arroz	57,6	57,9	58,1	58,7	59,1
Óleo se soja	45,1	44,3	43,5	41,8	40,2
Farinha de krill <sup>2</sup>	0,0	5,0	10,0	20,0	30,0
Sal comum	4,8	4,8	4,8	4,7	4,7
Outros <sup>3</sup>	94,1	94,1	94,1	94,1	94,1
Composição aproximada (base da matéria seca em g/kg da dieta)					
Proteína bruta <sup>4</sup>	392,6	392,6	392,7	392,7	392,7
Gordura bruta <sup>4</sup>	109,1	109,1	109,1	109,1	109,1
Fibra bruta <sup>4</sup>	26,0	26,1	26,4	26,9	27,4
Cinza <sup>4</sup>	28,9	29,6	30,2	31,5	32,8
Extrato não nitrogênado <sup>5</sup>	443,4	442,6	441,7	439,8	438,0
Energia bruta <sup>6</sup> (MJ/kg)	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1

<sup>1</sup>A composição dos ingredientes são apresentados na Tabela 1.

<sup>2</sup>QRILL™ meal, Aker Biomarine ASA (Oslo, Noruega). 580,0 g/kg de proteína bruta (PB); 180,0 g/kg de gordura; 130,0 g/kg de cinzas; 60,0 g/kg de fibra bruta (FB); 71,0 g/kg de umidade.

<sup>3</sup>Outros: 20,0 g/kg de fosfato de cálcio; 20,0 g/kg de premix vitamínico-mineral; 20,0 g/kg de lecitina de soja; 20 g/kg de óleo de salmão; 7,0 g/kg de aglutinante sintético; 6,1 g/kg de sulfato de magnésio; 1,0 g/kg de colesterol.

<sup>4</sup>Valores projetados baseados na composição química dos ingredientes.

<sup>5</sup>Calculado pela diferença (1.000,0 - proteína - gordura - fibra - cinza).

<sup>6</sup>Calculado usando um valor de energia para proteína, gordura e carboidrato de 5,64 kcal/g, 9,44 kcal/g e 4,11 kcal/g, respectivamente.

As dietas de todos os experimentos foram preparadas com equipamentos laboratoriais conforme descrito por Nunes *et al.* (2011). A matéria seca (secagem em estufa entre 103 e 105°C), cinzas (incineração da amostra em forno mufla a 550°C), proteína bruta (método Kjeldahl para estimar o nitrogênio), lipídios bruto (resultante do resíduo extraído com éter dietílico), fibra bruta (hidrólise ácida e alcalina) e energia bruta (bomba calorimétrica) foram determinadas seguindo métodos padrões (AOAC 2002).

### ***Desempenho zootécnico, digestibilidade e análises estatísticas.***

Em todos os experimentos os camarões foram individualmente pesados e estocados para determinar seu peso corporal inicial e final (g), taxa de crescimento semanal (g/semana), ganho de produtividade (g de camarão despescado por m<sup>2</sup>) e sobrevivência (%). O FCA (fator de conversão alimentar) foi calculado baseado na ingestão aparente de ração (g de alimento ingerido por camarão estocado) determinado na base da matéria seca de acordo com Nunes *et al.* (2006).

As análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences*, versão Windows 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA). O efeito da relação de inclusão dietética do SBM:SPC e do conteúdo lipídico das dietas sobre o desempenho zootécnico dos camarões e dos coeficientes de digestibilidade aparente foram analisados por Análise de Variância Multivariada (MANOVA) arranjada em um esquema fatorial 3x3. Na análise do efeito do nível de inclusão na dieta da farinha de krill sobre o desempenho do zootécnico dos camarões foi aplicado uma Análise de Variância Univariada (ANOVA) para experimentos completamente randomizados. Sempre que diferenças estatísticas foram detectadas entre as médias, estas foram comparadas duas a duas com o teste de Tukey HSD. O nível de significância de 5% foi considerado em todas as análises.

## **Resultados**

Após 72 dias de alimentação com dietas vegetais, a sobrevivência final dos camarões excedeu 84% (Tabela 3). Não houve efeito estatístico significativo da relação SBM:SPC ou do conteúdo lipídico sobre a sobrevivência final dos camarões ( $P > 0,05$ ; Two-Way ANOVA). Entretanto, os camarões alimentados com a dieta contendo uma relação SBM:SPC e um conteúdo lipídico de 1:1 e 121 g/kg, 2,5:1 e 102 g/kg e 2,5:1 e 80 g/kg, respectivamente,

alcançaram uma menor sobrevivência comparados aqueles camarões alimentados com a dieta controle ( $P < 0,05$ , Tukey HSD). O crescimento médio semanal dos camarões ( $0,72 \pm 0,10$  g), o ganho de produtividade ( $532 \pm 89$  g/m<sup>2</sup>), o consumo alimentar aparente ( $16,8 \pm 1,3$  g/camarão estocado) e o FCA ( $2,34 \pm 0,48$ ), não tiveram diferença estatística entre as dietas experimentais ( $P > 0,05$ ; One-Way ANOVA).

Tabela 3 - Desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais, por 72 dias, sob um sistema de cultivo com água clara. Asteriscos (\*) indicam diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ ).

Desempenho Zootécnico	Relação SBM:SPC	Conteúdo lipídico (g/kg da dieta, base seca)		
		121	102	80
Sobrevivência final (%)	1:2,3	85,4 ± 8,3	88,3 ± 4,0	87,3 ± 4,4
	1:1	84,4 ± 8,0*	86,3 ± 3,7	86,3 ± 3,7
	2,5:1	89,3 ± 3,7	84,9 ± 5,3*	84,4 ± 5,6*
	Controle	-	-	94,1 ± 4,1*
Crescimento (g/semana)	1:2,3	0,75 ± 0,09	0,74 ± 0,04	0,70 ± 0,14
	1:1	0,72 ± 0,13	0,71 ± 0,14	0,71 ± 0,13
	2,5:1	0,71 ± 0,02	0,72 ± 0,12	0,71 ± 0,07
	Controle	-	-	0,75 ± 0,13
Ganho de produtividade (g/m <sup>2</sup> )	1:2,3	530 ± 92	555 ± 58	512 ± 102
	1:1	500 ± 90	514 ± 119	512 ± 107
	2,5:1	538 ± 40	507 ± 120	493 ± 74
	Controle	-	-	606 ± 86
Consumo aparente de ração (g/camarão)	1:2,3	17,8 ± 1,5	16,5 ± 1,3	16,2 ± 1,3
	1:1	16,6 ± 1,7	16,3 ± 2,7	17,4 ± 0,6
	2,5:1	16,5 ± 0,6	16,8 ± 0,2	17,5 ± 0,5
	Controle	-	-	16,4 ± 0,6
FCA	1:2,3	2,48 ± 0,64	2,14 ± 0,28	2,33 ± 0,53
	1:1	2,44 ± 0,53	2,30 ± 0,36	2,52 ± 0,59
	2,5:1	2,20 ± 0,19	2,50 ± 0,77	2,57 ± 0,42
	Controle	-	-	1,96 ± 0,33
Two-Way ANOVA		Relação SBM:SPC	Conteúdo lipídico	Rel. SBM:SPC x conteúdo lipídico
Sobrevivência Final		0,806	0,969	0,484
Crescimento		0,866	0,851	0,991
Ganho de Peso		0,751	0,822	0,936
Consumo de ração		0,950	0,576	0,238
FCA		0,811	0,695	0,687

O peso corporal final dos camarões também não diminuiu quando estes foram alimentados com dietas vegetais (Figura 1). Entretanto, um declínio no peso corporal final dos camarões foi detectado quando o conteúdo de lipídios de dietas com uma relação SBM:SPC de 1:2,5 foi reduzida para 80 g/kg ( $P < 0,05$ ; One-Way ANOVA). Comparativamente, camarões alimentados com essa dieta também alcançaram um menor peso corporal final com aqueles alimentados com a dieta controle ( $P < 0,05$ ; Tukey HSD). Uma baixa e não significativa correlação foi detectada entre a porcentagem de ganho de peso corporal dos camarões e a relação SBM:SPC ou com o conteúdo lipídico das dietas ( $P > 0,05$ ; coeficiente de correlação de Pearson).

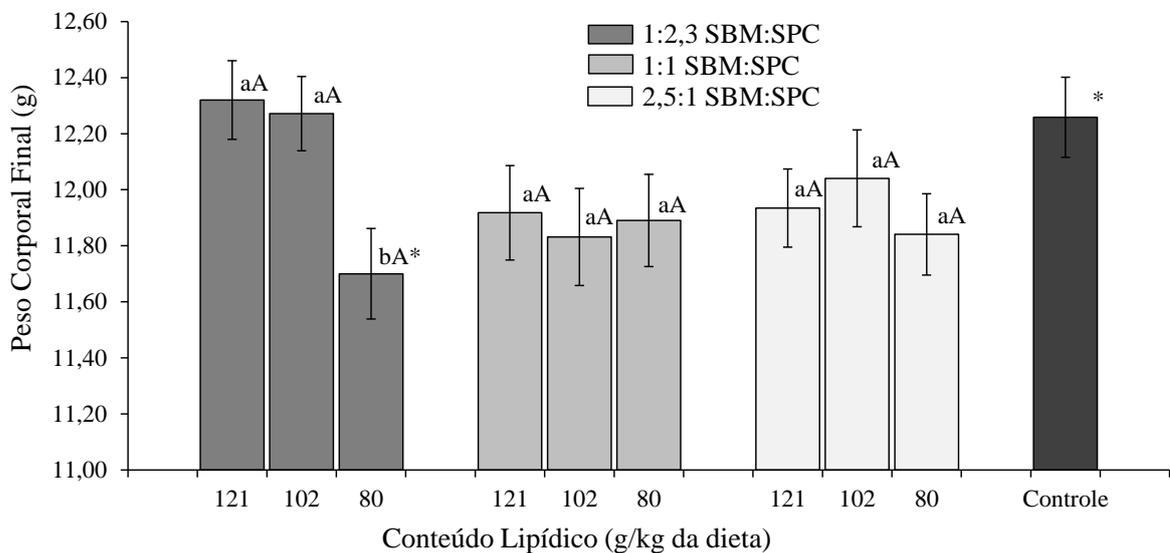


Figura 1 - Peso corporal final de juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais durante 73 dias, sob um sistema de cultivo com água limpa. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa entre as dietas experimentais ao nível de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD. Letras maiúsculas se referem à relação SBM:SPC dentro do mesmo conteúdo lipídico da dieta, enquanto letras minúsculas, vice-versa. Asterisco indica diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ ).

No ensaio de digestibilidade, os camarões foram despesados com  $9,48 \pm 0,68$  g de peso corporal, após 50 dias de cultivo. Não houve diferença estatística significativa para a sobrevivência final dos camarões ( $82,2 \pm 10,4\%$ ;  $P > 0,05$ , One-Way ANOVA) entre os tratamentos dietéticos avaliados. Nesta etapa experimental, o peso corporal final dos camarões foi significativamente mais elevado quando estes foram alimentados com a dieta controle

(10,82 ± 2,60 g,  $P < 0,05$ ). Entretanto, não foi observado diferença significativa ao se comparar a dieta controle com a dieta com uma relação SBM:SP de 1:1 e um conteúdo lipídico de 80 g/kg ( $P > 0,05$ , One-Way ANOVA). O crescimento semanal dos camarões foi mais elevado para a dieta controle (0,85 ± 0,03 g;  $P < 0,05$ ), mas não houve diferença com as dietas com uma relação SBM:SPC de 1:1 e 80 g/kg de lipídios e 2,5:1 SBM:SPC e 102 g/kg de lipídios ( $P > 0,05$ ). Da mesma forma, o FCA foi significativamente menor no tratamento controle (1,77 ± 0,05 g) em comparação a maioria das outras dietas ( $P < 0,05$ ). Entretanto, nenhuma diferença estatística foi encontrada no FCA entre o controle e as dietas contendo 2,5:1 SBM:SPC com 80 ou 102 g/kg de lipídios, e a relação SBM:SPC de 1:1 com 80 g/kg de lipídios ( $P > 0,05$ ).

O coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB) das dietas vegetais variou de 71,3 ± 1,53 a 78,5 ± 2,90% (Tabela 4). O CDAPB foi significativamente afetado pela relação SBM:SPC e pelo conteúdo de lipídios das dietas ( $P > 0,05$ , Two-Way ANOVA). Na dieta com um conteúdo lipídico de 102 g/kg houve uma tendência de aumento do CDAPB quando a relação SBM:SPC aumentou de 1:2,3 para 2,5:1 ( $P < 0,05$ , Tukey HSD). Não existiu diferença estatística significativa no CDAPB entre as dietas vegetais e a dieta controle (82,1 ± 2,42%;  $P > 0,05$ , Tukey HSD). Exceção foi observada ao se comparar o CDAPB da dieta controle e a dieta com uma relação SBM:SPC de 2,5:1 e um conteúdo de lipídios de 121 g/kg ( $P < 0,05$ ).

O coeficiente de digestibilidade aparente da gordura bruta (CDAG) das dietas vegetais foi afetada de forma significativa pela relação SBM:SPC e por seu conteúdo lipídico ( $P < 0,05$ , Two-Way ANOVA). Embora o CDAG da gordura tenha excedido 97% para todas as dietas, aquelas contendo uma relação SBM:SPC de 1:1 com 102 ou 80 g/kg de lipídeos alcançaram CDAG mais baixos entre todas as dietas testadas ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, as dietas com 102 g/kg de lipídios e uma relação SBM:SPC de 1:2,3 ou de 2,5:1 exibiram um CDAG próximo a 99%, significativamente mais elevado do que a dieta controle ( $P < 0,05$ , Tukey HSD).

Tabela 4 - Coeficientes da digestibilidade aparente (CDA) da proteína, lipídios e energia de dietas vegetais para juvenis do *L. vannamei*. Letras minúsculas denotam diferenças não significativas entre as dietas ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD. Letras maiúsculas se referem a comparações entre as relações SBM:SPC dentro de um mesmo conteúdo lipídico da dieta, enquanto as minúsculas vice-versa. Asteriscos (\*) indicam diferença estatística significativa entre as dietas experimentais e a dieta controle ( $P < 0,05$ ).

CDA (%)	Relação SBM:SPC	Conteúdo Lipídico (g/kg da dieta, matéria seca)		
		121	102	80
Proteína	1:2,3	71,3 ± 1,53aA*	73,2 ± 2,07aA	75,7 ± 1,50aA
	1:1	77,3 ± 2,54aA	77,2 ± 2,04aAB	78,5 ± 2,90aA
	2,5:1	72,0 ± 6,62aA	78,0 ± 0,48aB	77,3 ± 5,86aA
	Controle	-	-	82,1 ± 2,42*
Lipídio	1:2,3	97,0 ± 0,88aA	98,8 ± 0,23bA*	98,7 ± 0,31abA
	1:1	98,6 ± 0,18aA	97,7 ± 0,08bcB	97,8 ± < 0,001cB
	2,5:1	98,3 ± 0,41aA	98,9 ± 0,16aA*	98,7 ± 0,12aA
	Controle	-	-	97,5 ± 0,50*
Energia	1:2,3	72,7 ± 5,00aA	77,2 ± 2,96aA	76,4 ± 1,06aA
	1:1	77,6 ± 0,56aA	77,1 ± 1,28aA	77,3 ± 4,17aA
	2,5:1	73,7 ± 7,01aA	77,5 ± 0,47aA	75,9 ± 6,23aA
	Controle	-	-	79,3 ± 1,75
Two-Way ANOVA		Relação SBM:SPC	Conteúdo lipídico	Relação SBM:SPC x conteúdo lipídico
Proteína		0,177	0,457	0,602
Lipídios		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Energia		0,700	0,711	0,933

O coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB) das dietas vegetais variou de 72,7 ± 5,00 a 77,6 ± 0,56% comparada com 79,3 ± 1,75% alcançada com a dieta controle. Porém, não houve efeito significativo da relação SBM:SPC ou do conteúdo lipídico na dieta sobre os coeficientes de digestibilidade da energia bruta ( $P > 0,05$ , Two-Way ANOVA). Entretanto, uma correlação significativa foi observada entre os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta e da energia bruta das dietas ( $P < 0,05$ ,  $R^2 = 0,80$ ).

Houve um aumento significativo no crescimento dos camarões, produtividade, consumo alimentar e redução do FCA quando a farinha de krill foi usada em dietas vegetais em níveis de inclusão acima de 10 g/kg da dieta (Tabela 5;  $P < 0,05$ , One-Way ANOVA). A sobrevivência final dos camarões excedeu 93%, embora não tenha sido detectado nenhum efeito relacionado à inclusão de farinha de krill ( $P > 0,05$ , One-Way ANOVA). Por outro lado, o crescimento dos camarões aumentou de forma significativa, de  $0,90 \pm 0,06$  g a  $1,00 \pm 0,005$  g/semana, quando a inclusão de farinha de krill foi incrementada de 10 para 20 g/kg da dieta ( $P < 0,05$ ). Nesse intervalo, o ganho de produtividade dos camarões aumentou 17,6%, passando de  $608 \pm 39$  para  $715 \pm 31$  g/m<sup>2</sup>. O consumo alimentar dos camarões foi também promovido de forma significativa ao se utilizar 10 g/kg de farinha de krill ( $P < 0,05$ ), enquanto a 20 g/kg houve uma redução significativa do FCA ( $P < 0,05$ , Tukey HSD).

Tabela 5 - Desempenho de juvenis do *L. vannamei* alimentados com dietas vegetais contendo níveis mínimos de farinha de Krill. Os camarões foram cultivados por 72 dias, sob condições de água clara, em um sistema de recirculação. Letras iguais denotam diferença estatística não significativa entre as dietas ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD.

Dietas <sup>1</sup>	Sobrevivência <sup>2</sup> (%)	Crescimento <sup>2</sup> (g/semana)	Ganho de produtividade (g/m <sup>2</sup> )	Consumo alimentar (g/camarão)	FCA <sup>2</sup>
0	96,9 ± 2,4	0,86 ± 0,01 <sup>a</sup>	595 ± 21 <sup>a</sup>	15,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,83 ± 0,09 <sup>ab</sup>
5	93,1 ± 5,2	0,86 ± 0,03 <sup>a</sup>	566 ± 46 <sup>a</sup>	15,6 ± 1,3 <sup>a</sup>	1,93 ± 0,07 <sup>a</sup>
10	95,0 ± 5,4	0,90 ± 0,06 <sup>a</sup>	608 ± 39 <sup>a</sup>	16,1 ± 1,1 <sup>ab</sup>	1,86 ± 0,09 <sup>ab</sup>
20	99,4 ± 1,3	1,00 ± 0,05 <sup>b</sup>	715 ± 31 <sup>b</sup>	17,2 ± 1,3 <sup>ab</sup>	1,69 ± 0,09 <sup>b</sup>
30	97,5 ± 2,0	1,05 ± 0,05 <sup>b</sup>	732 ± 36 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	1,75 ± 0,05 <sup>b</sup>
$P^2$	0,200	< 0,0001	< 0,0001	0,004	0,008

<sup>1</sup>Valores indicam a inclusão de farinha de krill na dieta (em g/kg da dieta, base natural).

<sup>2</sup>One-Way ANOVA.

O peso corporal final dos camarões foi aumentado de forma significativa a partir da inclusão de 20 g/kg de farinha de Krill (Figura 2;  $P < 0,05$ , One-Way ANOVA). Neste nível, o peso corporal final dos camarões incrementou de  $12,13 \pm 1,97$  g (10 g/kg de farinha de Krill) para  $13,12 \pm 1,88$  g/kg. Além desse nível de inclusão, nenhum aumento significativo no peso corporal final dos camarões pode ser observado.

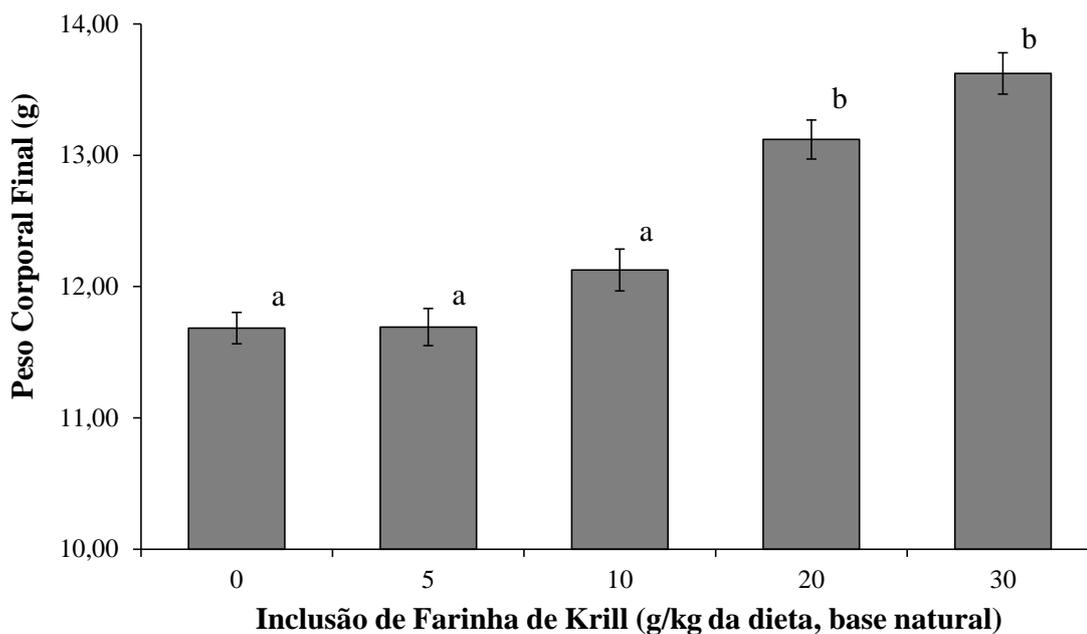


Figura 2 - Peso corporal final de juvenis do *L. vannamei* alimentados por 72 dias com dietas vegetais com níveis mínimos de inclusão de farinha de krill. Letras iguais denotam diferenças estatísticas não significativas entre as dietas experimentais com um nível de significância de  $\alpha = 0,05$  pelo teste de Tukey HSD.

## Discussão

O presente estudo demonstrou que juvenis do *L. vannamei* podem ser alimentados e cultivados com dietas quase que completamente vegetais sem causar efeitos deletérios na sua sobrevivência e crescimento. Dietas para camarões contendo elevados níveis de inclusão de ingredientes vegetais não são vistas como bons promotores do desempenho zootécnico. Isto provavelmente se deve a presença de fatores antinutricionais em ingredientes vegetais, à deficiência em aminoácidos (AAE) e ácidos graxos e a baixa biodisponibilidade de proteína, aminoácidos e fósforo (Gatlin *et al.*, 2007). Entretanto, outros trabalhos realizados com o *L.*

*vannamei* também foram capazes de demonstrar, desde que as dietas vegetais sejam suplementadas de forma apropriadas com fontes de ácidos graxos altamente insaturados da série ômega-3 (*n*-3 LC-PUFA), aminoácidos sintéticos, estimulantes do consumo alimentar, que as proteínas derivadas da soja podem substituir completamente a farinha de peixe sem efeitos adversos na sobrevivência e desempenho zootécnico dos camarões (Amaya *et al.*, 2007a,b; Fox *et al.*, 2011; Browdy *et al.*, 2012; Sá *et al.*, 2013).

Juvenis do camarão branco *L. vannamei* podem se desenvolver com uma alimentação a base de dietas compostas quase que completamente com soja e outras fontes de proteína vegetal. Amaya *et al.* (2007a) foram os primeiros a reportar a possibilidade do cultivo do *L. vannamei* com dietas a base de ingredientes vegetais. Os autores formularam uma dieta contendo um total de 863 g/kg de ingredientes vegetais (combinação de farelo de soja, sorgo, glúten de milho e solúveis fermentados do milho). Esta dieta foi avaliada em relação a quatro outras dietas contendo 160 g/kg de farinha de vísceras de aves, substituindo de forma progressiva uma farinha de peixe de savelha por farelo de soja. Após 81 dias de cultivo, a sobrevivência final, crescimento e o FCA do *L. vannamei* em tanques de cultivo com água verde não foram significativamente diferentes entre as dietas avaliadas.

Sookying *et al.* (2011) cultivaram juvenis do camarão branco em tanques com água verde e em viveiros com densidades de estocagem de até 65 camarões/m<sup>2</sup>. Os camarões foram alimentados com dietas contendo de 50 a mais de 80% de sua composição baseada em ingredientes vegetais de origem terrestre, principalmente o farelo de soja. Após 16 semanas de cultivo em viveiros, os camarões alcançaram uma sobrevivência final entre 58,0 e 65,1%, peso corporal final de 20,70 a 25,25 g e FCA de 1,17 a 1,54. Após um período de 10 semanas de cultivo em tanques, Sookying *et al.* (2011) relataram que a sobrevivência final, peso corporal final e FCA atingiram entre 93,4 ± 5,6 e 100,0 ± 0,0%; 13,42 e 16,13 g, e; 1,15 e 1,54, respectivamente. Em outro estudo Sookying e Davis (2011) cultivaram o *L. vannamei* por 18 semanas sob a densidade de 35 camarões/m<sup>2</sup> em viveiros de 0,1 ha revestidos com geomembrana. Os autores não encontraram diferença estatística significativa no desempenho zootécnico dos camarões entre aqueles alimentados com uma dieta contendo um alto conteúdo de farelo de soja, até 580 g/kg, em relação à outra, com 100 g/kg de farinha de peixe de savelha.

Roy *et al.* (2009) usaram as mesmas dietas para cultivar o *L. vannamei* sob condições de baixa salinidade (4 g/L) em laboratório e sob condições comerciais de cultivo. Os autores relataram resultados semelhantes ao de Sookying e Davis (2011). Morris *et al.* (2011)

alimentaram juvenis do *L. vannamei* por 12 semanas em tanques com água verde e com dietas livres de farinha de peixe contendo 605 g/kg de farelo de soja e 80 g/kg de glúten de milho. Os autores avaliaram diferenças entre dietas suplementadas com colesterol e fitoesterol. Eles estimaram que as exigências de colesterol para um crescimento máximo do *L. vannamei*, alimentados com dietas vegetais, seria de 15 g/kg.

Enquanto os estudos realizados por Amaya *et al.* (2007a), Sookying *et al.* (2011), Sookying e Davis (2011), Roy *et al.* (2009) e Morris *et al.* (2011) foram realizados em tanques sob condições de água verde ou em viveiros de cultivo, o presente trabalho foi conduzido em tanques com água clara com dietas compostas com mais de 90% por ingredientes vegetais. Embora se possa argumentar que os trabalhos anteriores foram conduzidos na presença de itens alimentares que ocorrem naturalmente no ambiente de cultivo os quais podem nutrir os camarões, no presente estudo, os animais tiveram pouco ou nenhum acesso a outras fontes alimentares, além das dietas experimentais. Desta forma, está claro que juvenis do *L. vannamei* podem rapidamente se adaptar e manter um desempenho zootécnico adequado com dietas vegetais, mesmo sob a ausência de alimento natural na água.

No presente estudo, tanto a relação SBM:SPC como o conteúdo lipídico das dietas tiveram pouco efeito sobre o desempenho zootécnico dos camarões. O peso corporal final dos animais foi prejudicado apenas quando o conteúdo de lipídios na dieta foi de 80 g/kg em combinação com altas inclusões de SPC em relação ao SBM. Até 102 g/kg de lipídios na dieta, não houve uma tendência estatística significativa no peso corporal final e ganho de produtividade dos camarões com maiores inclusões de SPC. Contraditoriamente nesse conteúdo lipídico, o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB) decresceu com níveis mais elevados de SPC. Diferentes fontes de soja podem exibir coeficientes de digestibilidade aparente da proteína para juvenis de *L. vannamei* muito próximas, como já previsto por métodos *in vitro* e confirmado por método *in vivo* (Lemos *et al.*, 2009, 2011). Por outro lado, a farinha de salmão está entre as farinhas de peixe mais digestíveis já disponíveis. Isto pode ter levado a um CDAPB mais elevado para dieta controle.

Por outro lado, a falta de diferença significativa no coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB) entre dietas com diferentes relações SBM:SPC, contendo valores de extrato não-nitrogenado acima de 40% da dieta é surpreendente, uma vez que o SPC contém um teor mais baixo de fibra bruta comparado ao SBM. Os resultados de CDAPB e CDAEB do presente estudo, em níveis entre 67 e 82% podem ser atribuídos à reduzida lixiviação da dieta e especialmente das amostras de fezes, pelo uso dos alimentadores

automáticos e amostragens constantes, possibilitando uma menor exposição à água (Smith e Tabrett, 2004; Carvalho, 2011).

Existe também um potencial para fazer uso de outros ingredientes derivados de vegetais em dietas vegetais para camarões, como a farinha de ervilha (Cruz-Suárez *et al.*, 2001; Davis *et al.*, 2002; Bautista-Teruel *et al.*, 2003; Sookying e Davis, 2011) e o farelo de canola (Cruz-Suárez *et al.*, 2001, 2009; Bulbul *et al.*, 2013), com o uso individual ou em combinação com proteínas da soja. Entretanto, nesse momento, essas matérias prima, não são tão comercialmente viáveis e competitivas, em termos de valor monetário, como as proteínas da soja. No caso do glúten de milho, as inclusões em dietas para camarões devem ser mais limitadas devido à digestibilidade subótima de sua proteína e aminoácidos.

No presente trabalho, a fim de acomodar maiores níveis de SBM na dieta, a inclusão do glúten de milho aumentou de uma média de 64,7 g/kg para 80,0 g/kg da dieta. Entretanto, estas inclusões não pareceram ter causado nenhuma perda no desempenho zootécnico dos camarões ou na digestibilidade das dietas. Níveis de inclusão semelhantes, entre 60 e 80 g/kg da dieta, já foram utilizados em outros trabalhos com o *L. vannamei* sem nenhum relato de efeitos deletérios no crescimento (González-Félix *et al.*, 2010; Morris *et al.*, 2011). Contudo, outros trabalhos relataram que o uso de glúten de milho leva a uma perda no desempenho zootécnico e a uma baixa digestibilidade aparente da proteína no camarão *L. vannamei*. Molina-Poveda *et al.* (2014) relataram uma reduzida palatabilidade em dietas para juvenis do *L. vannamei* quando a inclusão de farinha de peixe na dieta passou de 329,1 para 246,8 g/kg, acompanhado por um incremento no glúten de milho de 0 a 86,4 g/kg. Os autores associaram um baixo crescimento dos camarões, o aumento do FCA e uma menor digestibilidade de proteína e aminoácidos essenciais das dietas com o progressivo aumento de 0 para 345,6 g/kg do conteúdo de glúten de milho. As dietas de Molina-Poveda *et al.* (2014) com as inclusões mais baixas de glúten de milho, da ordem de 86,4 g/kg, eram equivalentes as maiores inclusões adotadas nesse estudo (*i.e.*, 80,0 g/kg).

Os achados de Molina-Poveda *et al.* (2014) confirmaram os trabalhos anteriores feitos por Carvalho (2011) e Lemos *et al.* (2009). Carvalho (2011) trabalhou com a digestibilidade aparente do glúten de milho para o *L. vannamei* contendo 660,9 g/kg de proteína bruta e 31,7 g/kg de metionina (Met). Os autores encontraram coeficientes de digestibilidade aparente para proteína e metionina do glúten de milho na faixa de 46,6 e 59,9%, e de 61,9 a 71,0%, respectivamente. Estes valores de digestibilidade foram os mais baixos entre cinco outros ingredientes (farinha de anchova, concentrado proteico de soja, farinha de vísceras de aves,

farinha de carne e ossos e hidrolisado de farinha de penas). Da mesma forma, Lemos *et al.* (2009) relataram uma digestibilidade aparente da proteína bruta para o glúten de milho de  $59,1 \pm 1,9\%$ .

No presente estudo foi possível estabelecer que uma inclusão mínima de farinha de krill de 20 g/kg em dietas vegetais é capaz de aumentar de forma significativa o crescimento, a produtividade, o FCA e o peso corporal final de juvenis do *L. vannamei*. A 10 g/kg de farinha de krill houve apenas um aumento no consumo alimentar. Inclusões superiores a 30 g/kg não trouxeram benefícios para o desempenho zootécnico do camarão. Para o *Litopenaeus stylirostris*, Suresh *et al.* (2011) encontraram que 30 g/kg de farinha de krill em dietas sem farinha de peixe, formuladas com altos níveis de farinha de vísceras de aves (200 g/kg) e SBM (400 g/kg) agiu como um atrativo alimentar, aumentando a palatabilidade das dietas bem como promovendo um incremento no crescimento dos camarões.

Estudos anteriores também demonstraram que o benefício do uso da farinha de krill em dietas com baixas inclusões de farinha de peixe vai além de um aumento na atratividade da ração. Nunes *et al.* (2011) foram capazes de substituir completamente a proteína e lipídio da farinha de peixe, óleo de peixe, lecitina de soja e colesterol sem nenhum custo para o desempenho zootécnico de juvenis do *L. vannamei* usando a farinha de krill. Sá *et al.* (2013) alimentaram juvenis do *L. vannamei* com dietas livres de farinha de peixe contendo uma baixa inclusão de farinha de lula e krill (de 5 a 20 g/kg da dieta no total). Os autores trabalharam com dietas que continham quantidades fixas de SBM e SPC (330 g/kg e 50 g/kg, respectivamente) e níveis decrescentes na dieta de farinha de vísceras de aves, iniciando a partir de 150 g/kg da dieta. Os resultados indicaram um incremento significativo no peso corporal final dos camarões quando uma combinação de 20 g/kg de krill e lula foi usada.

## **Conclusões**

Os resultados do presente estudo demonstraram que juvenis do *L. vannamei* são capazes de crescer e sobreviver em condições de água clara com dietas compostas quase que inteiramente a base de ingredientes vegetais (acima de 92% da composição total). Nenhum efeito benéfico sobre o desempenho zootécnico dos camarões e digestibilidade aparente da proteína bruta foi detectado quando os animais foram alimentados com uma dieta formulada com uma combinação de proteína animal (farinha de peixe e farinha de carne e ossos) e vegetal versus dietas com apenas proteínas vegetais. O desempenho zootécnico dos camarões

não respondeu de forma significativa às relações de proteína da soja e do concentrado proteico de soja, em dietas baseada em ingredientes vegetais. No entanto, os níveis de lipídios das dietas de 80 e 121 g/kg combinado com uma alta inclusão de concentrado proteico de soja (SPC) em relação ao farelo de soja (SBM) não deve ser adotado, pois resultou em um menor peso corporal dos camarões na despesca e uma redução na digestibilidade aparente da proteína bruta, respectivamente. Os resultados deste estudo sugerem que uma maior inclusão de SPC em relação à SBM acompanhado por um conteúdo dietético de lipídios de 102 g/kg pode ser mais apropriado para aumentar o crescimento de juvenis do *L. vannamei*. O uso de farinha de krill em dietas vegetais conseguiu promover um aumento no consumo alimentar em uma inclusão de apenas 10 g/kg da dieta. A 20 g/kg, a farinha de krill acelerou o crescimento do camarão, aumentou a produtividade e reduziu o FCA.

### Agradecimentos

O último autor agradece o suporte de uma bolsa de produtividade em pesquisa (CNPq/MCT, PQ# 305513/2012-5). A pesquisa teve apoio da FAPESP (2007/07051-9) CNPq (304831/2009-3) para os estudos de digestibilidade realizados na USP pelo Dr. Daniel Lemos.

### Referências

- Amaya, E., Davis, D.A. & Rouse, D.B. (2007a) Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, **262**, 419–425.
- Amaya, E., Davis, D.A. & Rouse, D.B. (2007b) Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. *Aquaculture*, **262**, 393–401.
- AOAC (2002) Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th edn. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.
- Bautista-Teruel, M.N., Eusebio, P.S. & Welsh, T.P. (2003) Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*, **225**, 121–131.
- Browdy, C.L., Bharadwaj, A.S., Venero, J.A. & Nunes, A.J.P. (2012) Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Nutr.*, **18**, 432–440.

- Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. & Kader, M.A. (2013) Performance of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* fed diets replacing fishmeal with a combination of plant protein meals. *Aquaculture*, **372-375**, 45–51.
- Carvalho, R.A.P.L.F. (2011) Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinhos: avaliação de ingredientes proteicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei*. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Carvalho, R.A.P.L.F., Lemos, D.E.L. & Tacon, A.G.J. (2013) Performance of single-drain and dual-drain tanks in terms of water velocity profile and solids flushing for *in vivo* digestibility studies in juvenile shrimp. *Aquacult. Eng.*, **57**, 9–17.
- Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D.M., Tapia-Salazar, M., McCallum, I.M. & Hickling, D. (2001) Assessment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meal (*Brassica* sp.) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). *Aquaculture*, **196**, 87–104.
- Cruz-Suárez, L.E., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos, D., Beltran-Rocha, J., Nieto-López, M.G., Lemme, A. & Ricque-Marie, D. (2009) Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, **292**, 87-94.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C. & Sharples, D.J. 1990. The Biology of the Penaeidae, 489 p. In: Advances in Marine Biology (Blaxter, J.H.S. & Southward, A.J., eds.), Vol. 27. Academic Press, London, England.
- Davis, D.A., Arnold, C.R. & McCallum, I. (2002) Nutritional value of feed peas (*Pisum sativum*) in practical diet formulations for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Nutr.*, **8**, 87–94.
- Focken, U., Groth, A., Coloso, R.M. & Becker, K. (1998) Contribution of natural food and supplemental feed to the gut content of *Penaeus monodon* Fabricius in a semi-intensive pond system in the Philippines. *Aquaculture*, **164**, 105-116.
- Forster, I.P. & Dominy, W.G. (2006) Efficacy of three methionine sources in diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.*, **37**, 474-480.
- Fox, J.M., Humes, M., Davis, D.A. & Lawrence, A.L. (2011) Evaluation of methionine supplements and their use in grain-based feeds for *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.*, **42**, 676–686.

- Francis, G., Makkar, H.P.S. & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197–227.
- Gatlin III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R. & Wurtele, E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.*, **38**, 551-579.
- Gong, H., Lawrence, A.L., Jiang, D.H., Castille, F.L. & Gatlin III, D.M. (2000) Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. *Aquaculture*, **190**, 305–324.
- González-Félix, M.L., Silva, F.S.D., Davis, D.A., Samocha, T.M., Morris, T.C., Wilkenfeld, J.S. & Perez-Velazquez, M. (2010) Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, **309**, 152–158.
- Gu, M., Zhang, W.B., Bai, N., Mai, K.S. & Xu, W. (2013) Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on growth performance and feed utilization of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed plant protein-enriched diets. *Aquacult. Nutr.*, **19**, 39–46.
- Lemos, D., Lawrence, A.L. & Siccardi III, A.J. (2009) Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by *in vitro* pH-stat degree of protein hydrolysis with species-specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, **295**, 89–98.
- Lemos, D., Yasumaru, F., Carvalho, R. & Tacon, A.G.J. (2011) Application of species-specific *in vitro* digestion to assess protein digestibility in shrimp feeds: current status and prospects. World Aquaculture, The World Aquaculture Society, Natal, Brazil.
- Molina-Poveda, C., Lucas, M. & Jover, M. (2014) Utilization of corn gluten meal as a protein source in the diet of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Nutr.*, doi:10.1111/anu.12209
- Morris, T.C., Samocha, T.M., Davis, D.A. & Fox, J.M. (2011) Cholesterol supplements for *Litopenaeus vannamei* reared on plant based diets in the presence of natural productivity. *Aquaculture*, **314**, 140–144.
- NRC, National Research Council (2011) Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, 376 p. Animal Nutrition Series. National Research Council of the National Academies. The National Academies Press, Washington, D.C., USA.

- Nunes, A.J.P., Gesteira, T.C.V. & Goddard, S. (1997) Food consumption and assimilation by the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture*, **149**, 121-136.
- Nunes, A.J.P., Goddard, S. & Gesteira, T.C.V. (1996) Feeding activity patterns of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture*, **144**, 371-386.
- Nunes, A.J.P., Sá, M.V.C. & Sabry-Neto, H. (2011) Growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed on practical diets with increasing levels of the Antarctic krill meal, *Euphausia superba*, reared in clear- versus green-water culture tanks. *Aquac. Nutr.*, **17**, e511–e520.
- Nunes, A.J.P., Sá, M.V.C., Browdy, C.L. & Vázquez-Añón, M. (2014) Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. *Aquaculture*, **431**, 20–27.
- Nunes, A.J.P., Sá, M.V.C., Carvalho, E.A. & Sabry-Neto, H. (2006) Growth performance of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared under time- and rate-restriction feeding regimes in a controlled culture system. *Aquaculture*, **253**, 646–652.
- Reymond, H. & Lagardère, J.P. (1990) Feeding rhythms and food of *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Penaeidae) in salt water ponds: role of halophilic entomofauna. *Aquaculture*, **81**, 125-143.
- Roy, L.A., Bordinhon, A., Sookying, D., Davis, D.A., Brown, T.W. & Whitis, G.N. (2009) Demonstration of alternative feeds for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters of west Alabama. *Aquac. Res.*, **40**, 496–503.
- Sá, M.V.C., Sabry-Neto, H., Cordeiro-Júnior, E., Nunes, A.J.P. (2013) Dietary concentration of marine oil affects replacement of fish meal by soy protein concentrate in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Nutr.*, **19**, 199–210.
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., Rathbone, C.K., Hardy, R.W. (1998). Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture.*, **159**, 177–202.
- Silva-Neto, J.F., Nunes, A.J.P., Sabry-Neto, H. & Sá, M.V.C. (2012) Spirulina meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level. *Aquac. Res.*, **43**, 430–437.

- Smith, D.M. & Tabrett, S.J. (2004) Accurate measurement of *in vivo* digestibility of shrimp feeds. *Aquaculture*, **232**, 564-580.
- Sookying, D. & Davis, A. (2011) Pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed high levels of soybean meal in various combinations. *Aquaculture*, **319**, 141–149.
- Sookying, D., Davis, D.A. & Silva, F.S.D. (2013) A review of the development and application of soybean-based diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Nutr.*, **19**, 441–448.
- Sookying, D., Silva, F.S.D., Davis, D.A. & Hanson, T.R. (2011) Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. *Aquaculture*, **319**, 232–239.
- Suresh, A.V., Kumaraguru vasagam, K.P. & Nates, S. (2011) Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry byproduct meal. *Aquaculture*, **319**, 132–140.

### CAPÍTULO III

**Avaliação da taxa de alimentação sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, cultivado em regime intensivo, sem troca d'água, na presença de bioflocos.**

Hassan Sabry-Neto, Alberto J.P. Nunes

LABOMAR – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Avenida da Abolição, 3207 – Meireles, Fortaleza, Ceará, 60.165-081, Brasil.

**Avaliação do efeito da taxa alimentar sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, cultivado em regime intensivo, sem troca d'água, na presença de bioflocos.**

**RESUMO**

O estudo avaliou o desempenho zootécnico do camarão branco *L. vannamei* cultivado em sistema heterotrófico. O trabalho foi realizado em um sistema *outdoor* em duas etapas: (1) período chuvoso e (2) seco. Camarões com  $2,56 \pm 0,55$ g (média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 2400$ ) e  $1,74 \pm 0,47$ g (média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 3000$ ) de peso foram estocados ( $100$  animais/m<sup>3</sup>), e aclimatados por 13 dias. Posteriormente animais com peso de  $3,69 \pm 0,68$  g ( $n = 240$ ) e  $2,13 \pm 0,51$  g ( $n = 300$ ) foram submetidos a aumentos progressivos na refeição de 40, 54, 81, 84 e 113% e de 52, 77, 98, 127 e 153%, nas etapas 1 e 2, respectivamente. No cultivo foram medidos a salinidade, pH, temperatura, oxigênio, ortofosfato, amônia, nitrito, nitrato, sólidos sedimentáveis, sólidos suspensos voláteis e os sólidos suspensos totais. Nas duas etapas de cultivo os camarões foram alimentados com uma dieta contendo 235g/kg de proteína bruta e melação. A sobrevivência, produtividade, peso corporal final, crescimento semanal e o fator de conversão alimentar (FCA), foram obtidos na despesca. Os resultados mostraram que houve um aumento dos sólidos sedimentáveis e totais à medida que ocorreu o incremento da taxa alimentar nos tratamentos, incluindo os tanques controle, sugerindo que o bioflocos pode ter contribuído para o melhor desempenho dos animais. Nas duas etapas de cultivo houve um aumento significativo no ganho de peso corporal final ( $9,84 \pm 1,79$  e  $10,45 \pm 1,55$ g) e no crescimento ( $0,70 \pm 0,01$  e  $0,82 \pm 0,05$ g), a partir do aumento progressivo da ração. O FCA aumentou, porém não foi observada diferença estatística entre os tratamentos no período chuvoso, no entanto no período seco houve diferença estatística entre os tratamentos de 153 e 52%, e com o controle. A avaliação do efeito da taxa alimentar sobre o desempenho de juvenis de *L. vannamei*, cultivados em sistema heterotrófico, e alimentados com aumentos gradativos de ração, mostrou melhoria no desempenho zootécnico dos animais.

**Palavras chaves:** sistema heterotrófico, desempenho zootécnico, camarão.

**Evaluation of the effect of feed rate on the growth performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, farmed intensively, without exchange of water in the presence of microbial flocs.**

**ABSTRACT**

This study evaluated the growth performance of the white shrimp *L. vannamei* farmed in a heterotrophic system. The work was carried out in an outdoor system in two steps: (1) rainy season and (2) dry season. Shrimps with  $2.56 \pm 0.55$  g (mean  $\pm$  SD; n = 2,400) and  $1.74 \pm 0.47$  g (mean  $\pm$  SD; n = 3,000) were stocked (100 animals / m<sup>3</sup>), and acclimated for 13 days. Subsequently, animals weighing  $3.69 \pm 0.68$  g (n = 240) and  $2.13 \pm 0.51$  g (n = 300) were submitted to progressive increasing in meal of 40, 54, 81, 84 and 113% and 52, 77, 98, 127 and 153% in steps 1 and 2, respectively. Salinity, pH, temperature, oxygen, orthophosphate, ammonia, nitrite, nitrate, settleable solids, suspended volatile solids and total suspended solids were measured during the farming period. In this two-step farming, the shrimps were fed with a diet containing 235g / kg of crude protein and molasses. The survival, yield, final body weight, weekly growth and feed conversion factor (FCR) were obtained at harvesting. The results showed an increase in sedimentary and total solids with the increasing of the feeding rate in the treatments, including the control tanks, suggesting that microbial flakes may have contributed to the better performance of the animals. In both steps of farming, there was a significant increase in the final body weight gain ( $9.84 \pm 1.79$  and  $10.45 \pm 1.55$ g) and in the growth ( $0.70 \pm 0.01$  and  $0.82 \pm 0.05$ g), from the gradual increasing of the feed. The FCR increased, however, no statistical difference was observed between the treatments in the rainy season, however, in the dry season, there was statistical difference between treatments of 153% and 52% and with the control. The evaluation of the effect of feed rate on the performance of juvenile of *L. vannamei* farmed in heterotrophic system and fed with gradual increasing of feed, showed have improved the growth performance of the animals.

**Keywords:** heterotrophic system, growth performance, shrimp.

## Introdução

Tradicionalmente no cultivo de camarões marinhos se utilizam rações balanceadas ricas em proteína para alimentação dos animais. As proteínas representam o nutriente de maior impacto na composição de rações voltadas para alimentação de camarões, tornando-se um entrave para maior expansão do setor (Kureshy e Davis, 2002). Por outro lado, a maior parte da proteína presente na ração não é incorporada à biomassa do camarão, sendo perdida para o meio de cultivo e para os estuários através da descarga de efluentes (Jackson *et al.*, 2003), havendo, portanto, prejuízo econômico e ambiental (Boyd *et al.*, 2007). Nesse contexto, a estratégia utilizada para solucionar problemas dessa natureza é o emprego de sistemas heterotróficos de cultivo. Segundo Avnimelech (1999) o sistema heterotrófico pode controlar o nitrogênio inorgânico através da manipulação da relação carbono:nitrogênio da água e assim evitar o acúmulo desse composto no ambiente de cultivo.

O sistema heterotrófico utiliza viveiros com pequenas áreas, altas taxas de aeração, rações balanceadas com baixo teor proteico, elevadas densidades de estocagem de camarão e pouca ou nenhuma renovação d'água (Boyd e Clay, 2002). Segundo Otoshi *et al.* (2006), quando camarões são cultivados nesse sistema, há a manutenção da qualidade da água, mesmo quando elevadas densidades de estocagem são empregadas. O sistema heterotrófico é capaz de produzir e acumular partículas floculadas (bioflocos). Estas podem trazer benefícios para o cultivo de camarão (Ray *et al.*, 2010; Ju *et al.*, 2008), já que o alimento natural formado por flocos bacterianos ou bioflocos (microalgas, zooplâncton, bactérias, ciliados e flagelados) podem fornecer uma significativa quantidade de nitrogênio à dieta dos animais cultivados e aumentar o crescimento dos mesmos (Chamberlain *et al.*, 2001).

Alguns trabalhos já foram realizados utilizando a farinha de flocos bacterianos com o objetivo de substituir, juntamente com outros ingredientes, a farinha de peixe. Bauer *et al.* (2012) sugeriram que uma mistura de concentrado de proteína de soja e farinha de flocos bacterianos poderia ser usada para substituir a farinha de peixe em dietas formuladas para juvenis de *L. vannamei*. Kuhn *et al.* (2009 e 2010) alimentaram o camarão *L. vannamei*, usando farinha de biofoco em substituição a farinha de peixe, e concluíram que é possível substituir tanto a farinha de peixe como o farelo de soja, sem causar prejuízo ao desempenho dos camarões.

A literatura reporta que os bioflocos produzidos em sistema heterotrófico tem potencial de contribuir como fonte alimentar para os camarões, podendo aumentar sua biomassa á

medida que há um aumento de oferta de ração no sistema. O presente estudo foi realizado com vistas a avaliar o impacto que a manipulação de taxas de alimentação tem sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão branco, *Litopennaeus vannamei*, cultivado em alta densidade, em um sistema sem troca d'água, com a presença de flocos microbianos.

## **Materiais e Métodos**

### *Local de estudo*

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Nutrição de Camarão de Organismos Aquáticos (LANOA), localizado no Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC) do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará. O trabalho foi dividido em duas etapas: a etapa 1 foi conduzida durante a estação chuvosa enquanto a etapa 2 foi realizada durante o período seco. O trabalho utilizou 24 e 30 tanques circulares de 1 m<sup>3</sup>, respectivamente, posicionados em um pátio aberto. O cultivo heterotrófico foi baseado em um modelo previamente estabelecido por Avnimelech (1999).

### *Montagem do sistema de cultivo e fertilização da água de cultivo*

Os tanques de cultivo para o estudo foram preparados utilizando quatro mangueiras siliconadas contendo uma pedra porosa na extremidade de cada uma e dois *airlifts* que foram usados para a movimentação vertical e contínua da água de cultivo. No decorrer do experimento, os tanques foram cobertos com uma com tela com malha de 0,5 cm de abertura visando evitar a perda de camarões durante o cultivo. A água para abastecimento dos tanques de cultivo foi proveniente do estuário do Rio Pacoti, Estado do Ceará.

O processo de fertilização da água de cultivo foi o mesmo para as duas etapas de cultivo (1 e 2). Inicialmente, 18 L de um inóculo proveniente de seis tanques berçários foi colocado em cada tanque de cultivo os quais tiveram seu volume completado com água filtrada mecanicamente. Em seguida, três etapas de fertilização orgânica foram realizadas em cada tanque de cultivo: (1) fertilização durante três dias consecutivos com 5 g/m<sup>3</sup> de uma ração comercial moída a 600 micras, contendo 350 g/kg de proteína bruta e 2 g de um probiótico comercial; (2) subsequentemente foi conduzida fertilização por três dias consecutivos com 10 g/m<sup>3</sup> de ração de frango triturada, passada em uma peneira de 600 micras, em adição a 4,35

g/m<sup>3</sup> de melão em pó, e; (3) finalmente foi realizada uma fertilização durante dois dias consecutivos utilizando 5 g/m<sup>3</sup> de ração de frango moída a 600 micras, 35 g/m<sup>3</sup> de ração comercial com 350 g/kg de proteína bruta moída a 600 micras e 15 g/m<sup>3</sup> de melão em pó.

*Povoamento do sistema, manejo e tratamentos experimentais.*

Inicialmente camarões com  $2,56 \pm 0,55$  g (média  $\pm$  desvio padrão;  $n = 2400$ ) e  $1,74 \pm 0,47$ g ( $n = 3000$ ) de peso corporal foram utilizados nas etapas 1 (período chuvoso) e 2 (período seco), respectivamente. Os tanques circulares de 1 m<sup>3</sup> (24 para a etapa 1 e 30 para etapa 2) foram povoados com 100 animais/m<sup>3</sup> em sistema aberto, porém sem renovação de água. Uma vez completamente cheios, água foi adicionada aos tanques somente para repor as perdas de água por evaporação.

As refeições diárias foram calculadas baseadas na biomassa estocada de camarões em cada tanque multiplicado por uma taxa alimentar. Para determinar essa taxa, foi empregada a equação de regressão  $MM = 0,093BW^{0,620}$  (Nunes e Parsons, 2000) que estabeleceu a quantidade máxima de ração (MM) consumida durante uma hora por um camarão com estômago vazio em função de seu peso corporal. A partir desta relação foi desenvolvida uma tabela alimentar restritiva, dividindo-se a refeição máxima por 2 (Tabela 1).

A refeição restritiva foi progressivamente aumentada em 40, 54, 81, 84 e 113% (Etapa 1) e em 52, 77, 98, 127 e 153% (Etapa 2). Nas etapas 1 e 2, foram designados quatro e cinco tanques para cada tratamento experimental. Nas duas etapas de cultivo, os camarões foram alimentados com uma única dieta experimental. Foi realizada a oferta diária de melão em pó de forma a buscar manter uma relação de carbono: nitrogênio (C:N) de 20:1.

Para realização dos cultivos, inicialmente os camarões foram aclimatados por 13 dias com uma ração comercial para engorda de camarões marinhos contendo 350 g/kg de proteína bruta. Após o período de aclimação, uma biometria inicial foi realizada, tendo sido observado um peso corporal de  $3,69 \pm 0,68$  g ( $n = 240$ ) e  $2,13 \pm 0,51$  g ( $n = 300$ ) nas etapas 1 e 2 respectivamente. A partir desta fase de desenvolvimento, os animais passaram a ser alimentados com aumentos progressivos, na alimentação, durante 63 e 72 dias, respectivamente.

Tabela 1. Tabela alimentar utilizada no presente estudo.

Peso Corporal (g)	Refeição Máxima (% do peso corporal) <sup>1</sup>	Refeição Restritiva (% do peso corporal)
2,0	7,15	3,6
3,0	6,13	3,1
4,0	5,50	2,8
5,0	5,05	2,5
6,0	4,71	2,4
7,0	4,44	2,2
8,0	4,22	2,1
9,0	4,04	2,0
10,0	3,88	1,9
11,0	3,74	1,9
12,0	3,62	1,8
13,0	3,51	1,8
14,0	3,42	1,7
15,0	3,33	1,7
16,0	3,25	1,6
17,0	3,17	1,6
18,0	3,10	1,6
19,0	3,04	1,5
20,0	2,98	1,5

<sup>2</sup>De acordo com Nunes e Parsons (2000).

### *Monitoramento da qualidade de água*

No decorrer dos experimentos, a salinidade, pH, temperatura e oxigênio dissolvido da água de cultivo, foram medidos diariamente. Medições de ortofosfato dissolvido, amônia não ionizada dissolvida, nitrito dissolvido e nitrato dissolvido foram feitas em três (Etapas) períodos (1º, 24º e 48º), utilizando um espectofotômetro (DR 2800 Spectrophotometer, Hach Company, Loveland, EUA), para as duas etapas de cultivo.

Um pool formado por uma coleta de 1 L de água de cultivo de cada tanque perfazendo um volume total de 4 a 5 L por tratamento nas etapas 1 e 2, respectivamente, foi realizado diariamente para medição dos sólidos sedimentáveis no cone Imhoff. Após 30 min. foi realizada a leitura dos sólidos, seguindo a metodologia descrita por Avnimelech e Kochba (2009). Em seguida, foi novamente realizado um pool de cada tratamento, sendo uma amostra de 500 mL/tratamento coletada a cada 9 dias para medir os sólidos suspensos voláteis (SSV) e os sólidos suspensos totais (SST), perfazendo um total de 7 (etapa 1) e 8 (etapa 2) amostras no decorrer de cada etapa de cultivo.

#### *Cultivo, alimentação, desempenho zootécnico e análises estatísticas*

Nas duas etapas de cultivo os camarões foram alimentados com uma única dieta contendo 235 g/kg de proteína bruta, sendo acrescentado melaço para manter a relação C:N de 20:1. A composição da ração experimental foi composta de melaço (5,0% de inclusão), ração para aves (54,03%), ração comercial (46,73%) e 0,24% de aglutinante sintético. O perfil bromatológico dos ingredientes utilizados na fabricação da ração estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Perfil bromatológico (g/kg de peso seco) dos ingredientes utilizados na ração experimental para o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema heterotrófico.

Nutriente	Perfil Bromatológico (g/kg, peso seco)		
	Melaço	Ração de aves	Ração comercial
Proteína bruta	56,7	157,0	337,4
Extrato etéreo	40,2	83,2	104,0
Matéria mineral	203,2	68,4	91,7
Matéria fibrosa	0,5	58,6	24,9
Umidade	23,3	84,4	81,1
Carbono total	405,9	373,3	382,3

Os camarões foram alimentados diariamente às 7:30 h e 16:00 h. A cada 24 dias de cultivo foram realizadas biometrias para aferir o peso corporal dos camarões e ajustar a oferta de ração. Nas biometrias, foi coletado um total de 10 animais por tanque de cultivo, sendo os camarões pesados individualmente e devolvidos aos respectivos tanques. A sobrevivência final

(%), produtividade ( $\text{g/m}^3$ ), peso corporal final (g), crescimento (g/semana) e o fator de conversão alimentar (FCA) foram determinados na despeça.

As análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences*, versão Windows 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA). Os dados de qualidade de água e desempenho zootécnico dos camarões foram analisados pela Análise de Variância Unifatorial (ANOVA). Quando diferenças estatísticas foram detectadas entre as médias, estas foram comparadas duas a duas com o teste de Tukey HSD. O nível de significância de 5% foi considerado em todas as análises.

## Resultados e Discussão

A concentração de oxigênio dissolvido e os níveis de temperatura, pH e salinidade na água de cultivo durante o ciclo realizado no período chuvoso não variaram de forma significativa entre os tratamentos experimentais ( $P > 0,05$ , Análise Unifatorial). Estes parâmetros alcançaram (média  $\pm$  desvio padrão)  $6,3 \pm 0,7$  mg/L ( $n = 2.549$ ),  $28,3 \pm 1,9^\circ\text{C}$  ( $n = 2.546$ ),  $8,02 \pm 1,41$  ( $n = 1.350$ ) e  $7,7 \pm 0,2$  ( $n = 1.290$ ), respectivamente. As concentrações de ortofosfato dissolvido ( $\text{P-PO}_4^{3-}$ ), amônia não ionizada, nitrito e nitrato e avaliada em três fases do cultivo (1º, 24º e 48º dias) não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos experimentais ( $P > 0,05$ , Análise Unifatorial). Os valores alcançaram médias de  $21,94 \pm 6,74$ ,  $0,54 \pm 0,21$ ,  $0,49 \pm 0,42$  e  $2,71 \pm 1,49$  mg/L, respectivamente.

No período seco, também não foi observada diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para o oxigênio dissolvido ( $5,11 \pm 0,71$  mg/L;  $n = 2.806$ ), temperatura ( $28,0 \pm 1,7^\circ\text{C}$ ;  $n = 2.925$ ), pH ( $7,82 \pm 0,34$ ;  $n = 1.440$ ) e salinidade ( $45,4 \pm 3,0$ ;  $n = 1.619$ ) da água de cultivo. Da mesma forma, os níveis de ortofosfato dissolvido ( $10,52 \pm 6,07$  mg/L,  $n = 18$ ), amônia não ionizada ( $0,27 \pm 0,47$  mg/L,  $n = 18$ ), nitrito ( $0,27 \pm 0,40$  mg/L,  $n = 18$ ) e nitrato ( $2,64 \pm 1,44$  mg/L,  $n = 18$ ) não variaram entre os tratamentos experimentais ( $P > 0,05$ ).

Os sólidos sedimentáveis, no período chuvoso e seco, aumentaram durante o período de cultivo em todos os tratamentos, incluindo o controle (Figura 1A). O maior volume de sólidos coletados nos tratamentos, durante o período chuvoso, foi de 30 mL/L e o menor de 4 mL/L. Não foi observada diferença estatística entre o controle e a taxa de 81%, porém houve diferença significativa entre o controle e as demais taxas. No período seco, o maior volume de sólidos coletados nos tratamentos foi 68 mL/L e o menor de 6 mL/L. Não foi observado aumento significativo até a taxa de 52% em relação ao controle (Figura 1B). No entanto, a

partir da taxa de 77% houve uma diferença estatística com relação ao controle. No presente estudo, houve um aumento nos sólidos sedimentáveis (volume de bioflocos), nos dois ciclos de cultivo. Isto pode ser explicado pelo controle da relação carbono:nitrogênio no sistema (20:1). Avnimelech (1999) mostrou que quando há o controle dessa relação, através da adição de uma fonte de carboidrato há uma incorporação de compostos nitrogenados pelas bactérias, diminuindo a quantidade de nitrogênio inorgânico dissolvido na água e consequentemente contribuindo para formação de flocos microbianos. Segundo Jorand *et al.* (1995), os flocos microbianos são formados principalmente de bactérias, colóides, polímeros orgânicos e células mortas, portanto em cultivos que proporcionam o desenvolvimento de bactérias pelo controle da relação C:N o volume de floco desenvolve-se mais do que em cultivos sem o controle dessa relação. Xu *et al.* (2012), trabalhando com diferentes fontes de proteína em dietas e usando troca zero de água, observaram aumento no volume dos sólidos sedimentáveis com aumentos gradativos de fontes proteicas nas dietas.

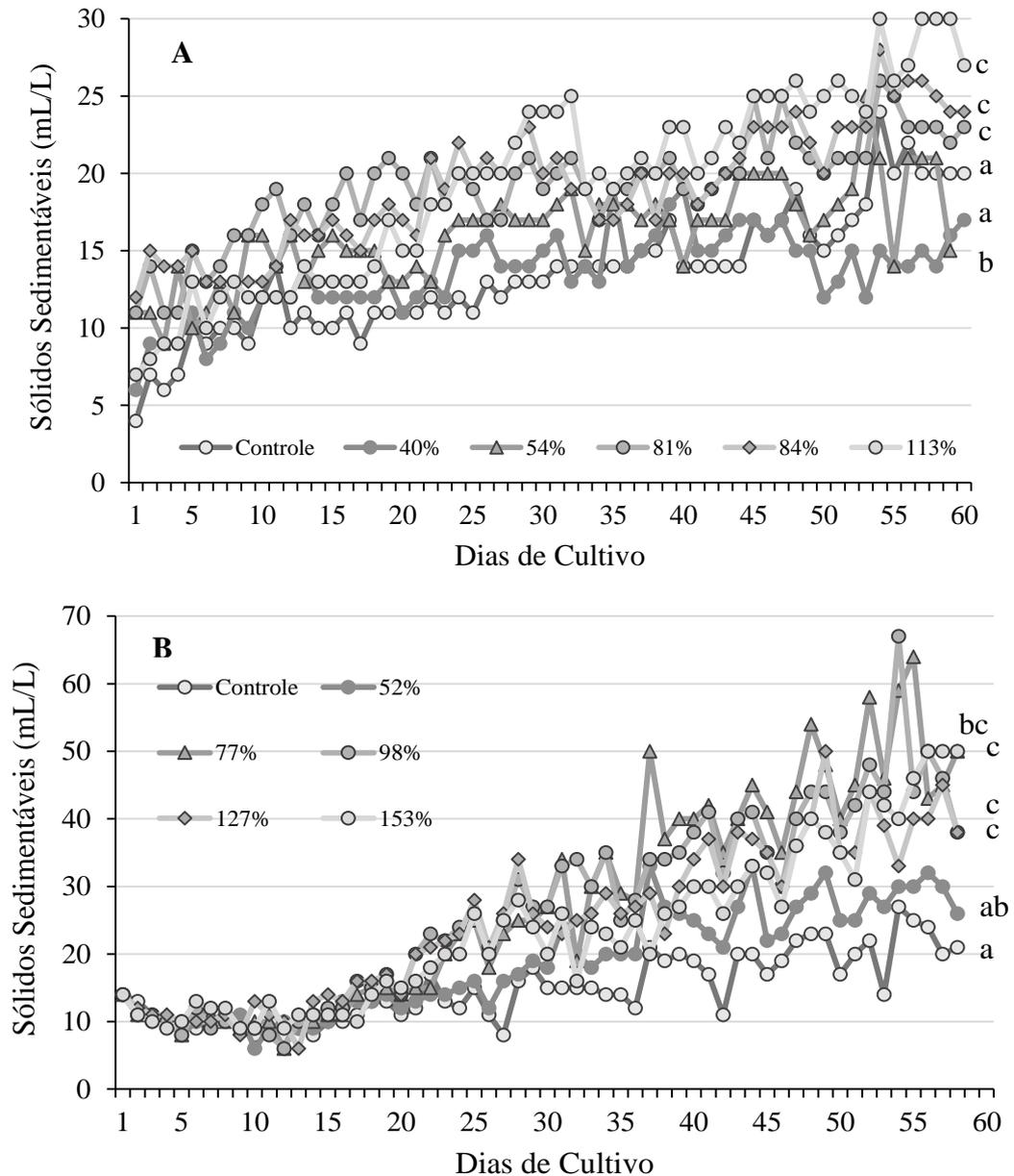


Figura 1. Sólidos sedimentáveis (mL/L) na água de tanques intensivos estocados com 100 camarões/m<sup>3</sup> e submetidos a aumentos progressivos na oferta de ração durante um ciclo de cultivo do *L. vannamei* de 63 e 72, dias no período chuvoso (A) e seco (B). Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de  $\alpha = 0,05$ , segundo o teste de Tukey HSD.

De um modo geral, os sólidos suspensos totais (SST), aumentaram progressivamente nos tratamentos, alcançando valores de 400 mg/L e 583 mg/L, no período chuvoso e seco, respectivamente (Figuras 2A e 2B). No entanto, com 50 dias de cultivo foi

observada uma diminuição do SST. Os valores de SST observados no presente estudo nas duas etapas de cultivo podem ser considerados satisfatórios. Schweitzer *et al.* (2013) trabalhando com o cultivo superintensivo de *L. vannamei* concluíram que os sólidos suspensos, devem variar entre 400 mg/L a 600 mg/L, para oferecer melhores condições de cultivo, no que diz respeito ao controle da amônia e nitrito. Ainda, segundo esses autores, SST elevados, promoveram os menores valores sobrevivência, peso médio final, ganho de peso semanal, biomassa final. Por outro lado, Samocha *et al.* (2010) trabalhando com a mesma espécie de camarão em altas densidades recomendaram que a concentração de sólidos totais deve ser inferior a 500 mg/L, para promover um melhor desempenho zootécnico e melhor qualidade da água de cultivo. Xu *et al.* (2012) também relataram aumentos progressivos de SST durante o cultivo com *L. vannamei* usando sistema com zero troca de água, chegando a alcançar valores acima de 400 mg/L de SST.

Os sólidos suspensos voláteis (SSV) também apresentaram um aumento progressivo com o aumento da ração, com exceção do período seco quando foi observada uma queda com 50 dias de cultivo. Os valores de SSV alcançaram aproximadamente 320 mg/L e 400 mg/L, nos períodos chuvoso e seco, respectivamente (Figuras 2A e 2B). Apesar dos altos valores de SSV observados, não houve redução de crescimento dos camarões, porém o fator de conversão alimentar foi elevado. Vinatea *et al.* (2010) observaram que altos valores de sólidos suspensos voláteis estão associados com a redução no crescimento e pior conversão alimentar no cultivo de *L. vannamei*. No presente estudo, embora tenha sido observado um aumento gradativo do SSV, em ambas as etapas, não foi observado efeito deletério no desempenho dos animais, que possa ser associado aos valores SSV obtidos.

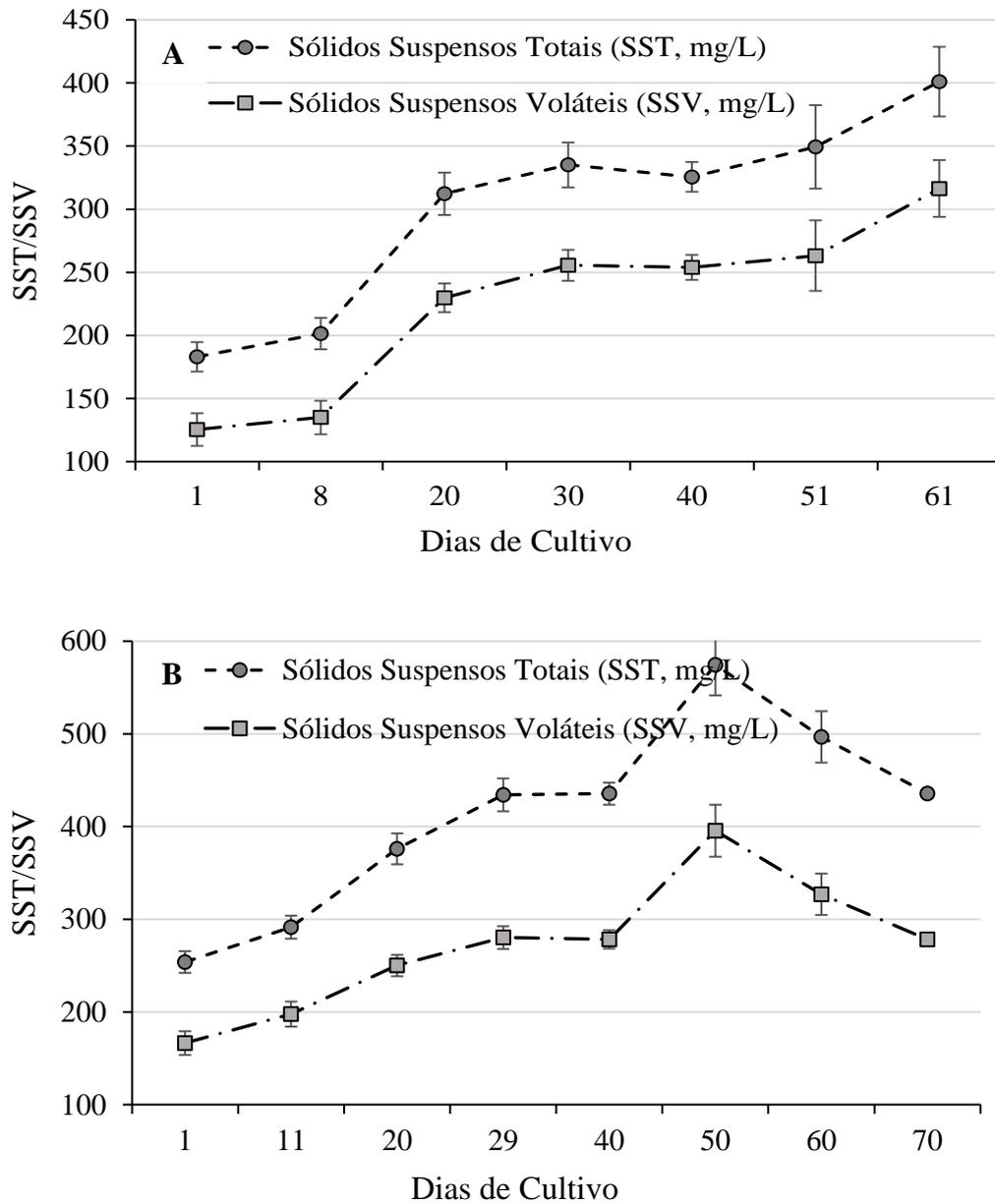


Figura 2. Dinâmica da concentração média ( $\pm$  erro padrão) de sólidos suspensos totais (SST, mg/L) e sólidos suspensos voláteis (SSV, mg/L) ao longo de dois cultivos do *L. vannamei* em regime intensivo, sem troca d'água, na presença de bioflocos, durante o período chuvoso (**A**) e seco (**B**). Cada ponto representa a média de seis leituras.

O desempenho zootécnico dos camarões com relação à sobrevivência ficou dentro dos padrões desejáveis. No período chuvoso, a maior sobrevivência observada entre os tratamentos foi de 93 % e a menor de 87,8% (Tabela 3). Apesar dos camarões alimentados com a dieta controle terem apresentado 96% de sobrevivência, não houve diferença significativa entre esta e todos os tratamentos testados.

As taxas de sobrevivência observadas no presente estudo são semelhantes às encontrados por Kuhn *et al.* (2009), quando alimentaram *L. vannamei* com dietas contendo bioflocos e reportaram sobrevivência variando de 93% a 100%. Outro trabalho registrou um valor de sobrevivência maior que 92%, sem, contudo, apresentar diferenças estatísticas significativas (Kuhn *et al.*, 2010). Bouer *et al.* (2012) também trabalhando com a mesma espécie e utilizando bioflocos na dieta, observaram sobrevivência superior a 90%, durante o cultivo. No período seco a maior sobrevivência entre os tratamentos foi de 92,4% e a menor de 86%. Nas duas etapas do cultivo, a sobrevivência apresentou uma tendência de queda com aumento da taxa alimentar, porém, com uma inclusão de 81% e 127%, houve uma melhora na sobrevivência, durante o período chuvoso e seco, respectivamente.

A produtividade no período chuvoso não apresentou diferença estatística entre os tratamentos e o controle. No entanto, no período seco houve diferença estatística entre o tratamento de 153% que apresentou uma produtividade de  $680 \pm 77 \text{ g/m}^3$ , com relação ao de 52% ( $541 \pm 61 \text{ g/m}^3$ ), e o controle que foi de  $416 \pm 28 \text{ g/m}^3$ . A maior produtividade observada no período seco pode está relacionada com uma maior produção de bioflocos e a maior inclusão da taxa alimentar no sistema.

Os camarões mostraram um aumento significativo no ganho de peso corporal final ( $9,84 \pm 1,79 \text{ g}$ ;  $10,45 \pm 1,55 \text{ g}$ ) e no crescimento ( $0,70 \pm 0,01 \text{ g}$ ;  $0,82 \pm 0,05 \text{ g}$ ) a partir do aumento progressivo da ração ofertada, nos períodos chuvoso e seco, respectivamente (Tabela 3). Os maiores valores de crescimento semanal entre os tratamentos foram superiores aos observados na dieta controle, no período chuvoso ( $0,37 \pm 0,01 \text{ g}$ ) e seco ( $0,44 \pm 0,02 \text{ g}$ ), chegando a alcançar aumentos de 89,19 e 86,36%. Nesse estudo, o ganho de peso final e o crescimento, dos camarões cultivados em sistema heterotrófico, sem troca de água, foram maiores que os reportados por Kun *et al.* (2009). Esses autores trabalhando com *L. vannamei*, com dietas contendo flocos microbianos, observaram que houve uma melhoria no crescimento médio de 65,1%, com relação à dieta controle, sem farinha de bioflocos. Bouer *et al.* (2012) observaram que juvenis de *L. vannamei*, alimentados com dietas contendo concentrado proteico de soja e

farinha de flocos microbianos não tiveram efeitos adversos no desempenho, sugerindo que a farinha de peixe pode ser totalmente substituída por esses ingredientes. Um trabalho mostrou que *L. vannamei* cultivado com troca zero de água, na presença de biofloco, a proteína pode ser reduzida a até 25%, sem afetar o ganho de peso e o crescimento dos camarões (Xu *et al.*, 2012). Correia *et al.* (2014) também trabalhando com esta espécie, na fase berçário, e em sistema heterotrófico, usando uma ração com baixo valor proteico, observaram que o peso médio final dos animais após 62 dias de cultivo foi de  $0,94 \pm 0,08$  g e taxa de crescimento específico diário de 11,03%. Os autores sugeriram que a utilização de dietas com baixo valor proteico na fase berçário em sistema dominado por bioflocos e com mínima troca de água pode ser uma alternativa para melhoria da qualidade da água, redução dos impactos ambientais e diminuição dos custos de produção.

Nas duas etapas de cultivo houve um aumento no fator de conversão alimentar (FCA) à medida que houve um aumento progressivo da taxa alimentar, porém sem diferença estatística, com exceção do tratamento de 113%, que foi superior à dieta controle e, portanto apresentou diferença estatística. No período seco só houve diferença estatística entre os tratamentos de 153 e 52% e o controle.

Os resultados do presente estudo mostraram que juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema heterotrófico e alimentados com aumentos gradativos na taxa alimentar apresentaram uma melhoria no seu desempenho zootécnico, principalmente com relação ao peso corporal final e crescimento semanal dos animais.

Tabela 3. Desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* submetidos a aumentos progressivos na refeição alimentar, cultivado durante 63 e 72 dias em tanques de 1 m<sup>3</sup> sem troca d'água em regime heterotrófico em período chuvoso e seco, respectivamente. Peso corporal inicial = 3,69 ± 0,68 g (n = 240) e 2,13 ± 0,51 g (n = 300), respectivamente. Valores representam a média ± desvio padrão de quatro tanques de cultivo. Peso corporal final (g) indica a média da pesagem individual de todos os camarões despesados. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de  $\alpha = 0,05$  segundo o teste de Tukey HSD.

<b>Etapa 1 – Período chuvoso</b>					
Trat. <sup>1</sup>	Sobrevivência (%)	Produtivid. (g/m <sup>3</sup> )	Peso Corporal Final (g)	Crescimento (g/semana)	FCA <sup>2</sup>
Cont.	96,0 ± 0,9	459 ± 46	7,18 ± 1,27a	0,37 ± 0,01a	1,10 ± 0,12a
40%	89,8 ± 4,5	421 ± 47	8,30 ± 1,43b	0,48 ± 0,03ab	1,69 ± 0,19ab
54%	88,3 ± 6,8	423 ± 72	8,72 ± 1,53c	0,57 ± 0,04bc	1,97 ± 0,39ab
81%	93,0 ± 0,9	495 ± 45	9,10 ± 1,60d	0,63 ± 0,03cd	1,82 ± 0,16ab
84%	87,8 ± 6,1	430 ± 80	9,23 ± 1,73d	0,63 ± 0,02cd	2,41 ± 0,60ab
113%	89,3 ± 0,5	386 ± 37	9,84 ± 1,79e	0,70 ± 0,01d	2,77 ± 0,27b
Média	90,7 ± 1,6	436 ± 22	---	---	---
<i>P</i>	0,714	0,823	< 0,0001	< 0,0001	0,036
<b>Etapa 2 – Período seco</b>					
Cont.	95,5 ± 4,2	416 ± 28a	6,68 ± 1,06a	0,44 ± 0,02a	1,33 ± 0,09a
52%	92,4 ± 4,6	541 ± 61ab	8,31 ± 1,18b	0,60 ± 0,4b	1,57 ± 0,19ab
77%	90,0 ± 9,3	575 ± 115bc	8,88 ± 1,39c	0,66 ± 0,06bc	1,76 ± 0,36abc
98%	87,8 ± 7,4	638 ± 51bc	9,78 ± 1,50d	0,75 ± 0,07cd	1,72 ± 0,13abc
127%	88,2 ± 6,5	656 ± 40bc	10,10 ± 1,52e	0,77 ± 0,07d	1,91 ± 0,12bc
153%	86,0 ± 3,9	680 ± 77c	10,45 ± 1,55f	0,82 ± 0,05d	2,07 ± 0,21c
Média	89,8 ± 6,6	-	-	-	-
<i>P</i>	0,290	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

<sup>1</sup>Refere-se ao aumento percentual da refeição controle (Cont.).

<sup>2</sup>Fator de conversão alimentar

## Conclusões

Os resultados do presente estudo demonstraram que juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema heterotrófico e alimentados com aumentos gradativos de ração, apresentaram uma melhoria no seu desempenho zootécnico (produtividade, peso corporal final e crescimento semanal) nas duas etapas de cultivo. Houve um aumento dos sólidos sedimentáveis e totais à medida que ocorreu o incremento de oferta de ração nos tratamentos, incluindo os tanques controle, sugerindo que os bioflocos, podem também ter contribuído para o melhor desempenho dos animais.

## Referências

- Avnimelech, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 176, p. 227–235, 1999.
- Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using N-15 tracing. **Aquaculture**, v. 287, p. 163–168, 2009.
- Bauer, W.; Prentice-Hernandez, C.; Tesser, M.B.; Wasielesky, W. Jr.; Poersch, L.H.S. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 342-343, p. 112 – 116, 2012.
- Boyd, C.E., Clay, J. Evaluation of Belize Aquaculture Ltd. superintensive shrimp aquaculture system. Shrimp Farming and the Environment. Report prepared under the **World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment**, 17 pp., 2002.
- Boyd, C.E.; Tucker, C.; Mcnevin, A.; Bostick, K.; Clay, J. Indicators of resource use efficiency and environmental performance in fish and crustacean aquaculture. **Rev Fish Sci.**, v. 15, n.4, p. 327-360, 2007.
- Chamberlain, G.; Avnimelech, Y.; McIntosh, R.P.; Velasco, M. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N. Part III: practical applications. **Global Aquaculture Advocate**, v.4, n.5, p.50–54, 2001.

- Correia, E.S., Wilkenfeld J.S., Morris T.C., Wei L.; Prangnell, D.I.; Samocha, T.M. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. **Aquac Eng.**, v. 59, p. 48–54, 2014.
- Jackson C.; Preston N.J P.; Burford T.M. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. **Aquaculture.**, v. 218, p. 397 – 411, 2003.
- Jorand, F., Zartarian, F., Thomas, F., Block, J.C., Bottero J.Y., Villemim, G., Urbain, V., Manem, J. Chemical and structural (2d) linkage between bacteria within activated-sludge flocs. **Water Res.**, 29, 1639–1647. 1995.
- Ju, Z.Y.; Foster, I.; Conquest, L.; Dominy, W. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. **Aquac. Nutr.**, v. 14, p. 533-543, 2008.
- Kuhn, D.D.; Boardman, G.D.; Lawrence, A.L.; Marsh, L.; Flick JR., G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture.**, v. 296, p. 51-57, 2009.
- Kuhn, D.D.; Lawrence, A.L.; Boardman, G.D.; Patnaik, S.; Marsh, L.; Flick JR., G.J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.**, v. 303, p. 28-33, 2010.
- Kureshy, N.; Davis D.A. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.**, v. 204, p.125-143, 2002.
- Nunes, A. J.P. Parsons, G.J. Size-related feeding and gastric evacuation measurements for the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*. **Aquaculture.** v. 187, 133-151, 2000.
- Otoshi C.A.; Tang L.R.; Dagdaban D.V.; Holl C.M.; Tallamy C.M.; Moss D.R.; Arce S.M.; Moss S.M. Super intensive growout of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Recent advances at the oceanic institute. *In: Proceedings o the 6th International conference Recirculating Aquaculture.*, p. 1-5. Virginia Tech University, Blacksburg. 2006.
- Ray A.J.; Lewis B. L.; Browdy C.L.; Leffler J.W. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture.**, v. 29, p. 89–98, 2010.

- Samocha, T.M.; Wilkenfeld, J.S.; Morris, T.C.; Correia, E.S.; Hanson, T. Intensive raceways without water exchange analyzed for white shrimp culture. **Global Aquaculture Advocate.**, v. 13, p. 22-24, 2010.
- Schveitzer R.; Arantes R.; Baloi M. F.; Costódio P.F.S.; Arana, L.V.; Seiffert W.Q.; Andreatta E.R. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquac. Eng.** V. 56, p. 59-70, 2013.
- Xu W.; Pan L.; Zhao D.; Huang J. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture.**, v. 350-353, p. 147–153, 2012.
- Vinatea L, Gálvez A.O., Browdy C.L.; Stokes.; Venero J.; Haveman J.; Lewis B.L.; Lawson, A.; Shuler A.; Leffler J.W. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. **Aquac. Engineering.**, v. 42, p. 17–24, 2010.

### 3. CONCLUSÕES GERAIS

- 1) A farinha de biofloco produzida com água residual de cultivo de camarões ou água do estuário limpa com o uso de reatores apresentou baixo conteúdo de proteína disponível para juvenis do *L. vannamei* e alto conteúdo de minerais.
- 2) O volume de lodos ativados produzidos em sistema de água residual foi superior ao produzido com água do estuário limpa.
- 3) A inclusão da farinha de bioflocos na dieta mostrou um efeito promotor no crescimento dos camarões.
- 4) Juvenis do *L. vannamei* são capazes de crescer e sobreviver em condições de água clara com dietas quase que inteiramente composta por ingredientes vegetais.
- 5) O CDA da proteína e da gordura foram superiores a 71% e 92% respectivamente, tanto para as dietas com flocos bacterianos como para com ingredientes vegetais.
- (6) A inclusão de 10 g/kg de farinha de krill em dietas vegetais é capaz de incrementar o consumo alimentar, enquanto 20 g/kg acelerou o crescimento dos camarões, aumentou a produtividade e reduziu o fator de conversão alimentar.
- 7) Juvenis de *L. vannamei* cultivados em sistema heterotrófico e alimentados com aumentos gradativos de ração apresentaram uma melhoria no seu desempenho zootécnico.
- 8) Durante o período chuvoso houve um menor volume de flocos bacterianos nos dois períodos estudados.

#### 4. REFERÊNCIAS GERAIS

ALVAREZ J. S.; HERNANDEZ-LLAMAS A.; GALINDO J.; FRAGA I.; GARCIA , T.; VILLARREAL, H. Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus schmitti* (Pe´rez-Farfante & Kensley 1997). **Aquac. Res.**, v. 382, p. 689- 695, 2007.

AMAYA, E.; DAVIS, D.A.; ROUSE, D.B. Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.**, v. 262, p. 419–425, 2007a.

AMAYA, E.; DAVIS, D.A.; ROUSE, D.B. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. **Aquaculture.**, v. 262, p. 393–401, 2007b.

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.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture.**, v. 264, p. 140-147, 2007.

AZIM, M.E.; LITTLE, D.C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture.**, v. 283, p. 29-35, 2008.

BALLESTER, E.L.C.; ABREU, P.C.; CAVALLI, R.O.; EMERENCIANO, M.; ABREU, L.; WASIELESKY, W.JR. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepeneaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquac. Nutr.**, v. 16, p. 163-172, 2010.

BAUER, W.; PRENTICE-HERNANDEZ, C.; TESSER, M. B.; WASIELESKY, W. JR.; POERSCH, L.H.S. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.**, v. 342-343, p. 112 – 116, 2012.

BAUTISTA-TERUEL.; M.N., EUSEBIO, P.S.; WELSH, T.P. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture.**, v. 225, p. 121–131, 2003.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.; McNEVIN, A.; BOSTICK, K.; CLAY, J. Indicators of resource use efficiency and environmental performance in fish and crustacean aquaculture. **Rev Fish Sci.**, v. 15, n.4, p. 327-360, 2007.

BROWDY, C.L.; BHARADWAJ, A.S.; VENERO, J.A.; NUNES, A.J.P. Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquac. Nutr.**, 18, 432–440, 2012.

BROWN, J.J.; GLENN, E.P. Reuse of highly saline aquaculture effluent to irrigate a potential forage halophyte, *Suaeda esteroa*. **Aquac. Eng.**, v. 20, p. 91-111, 1999.

BUHMANN, A.; PAPENBROCK, J. Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: Basic principles, current uses and future perspectives. **Environ Exp Bot.**, v. 92, p. 122–133, 2013.

BULBUL, M.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S.; KADER, M.A. Performance of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* fed diets replacing fishmeal with a combination of plant protein meals. **Aquaculture.**, v. 372-375, p. 45–51, 2013.

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.

CABANILLAS-BELTRAN H.; PONCE-PALAFOX J.T.; MARTINEZ-PALACIOS C.A.; CHAVEZ-SANCHEZ M.C.; ROSS, L.G. Comparison of the digestibility of diets based on fish meal and soybean meal in *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, using different temperatures and salinities for culture. **Ciencias Marinas**, v.27, n.4, p.577-593, 2001.

CORREIA, E.S., WILKENFELD J.S., MORRIS T.C., WEI L.; PRANGNELL, D.I.; SAMOCHA, T.M. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. **Aquac Eng.**, v. 59, p. 48–54, 2014.

CRAB R.; DEFOIRDT T.; BOSSIER P.; VERSTRAETE W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture.**, v. 356–357, p. 351–356, 2012.

CRUZ-SUÁREZ L.E.; TAPIA-SALAZAR M.; VILLARREAL-CAVAZOS D.; BELTRAN-ROCHA J.; NIETO-LÓPEZ M.G.; LEMME A.; RICQUE-MARIE D. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquaculture.**, v. 292, p. 87–94, 2009.

DALL, W.; HILL, B.J.; ROTH LISBERG, P.C.; SHARPLES, D.J. The Biology of the Penaeidae, 489 p. In: Advances in Marine Biology (Blaxter, J.H.S. & Southward, A.J., eds.), v. 27. Academic Press, London, England., 1990.

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

EKASARI, J.; ANGELA, D.; HADIWALUYO, S. BACHTIAR, T.; SURAWIDJAJA E. H.; BOSSIER P.; SCHRYVE P.D. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals, **Aquaculture.**, v. 426–427, p. 105–111, 2014.

ENGLE, C.R.; VALDERRAMA, D. Farm-level costs of settling basins for treatment of effluents from levee-style catfish ponds. **Aquac. Eng.**, v. 28, p. 171-199, 2003.

FOCKEN, U.; GROTH, A.; COLOSO, R.M.; BECKER, K. Contribution of natural food and supplemental feed to the gut content of *Penaeus monodon* Fabricius in a semi-intensive pond system in the Philippines. **Aquaculture.**, v. 164, p. 105-116, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 243p.

FORSTER, I.P.; DOMINY, W.; OBALDO, L.; TACON, A.G.J. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture**, v. 219, p.655-670, 2003.

FORSTER, I.P.; DOMINY, W.G. Efficacy of three methionine sources in diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J. World Aquac. Soc.**, v. 37, p. 474-480, 2006.

FOX, J.M.; HUMES, M.; DAVIS, D.A.; LAWRENCE, A.L. Evaluation of methionine supplements and their use in grain-based feeds for *Litopenaeus vannamei*. **J. World Aquac. Soc.**, v. 42, p. 676–686, 2011.

GESAMP. 1991. Reducing environmental impacts of coastal aquaculture. GESAMP Reports and Studies v. 47, 35p.

GESAMP. 1996. Monitoring the ecological effects of coastal aquaculture. GESAMP Reports and Studies v. 57, 38 p.

GU, M.; ZHANG, W.B.; BAI, N.; MAI, K.S.; XU, W. Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on growth performance and feed utilization of white shrimp

(*Litopenaeus vannamei*) fed plant protein-enriched diets. **Aquac. Nutr.**, v. 19, p. 39–46, 2013.

HOPKINS, J.S.; HAMILTON II, 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. **J. World Aquac. Soc.**, v. 24, p. 304-320, 1993.

JACKSON C.; PRESTON N.; J P. BURFORD T.M. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. **Aquaculture.**, v. 218, p. 397 – 411, 2003.

JATOBÁ A.; DA SILVA B.C.; SILVA J.S.; VIEIRA F.N.; MOURIÑO, J. L. P.; SEIFFERT W. Q.; TOLEDO, T.M. Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive and biofloc systems. **Aquaculture.**, v. 432, p. 365–371, 2014.

JONES, A.B.; DENNISON, W.C.; PRESTON, N.P. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. **Aquaculture.**, v. 193, p. 155–178, 2001.

JONES, P.L.; DE SILVA, S.S. Comparison of internal and external markers in digestibility studies involving the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* Clark (Decapoda, Parastacidae). **Aquac. Res.**, v. 29, p.487–493, 1998.

JU, Z. Y.; FOSTER, I.; CONQUEST, L.; DOMINY, W. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. **Aquac. Nutr.**, v. 14, p. 533-543, 2008.

KUHN, D.D.; LAWRENCE, A.L.; BOARDMAN, G.D.; PATNAIK, S.; MARSH, L.; FLICK JR., G.J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.**, v. 303, p. 28-33, 2010.

KUHN, D.D.; BOARDMAN, G.D.; LAWRENCE, A.L.; MARSH, L.; FLICK JR., G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture.**, v. 296, p. 51-57, 2009.

KUHN, D.D.; BOARDMAN, G.D. Use of microbial flocs generated from tilapia effluent as a nutritional supplement for shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in recirculating aquaculture systems. **J. World Aquac. Soc.**, v. 39, p. 72-82, 2008.

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

YANG Q.; ZHOU X.; ZHOU Q.; TAN B.; CHI S.; DONG X. Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. **Aquac. Res.**, p. 1 – 9, 2009.

LEE, P.G.; LAWRENCE, A.L. Digestibility. In: D'ABRAMO, L.R., CONKLIN, D.E., AKIYAMA, D.M. (Eds.) **Crustacean Nutrition**, Advances in World Aquaculture, vol. 6. **World Aquac. Soc.**, Baton Rouge, LA, USA, pp. 194–260, 1997.

LIANG W.; LUO G.; TAN H.; MA, N.; ZHANGA N.; LI, L. Efficiency of biofloc technology in suspended growth reactors treating aquacultural solid under intermittent aeration. **Aquac. Eng.**, v. 59, p. 41–47, 2014.

LIN HEI-ZHAO.; LI ZHUO-JIA.; CHEN YONG-QING.; ZHENG WEN-HUI.; YANG K. Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. **Aquaculture.**, v. 253, p. 495– 501, 2006.

LOPEZ-VELA M.; PUENTE, M.E.; CIVERA-CERECEDO R.; ARREDONDO-VEGA B.; ANDREATTA E.R.; MAGALLON-BARAJAS, F.J. Characterization of wastewater generated by *Litopenaeus vannamei* after being fed experimental diets based on animal protein, vegetable protein and a commercial diet. **Aquac Res.**, v. 45, p. 1921–1931, 2014.

LUO G.; AVNIMELECH Y.; PAN Y.; TAN, H. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. **Aquac. Eng.**, v. 52, p. 73–79, 2013.

MACIAS-SANCHO J.; POERSCH L.H.; BAUER W.; ROMANO L. A.; WASIELESKY W.; TESSER M. B.. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. **Aquaculture.**, v. 426–427, p. 120–125, 2014.

MCINTOSH, D.; FITZSIMMONS, K. Characterization of effluent 322 from an inland, low-salinity shrimp farm: what contribution could this water make if used for irrigation. **Aquac. Eng.**, v. 27, p. 147-156, 2003.

MIRANDA, F.R.; LIMA, R.N.; CRISÓSTOMO, R.A.; SANTANA, M.G.S. Reuse of inland low-salinity shrimp farm effluent for melon irrigation. **Aquac. Eng.**, v. 39, p. 1–5, 2008.

MOLINA-POVEDA C.; MORALES M.E. Use of a mixture of barley-based fermented grains and wheat gluten as an alternative protein source in practical diets for *Litopenaeus vannamei* (Boone). **Aquac Res.**, v. 35, p. 1158 – 1165, 2004.

MORRIS, T.C.; SAMOCHA, T.M.; DAVIS, D.A.; FOX, J.M. Cholesterol supplements for *Litopenaeus vannamei* reared on plant based diets in the presence of natural productivity. **Aquaculture.**, v. 314, p. 140–144, 2011.

NRC. 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. Animal Nutrition Series. National Research Council of the National Academies. The National Academies Press, Washington, D.C.

NUNES, A.J.P.; SÁ, M.V.C.; BROWDY, C.L.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture.**, v. 431, p. 20–27, 2014.

NUNES, A.J.P.; GESTEIRA, T.C.V.; GODDARD, S. Food consumption 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., GODDARD, S.; GESTEIRA, T.C.V. Feeding activity patterns of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, v. **144**, p. 371-386, 1996.

OTOSHI C.A.; TANG L.R.; DAGDABAN D.V.; HOLL C.M.; TALLAMY C.M.; MOSS D.R.; ARCE S.M.; MOSS S.M. Super intensive growout of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Recent advances at the oceanic institute. *In: Proceedings o the 6th International conference Recirculating Aquaculture.*, p. 1-5. Virginia Tech University, Blacksburg. 2006.

OUIFARD, A.; SEYFABADI, J.; KENARI A.A.; REZAEI, M. Growth and apparent digestibility of nutrients, fatty acids and amino acids in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with rice protein concentrate as total and partial replacement of fish meal. **Aquaculture.**, v. 342-343, p. 56–61, 2012.

REYMOND, H.; LAGARDÈRE, J.P. Feeding rhythms and food of *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Penaeidae) in salt water ponds: role of halophilic entomofauna. **Aquaculture.**, v. **81**, p. 125-143, 1990.

RIVAS-VEGA M.E.; GOYTORTÚA-BORES E.; EZQUERRA-BRAUER J.M.; SALAZAR-GARCÍA M.G.; CRUZ-SUÁREZ L.E.; NOLASCO H.; CIVERA-CERECEDO R. Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Food Chemistry.**, v. 97, p. 41– 49, 2006.

ROY, L.A.; BORDINHON, A.; SOOKYING, D.; DAVIS, D.A.; BROWN, T.W.; WHITIS, G.N. Demonstration of alternative feeds for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters of west Alabama. **Aquac. Res.**, v. 40, p. 496–503, 2009.

SÁ, M.V.C.; SABRY-NETO, H.; CORDEIRO-JÚNIOR, E.; NUNES, A.J.P. Dietary concentration of marine oil affects replacement of fish meal by soy protein concentrate in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquac. Nutr.**, v. 19, p. 199–210, 2013.

SHIAU, S.-Y.; LIN, K.-P.; CHIOU, C.-L. Digestibility of different protein sources by *Penaeus monodon* raised in brackish water and seawater. **J Appl Aquac.**, v.1, p.47– 53, 1992.

SMITH, D.M.; TABRETT, S.J. Accurate measurement of *in vivo* digestibility of shrimp feeds. **Aquaculture.**, v. 232, p. 564-580, 2004.

SOOKYING, D.; DAVIS, D.A.; SILVA, F.S.D. A review of the development and application of soybean-based diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac. Nutr.**, v. 19, p. 441–448, 2013.

SOOKYING D.; DAVIS D.A. Pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed high levels of soybean meal in various combinations. **Aquaculture.**, v. 319 p. 141–149, 2011.

SOOKYING, D.; SILVA, F.S.D.; DAVIS, D.A.; HANSON, T.R. Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. **Aquaculture.**, v. 319, p. 232–239, 2011.

STEWART, N.T.; BOARDMAN, G.D.; HELFRICH, L.A. Treatment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) raceway effluent using baffled sedimentation and artificial substrates. **Aquac. Eng.**, v. 35, p. 166–178, 2006.

SUÁREZ J.A.; GAXIOLA G; MENDOZA R.; CADAVID S.; GARCIA G.; ALANIS G.; SUÁREZ A.; FAILLACE J.; CUZON G. Substitution of fish meal with plant protein sources

and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture.**, v. 289, p. 118–123, 2009.

TACON, A.G.J.; HASAN, M.R.; METIAN, M. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. FAO Fisheries and **Aquaculture** Technical Paper N<sup>o</sup>. 564. FAO, 87 p. 2011.

THO, N.; MERCKX, R.; UT, V. N. Impacts of saline water irrigation and shrimp pond discharges on the surrounding waters of a coastal district in the Mekong delta of Vietnam. **Environ. Earth Scienc.**, v. 71, p. 2015-2027, 2014.

XU W.; PAN L.; ZHAO D.; HUANG J. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture.**, v. 350-353, p. 147–153, 2012.

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.

WIBAN, I. Domestication of Pacific White Shrimp Revolutionizes Aquaculture. **Global Aquac. Advocate.**, v.16, n.4, p.42-43, 2007.