

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

**UTILIZAÇÃO DE MELAÇO COMO FONTE DE CARBONO EM CULTIVO DO
CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
SEM RENOVAÇÃO DE ÁGUA E SOB DIFERENTES RELAÇÕES
CARBONO/NITROGÊNIO.**

JOÃO PAULO VIANA DE LIMA

**Recife, PE
Abril – 2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

UTILIZAÇÃO DE MELAÇO COMO FONTE DE CARBONO EM CULTIVO DO
CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
SEM RENOVAÇÃO DE ÁGUA E SOB DIFERENTES RELAÇÕES
CARBONO/NITROGÊNIO.

JOÃO PAULO VIANA DE LIMA

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

Orientador: Dr. Eudes de Souza Correia, Depto. de Pesca e Aquicultura, UFRPE.

Recife, PE

Abril – 2007

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

Parecer da comissão examinadora da defesa de dissertação de mestrado de

JOÃO PAULO VIANA DE LIMA

Utilização de melação como fonte de carbono em cultivo do camarão branco do Pacífico
***Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) sem renovação de água e sob diferentes relações**
carbono/nitrogênio.

Área de concentração: **Aqüicultura**

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro,
considera o candidato **João Paulo Viana de Lima**
como APROVADO.

Recife, 27 de abril de 2007.

Prof. Dr. Paulo Eurico Pires Ferreira Travassos
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (Orientador)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

(Dr^a. Roberta Borda Soares (Membro Externo)
UFRPE/FACEPE/CNPq

Prof. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto (Membro Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.^a Dr^a. Emiko Shinozaki Mendes (Membro Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes (Membro Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ficha catalográfica

L732u Lima, João Paulo Viana de
Utilização de melaço como fonte de carbono em cultivo do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) sem renovação de água e sob diferentes relações carbono / nitrogênio. / João Paulo Viana de Lima, 2007.
75 f. : il.

Orientador: Eudes de Souza Correia
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca e Aqüicultura.
Inclui bibliografia e anexo.

CDD 639.543

1. Melaço
2. Relação C:N
3. Cultivo de camarão
4. Bactérias heterotróficas
5. Qualidade da água
6. *Litopenaeus vannamei*
- I. Correia, Eudes de Souza
- II. Título

À **Deus**, pela preciosa vida

OFEREÇO.

Aos meus pais,

João José e Telma, por todo amor, carinho e confiança;

Aos meus irmãos,

André Luiz, João Neto e Luiz Gustavo, pela ajuda, amizade e incentivo a todo o momento,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural Pernambuco, pelo apoio para realização do Curso.

Ao Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE, em nome de todos os professores e funcionários, pela ótima acolhida nestes sete anos de convivência e excelente contribuição para minha formação.

À Estação de Aquicultura Continental Professor Johei Koike – UFRPE, em nome do seu Coordenador, MSc. Augusto José Nogueira, pelo uso de suas instalações.

Aos membros da Banca Examinadora, titulares e suplentes, pelas críticas que contribuíram para melhorar a qualidade deste trabalho.

À Aquicultura Campo Novo, pelo fornecimento dos camarões; e a Fazenda Miramar, pelo fornecimento da água salgada e do sedimento, necessários para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eudes de Souza Correia, grande orientador e amigo, por sua efetiva participação no experimento, seus ensinamentos e ajuda (nos momentos que mais precisei), que foram de suma importância para minha formação.

Aos Professores Paulo de Paula Mendes e Alfredo Olivera, por suas contribuições bastante relevantes durante a elaboração do projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Alberto Nunes, por seus esclarecimentos e sugestões, quanto ao delineamento de trabalhos experimentais com utilização de sistemas autotróficos e heterotróficos, e estudos de avaliação da relação C:N.

Ao Laboratório de Limnologia do DEPAq/UFRPE, e em nome do Prof. Dr. William Severi e todos os colaboradores desse laboratório, pelo apoio na realização das análises químicas da água

À Prof.^a Dr.^a Emiko Shinozaki Mendes, responsável pelo Laboratório de Inspeção de Carne e Leite do DMV/UFRPE, e a aluna de graduação Joanna Dourado, pelo apoio na realização das análises bacteriológicas.

À Fabiana Penalva e Daniel Rodrigues, pela excelente amizade e dedicação com a qual cuidaram do experimento. Sou profundamente grato por seus sábados, domingos e

feriados desperdiçados em meio ao meu “campo de batalha”, mas, sem dúvida alguma, sem estes dois *oficiais*, a “batalha” estaria fadada ao fracasso.

Aos alunos do CODAI/UFRPE, Luiz Antonio e Andréa, por seus esforços e ajuda, durante todo o período experimental. Caros amigos, meus “*soldados*”, decerto tão importantes quanto qualquer outro membro da equipe *MeLvan*.

Aos meus amigos, Albino Leal e João Batista, pelo companheirismo, ensinamentos, confiança e ajuda – sempre disponíveis a qualquer momento, e também pelas... festas, trabalhos, farras, responsabilidades, baladas e amizades compartilhadas... enfim, estes caras são DEZ.

Aos colegas do LAPAQ, Ugo Lima, Susmara Campos, Werlanne Santana, Cristiano Rieper, Diogo Fialho, Elizabeth Cristinny, Paulo Pitanga, Ericka Carneiro, Vinícius Dias, Daniel Maymone e, em especial, à equipe do Policultivo (Tiago, Rubem e Pedro), pela amizade, companheirismo e ajuda durante o período de montagem e instalação do experimento.

Aos amigos da Pós-graduação, Isabel Almeida, Iru Guimarães, Danielli Matias, José Ricardo, Wanessa de Melo, Sérgio Catunda, Marília Souza, Ícaro Gomes, Marina Figueiredo, Diogo Bessa, Werlayne Santana, Roseli Pimentel, Verônica Arns, e muitos outros que não tive como citá-los, mas que, de certa forma, contribuíram cada um com sua importância e seu simbolismo de amizade, fundamentais durante estes 730 dias de curso.

Aos colegas de trabalho na Prefeitura da Cidade do Paulista, Abdias Silva, Manuela Nascimento, Jurandir Cavalcanti, Benedito Joaquim, Izabel Nogueira, Adalberto Queiroga, Marcelo Ferreira e José Severino (Juca), pela grande ajuda e motivação durante a conclusão.

À minha namorada, Vanessa Carvalho, por sua companhia, todo seu carinho e compreensão, que foram imprescindíveis nos momentos de maior aflição.

Aos meus familiares, em especial, aos meus pais e irmãos, que entenderam e me apoiaram a cada minuto e em cada ausência, e sempre estavam dispostos a me ajudar no que fosse preciso.

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

“Toda aventura humana está baseada em sonhos, esperanças e desejos de realizar... e a história recente da indústria brasileira de cultivo de camarão não é senão um desses sonhos num caminho acelerado para transformar-se em realidade”.

(Wurmann, 2001)

“A natureza em seus caprichos e mistérios condensa em pequenas coisas o poder de dirigir as grandes; nas sutis, a potência de dominar as mais grosseiras; e nas coisas simples, a capacidade de reger as complexas.”

Artur Primavesi

RESUMO

O acúmulo de formas tóxicas de compostos nitrogenados na água é um grande problema para os sistemas aquícolas. Pesquisas recentes têm demonstrado resultados satisfatórios em termos de produção e eficiência de retenção do nitrogênio, através da adição de fontes de carbono orgânico (açúcar, melão, etc.). O presente estudo investigou o efeito da adição de melão em diferentes relações C:N sobre a qualidade da água, atividade microbiana e a produção semi-intensiva do camarão *Litopenaeus vannamei*, em tanques de cultivo experimental sem renovação de água. Foram adotados quatro tratamentos e três réplicas, sendo três com aplicação diária de melão nas relações C:N 5, 10 e 15:1, e um controle, sem aplicação desta fonte de carbono. Foram utilizados 12 tanques em fibra de vidro (500 L), estocados com 25 camarões.m⁻² (1,90±0,37 g). A alimentação constou de ração comercial com 35% de proteína bruta e foi ofertada diariamente em bandejas às 8 e 16h. Coletas de água para análise química e de material biológico (fitoplâncton e bactérias) foram realizadas quinzenalmente ao longo do cultivo. As relações 15:1 e 10:1 apresentaram os menores (P<0,05) níveis de oxigênio dissolvido (4,64 e 4,76 mg L⁻¹, respectivamente) que está relacionado ao maior aporte de carbono orgânico nestas relações. O melão reduziu significativamente (P<0,05) as concentrações dos compostos nitrogenados, nitrito e nitrato, bem como reduziu as densidades de cianobactérias nos ambientes com relações C:N de 10 e 15:1. Nenhum efeito (P≥0,05) foi observado em relação às bactérias autotróficas, heterotróficas e *Vibrio* spp. O peso final dos camarões (~12,3 g) e o ganho de peso individual (~1,04 g.semana⁻¹), nas relações C:N mais altas (10:1 e 15:1), foram superiores (P<0,05) aos demais tratamentos. A taxa de crescimento específico foi elevada em todos os tratamentos (2,53 a 2,69 % dia⁻¹), entretanto os indivíduos na relação 10:1 foi superior (P<0,05) ao controle. Os valores de produção variaram de 267,4 a 301,0 g m⁻², e não foram diferentes estatisticamente (P≥0,05) entre os tratamentos. O melão pode ser utilizado como fonte de carbono para incrementar a relação C:N, melhorando a qualidade da água e os níveis de produtividade em cultivo semi-intensivo de *L. vannamei* sem renovação de água.

ABSTRACT

The accumulation of toxic nitrogenous compounds in the water is a common problem to aquaculture systems. Recent works have showed good results in terms of production and nitrogen retention efficiency, through the addition of organic carbon source (sugar, molasses, etc). This work investigated the effect of molasses addition in different C:N ratios on the water quality, microbial activity and production, in semi-intensive experimental culture tanks of *Litopenaeus vannamei* with no water exchange. Four treatments and three replicates were adopted, which three with daily molasses addition in 5, 10 and 15:1 C:N ratio and one control with no carbon source addition. Twelve 500 L fiber glass tanks were stocked with 25 shrimps.m⁻² (1.90±0.37 g). Shrimps were fed with a 35% crude protein commercial diet offered in feeding trays at 08:00 and 16:00. Phytoplankton, bacteria and water samples were collected fortnightly during the culture. The 15:1 and 10:1 C:N ratios showed lower (P<0.05) oxygen dissolved levels (4.64 and 4.76 mg L⁻¹, respectively) which is related with the major organic carbon supply in these ratios. Molasses addition resulted in lower (P<0.05) nitrogenous compounds levels (nitrite and nitrate), as well reducing in the cyanobacteria densities in the C:N 10 and 15:1 treatments. No significant differences (P≥0.05) were found in *Vibrio* spp, autotrophic and heterotrophic bacterial densities. Shrimp final weight (~12.3 g) and weight gain (~1.04 g.week⁻¹) in high C:N ratios (10:1 and 15:1) were higher (P<0.05) than in the others treatments. Specific growth rate was high in all treatments (2.53 to 2.69 % day⁻¹), but the 10:1 ratio was higher than the control. Yield values ranged from 267.4 to 301.0 g m⁻² with no significant difference (P≥0.05) among treatments. This study shows that the molasses can be used as carbon source in order to increase C:N ratio, improving the water quality and the *L. vannamei* semi-intensive culture performance with no water exchange.

LISTA DE TABELAS

Artigo

- Tabela 1 – Physicochemical water quality variables and organic matter on sediment in *Litopenaeus vannamei* experimental tanks, over a 70-day semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) with daily sugar cane molasses addition in different carbon:nitrogen ratios [C/N] and no water exchange..... 36
- Tabela 2 – Phytoplankton and bacterial densities in *Litopenaeus vannamei* experimental culture tanks with daily sugar cane molasses addition in different C/N ratios and no water exchange..... 39
- Tabela 3 – Yield performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* over a 70-day semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in zero water exchange experimental tanks with daily sugar cane molasses addition in different carbon: nitrogen ratios [C/N]..... 43

LISTA DE FIGURAS

Artigo

- Figura 1 – The effects of sugar cane molasses addition in different C/N ratios on the water quality parameters alkalinity (A), total suspended solids – TSS (B), chlorophyll-*a* (C), chemical oxygen demand – COD (D), nitrite-N (E), nitrate-N (F), total ammonia nitrogen – TAN (G), total phosphorus (H), inorganic phosphate (I) and silicate (J), over a 70-day *Litopenaeus vannamei* semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in experimental tanks with no water exchange. CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively..... 38
- Figura 2 – The effect of sugar cane molasses addition in different C/N ratios on the phytoplankton communities Diatoms (A), Chlorophyceans (B) Cyanobacteria (C) and Dinoflagellates (D), over a 70-day *Litopenaeus vannamei* semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in experimental tanks with no water exchange. CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively..... 40
- Figura 3 – The effect of sugar cane molasses addition in different C/N ratios on the population density (CFU – Colony Forming Units per mL) of HET – heterotrophic (A), and AUTO – autotrophic bacteria (B) and *Vibrio* spp. (C), over a 70-day *Litopenaeus vannamei* semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in experimental tanks with no water exchange. CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively. Details in *a* and *b*..... 42

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1. Alimento Natural.....	16
3.2. Fertilização Inorgânica e Orgânica.....	18
3.3. Manejo de Água no Cultivo de Camarão.....	20
3.4. Os Microrganismos e a Qualidade da Água.....	23
4. ARTIGO CIENTÍFICO – Molasses utilization in <i>Litopenaeus vannamei</i> culture with different carbon/nitrogen ratios. (<i>Aquaculture</i> , ISSN 0044-8486).....	27
4.1. Introduction.....	30
4.2. Materials and Methods.....	31
4.3. Results and Discussion.....	34
4.4. Conclusion.....	44
4.5. Acknowledgments.....	44
4.6. References.....	45
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REFERÊNCIAS.....	52
7. ANEXO.....	66

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de camarões marinhos em escala comercial no Brasil teve seu início na década de 70, com a introdução da espécie exótica *Marsupenaeus japonicus* e, posteriormente, o cultivo das espécies nativas *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus subtilis* e *Litopenaeus schmitti*. Porém, apenas na década de 90 com a introdução da espécie exótica *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), a carcinicultura brasileira começou a ter representatividade na produção mundial de crustáceos.

A adoção do *L. vannamei* como espécie alvo da carcinicultura brasileira foi decorrente do seu alto grau de rusticidade, rentabilidade, crescimento, conversão alimentar e grande aceitação no mercado internacional que, aliados às condições edafo-climáticas das diversas macro-regiões do Brasil e, de forma especial da Região Nordeste, possibilitaram o desenvolvimento do setor (ANDREATTA e BELTRAME, 2004).

Analisando-se a evolução da produção mundial de camarão, envolvendo captura e cultivo, verifica-se que houve um incremento médio anual de 4,71% no volume total de camarão inteiro, passando de 2.983.674 t em 1993 para 4.728.765 t em 2003. Por sua vez, a produção derivada apenas da carcinicultura aumentou de 835.204 t (1993) para 1.703.957 t (2003), correspondendo a uma taxa média anual de 7,39% (ROCHA, 2005).

Desde o início da sua produção comercial em 1996 e até 2003, o cultivo brasileiro de camarão marinho vinha apresentando crescimentos elevados e bastante consistentes em termos de produtividade, produção e volume exportado. No entanto, a partir de 2004, o seu desempenho foi afetado por problemas decorrentes de efeitos combinados do vírus IMNV (Mionecrose Infecciosa) e da ação *antidumping*, frente a um mercado mundial operando com preços baixíssimos e uma taxa de câmbio reduzida (RODRIGUES, 2005). Isto contribuiu para o decréscimo da produção brasileira de camarão que, em 2004, atingiu uma produção de 75.904 t, representando uma redução de 15,84% em relação à produção de 2003 (ROCHA, 2005).

Segundo Madrid (2005), é imperioso que os produtores tenham mudanças de atitudes em relação ao enxugamento dos custos de produção para que se possa recuperar a sustentabilidade econômica. Dentre os custos operacionais, a ração é o item de maior peso, respondendo por 40 a 60% dos gastos com produção na maioria dos empreendimentos (LOVELL, 1989; AKIYAMA et al., 1992; D'ABRAMO e SHEEN, 1996; MADRID, 2005).

A busca pelo incremento da produtividade aquática com o objetivo de minimizar a utilização da ração vem sendo uma preocupação constante da carcinicultura nacional. Uma

das formas de se promover a redução dos custos com ração é a utilização do alimento natural (CORREIA, 1998), que também contribui reduzindo a degradação da qualidade da água (MARTINEZ-CORDOVA et al., 1998).

A capacidade de produção dos viveiros de camarão depende da maximização da produtividade primária e da minimização da perda de nutrientes. A produção de camarões em viveiros pode ser consideravelmente aumentada com a utilização de alimento suplementar e o uso de fertilizantes (BOYD, 1997a; ALONGI et al., 1999).

A prática da adubação ou fertilização tem sido utilizada como uma importante ferramenta no cultivo de organismos aquáticos. Adicionam-se nutrientes à água a fim de estimular a abundância do fitoplâncton e a proliferação do bentos, incrementando a produtividade natural dos viveiros e o crescimento dos camarões (COLMAN e EDWARDS, 1987; SCHROEDER et al., 1990; BOYD e TUCKER, 1998; BOYD, 2001).

Segundo Nunes (2000), a fertilização da água e a implementação de práticas para incrementar a produtividade natural são tão importantes quanto o uso de uma ração nutricionalmente completa e bem balanceada. Diversos autores demonstraram que, mesmo mediante o suprimento alimentar artificial diário, os camarões derivam a maioria do carbono utilizado no crescimento do consumo da biota natural do ambiente de cultivo. Segundo Anderson et al. (1987), o alimento natural pode contribuir com até 77% do carbono empregado em crescimento pelo *L. vannamei*.

Técnicas de cultivo em sistemas fechados, desenvolvidas nos Estados Unidos desde os anos 90, estão sendo bastante difundidas nas fazendas de camarão marinho, a partir da produção de camarões com baixa ou nenhuma troca de água, com o objetivo de garantir maior segurança e diminuição dos efluentes nas fazendas, reduzindo as possibilidades de impacto ambiental (HOPKINS et al., 1993; SANDIFER e HOPKINS, 1996; BROWDY et al., 2001a; BURFORD et al., 2003; WASIELESKY et al., 2006).

As bactérias desempenham um papel importante na dinâmica de nutrientes dos sistemas de produção aquícola (MONTROYA e VELASCO, 2000). Sistemas de troca zero de água consistem em estimular a formação de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica a partir da fertilização com fontes ricas em carbono orgânico (açúcar, melaço, etc.) e aeração constante do ambiente de cultivo (WASIELESKY et al., 2006). O melaço pode ser utilizado na preparação dos viveiros de camarão marinho (TALAVERA et al., 1998), atuando como uma fonte alternativa de carbono para a aquíicultura (SCHNEIDER et al., 2006).

Em pesquisas recentes foi demonstrado que a adição de carboidratos em viveiros extensivos de camarão melhorou a eficiência de retenção dos compostos nitrogenados, tendo efeitos positivos sobre a produção (HARI et al., 2004). Além do controle do nitrogênio, este processo leva à produção de proteínas microbianas que são uma fonte efetiva de proteína para os camarões (AVNIMELECH, 2000; BURFORD et al., 2004), deste modo reduzindo a demanda por proteína no alimento suplementar (AVNIMELECH, 1999).

O melaço é um subproduto do processo de refino do açúcar (NAJAFPOUR e SHAN, 2003) e um dos mais importantes materiais utilizados na produção comercial do etanol, devido ao seu baixo custo e disponibilidade (FAHY et al., 1997). Além de ser mais barato que a glicose, o melaço contém elementos minerais e vitaminas que podem ser usados como potencializadores do crescimento das bactérias (SQUIO e ARAGÃO, 2004).

O melaço possui, geralmente, 17 a 25% de água e um teor de açúcar (sucrose, glucose, frutose) de 45 a 50% (NAJAFPOUR e SHAN, 2003). Estima-se que o teor de carbono no melaço seja 20 a 30%. Samocha et al. (2007), em pesquisas recentes com adição de melaço como fonte de carbono suplementar no cultivo de camarão, informam uma densidade específica de 1,3 e um teor de carbono de 24% (v/v).

Atualmente, o melaço vem sendo utilizado como promotor de crescimento bacteriano em viveiros de cultivo de camarão no Brasil e no mundo. No entanto, sua eficiência é ainda muito pouco conhecida (WASIELESKY et al., 2006).

2. OBJETIVOS

- **Geral**

Avaliar a influência do melação como fonte de carbono orgânico em diferentes relações C:N no cultivo semi-intensivo do *Litopenaeus vannamei* sem renovação de água, visando reduzir o impacto ambiental dos efluentes, favorecendo o desenvolvimento sustentável da carcinicultura.

- **Específicos**

- Analisar a influência da adição de melação, como fonte de carbono, sobre a qualidade da água de cultivo;
- Verificar e quantificar as possíveis alterações da carga bacteriana e das comunidades fitoplanctônicas;
- Avaliar o consumo de ração, conversão alimentar, relação de eficiência protéica, crescimento e sobrevivência do *L. vannamei* em condições de cultivo experimental, em função da utilização de melação;
- Estabelecer a relação C:N que proporciona melhor desempenho no cultivo de *L. vannamei* sob condições semi-intensivas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Alimento Natural

A alimentação é um fator de extrema importância para um sistema de cultivo, pois influencia diretamente na sobrevivência e no crescimento dos organismos aquáticos, bem como a viabilidade econômica do cultivo, visto que pode representar até mais de 60% dos custos de produção.

O alimento natural (especialmente organismos zooplancctônicos e bentônicos) é de suma importância para a nutrição dos camarões cultivados (MARTINEZ-CORDOVA et al., 2003). Segundo Jory *apud* Martinez-Cordova et al. (2003), a utilização de dietas com níveis elevados de proteína é desnecessária quando há uma grande abundância de alimento natural no sistema de cultivo.

As rações são utilizadas em cultivos semi-intensivos e intensivos para aumentar a produção além dos níveis suportados pela produtividade natural do viveiro. No sistema semi-intensivo, a contribuição do alimento natural na alimentação dos camarões é bastante significativa, podendo alcançar até 85% (NUNES et al., 1997). Em viveiros de engorda que operam com produtividades abaixo de 1,0 t/ha/ciclo, as rações satisfazem entre 23% e 47% dos requerimentos nutricionais do *L. vannamei*, sendo o restante suprido pelo alimento natural (ANDERSON et al., 1987). Em sistemas mais intensivos, a contribuição do alimento natural diminui, mas ainda é considerada significativa (> 25%) (NUNES, 2000).

Entre os organismos componentes do alimento natural disponíveis aos animais cultivados em viveiros destacam-se as microalgas, representadas principalmente pelas diatomáceas e clorofíceas; e o zooplâncton, representado pelos rotíferos, cladóceros e copépodos (SILVA, 2004). A comunidade bentônica é representada por organismos microbianos (bactérias e fungos), micro-invertebrados e fitobentos, anelídeos e insetos aquáticos que vivem sob os detritos do fundo do viveiro (CORREIA, 1998).

A intensificação dos cultivos de *L. vannamei* requer o estabelecimento de uma comunidade planctônica bem desenvolvida, uma vez que esta é utilizada pelos camarões como complemento alimentar, fornecendo-lhes importantes compostos nutricionais como ácidos graxos, que são essenciais à sobrevivência e crescimento dos camarões (MAIA et al., 2003). Camarões marinhos em transição da fase de pós-larvas para juvenis podem alimentar-se indiretamente das microalgas aderidas a detritos e diretamente de copépodos, larvas de moluscos e do próprio detrito (ALONSO-RODRIGUEZ e PÁEZ-OSUNA, 2003; MARTINEZ-CORDOVA et al., 2002).

Os microrganismos (plâncton, bactérias, etc.) são de grande importância para os sistemas aquícolas, particularmente com respeito à produtividade primária, ciclagem dos nutrientes, nutrição dos animais cultivados, qualidade da água, controle de doenças e do impacto dos efluentes ao meio ambiente (MORIARTY, 1997).

Rubright et al. *apud* Moss et al. (1992) sugerem que, em cultivo semi-intensivo, a fauna bêntica é capaz de dar suporte ao crescimento dos camarões nas quatro primeiras semanas de cultivo. A importância da meiofauna para o crescimento dos camarões está no fato destes organismos servirem de elo entre as bactérias e os camarões. Estudos de Hunter et al. *apud* Moss et al. (1992) indicam que o consumo de microalgas pelo *L. vannamei* em viveiros de terra semi-intensivos pode contribuir substancialmente para sua dieta.

Atualmente, a utilização de sistemas sem renovação de água tem despertado o interesse dos pesquisadores quanto às propriedades nutricionais dos flocos bacterianos (agregados microbianos ou bacterianos). Flocos bacterianos são formados durante o ciclo de produção e são constituídos principalmente de bactérias, microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de organismos mortos, cianobactérias, protozoários, pequenos metazoários e formas larvais de invertebrados, entre outros (BURFORD et al., 2003; WASIELESKY et al., 2006).

Segundo Burford et al. (2004), mais de 29% do alimento consumido por *L. vannamei* pode ser proveniente do floco bacteriano presente no meio heterotrófico (meio onde predominam organismos heterotróficos, mantidos através do balanço da relação carbono/nitrogênio/fósforo). O filme bacteriano e outros organismos geralmente constituem de 5 a 10% da massa das partículas de detritos (CHAMBERLAIN et al., 2001a) e podem ser promovidas pela adição de silicato e calcário (BROWDY et al., 2001b).

Partículas floculadas possuem elevados níveis de proteínas, aminoácidos e outros elementos alimentares essenciais em níveis satisfatórios (TACON et al., 2002; DECAMP et al., 2003; BURFORD et al., 2004). Contêm também vitaminas e minerais em bons níveis, sendo desnecessária a adição destes fatores de crescimento na ração, reduzindo em 30% os custos destes insumos (CHAMBERLAIN et al., 2001b). Segundo Avnimelech (2006), uma alimentação baseada em microrganismos é de alta qualidade. Entretanto, a utilização da proteína microbiana vai depender da habilidade do animal em capturar a bactéria e de digerir a proteína (KOCHBA et al., 1994).

3.2 Fertilização Inorgânica e Orgânica

A adição de fertilizantes em viveiros de cultivo é uma prática comum na aquicultura (JANA et al., 2001; BOYD, 2003). Os nutrientes dos fertilizantes são incorporados à biomassa planctônica (algas e zooplâncton) e, através de uma complexa rede de assimilação e reciclagem dos nutrientes, chegam aos organismos cultivados (HANSEN et al., 2003). Esta biomassa é nutricionalmente rica e pode ser utilizada para a alimentação dos organismos cultivados, como também para o estabelecimento da cadeia trófica no ambiente de cultivo (ARANA, 2004).

Segundo Boyd (1997a), mediante o uso apropriado de fertilizantes químicos, a produção da aquicultura pode ser aumentada de duas a dez vezes acima daquela obtida em viveiros não fertilizados.

Os cinco principais fatores que regulam a produtividade dos viveiros são as disponibilidades de nitrogênio inorgânico solúvel (N), fósforo (P), carbono (C), luminosidade, e temperaturas satisfatórias da água (FOGG, 1975; McCOY, 1983).

Fertilizantes químicos ou inorgânicos são substâncias que contêm, principalmente, nitrogênio, fósforo e potássio, isolados ou em combinação (BOYD, 2001). Estes são classificados pelo conteúdo de nutrientes nas suas fórmulas, sendo expressos em percentagem de peso na forma de nitrogênio (N), óxido de fósforo (P_2O_5) e óxido de potássio (K_2O). O nitrogênio está presente em fertilizantes como nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), amônia (NH_4^+), ou uréia [$(NH_2)_2CO$]; o fósforo como ortofosfato (PO_4^-); e o potássio como íon de potássio (K^+). Os fertilizantes à base de nitratos, mesmo com custos superiores, apresentam vantagens sobre os fertilizantes amoniacais, pois o nitrato não é tóxico e é totalmente oxidado no ambiente de cultivo (BOYD, 1997b; BARBIERI e OSTRENSKY, 2002).

O nitrato também tem mais efeito do que a amônia no desenvolvimento das diatomáceas (BOYD, 2001), que é o grupo de microalgas mais desejado nos cultivos de camarão, além de servirem como bio-indicadores de boa qualidade da água (BRITO et al., 2006). No entanto, se a água contém concentrações de silicato abaixo de 1,0 mg/L de silício (Si), aplicações de silicato de sódio de 50 a 100 kg/ha (~ 0,7 a 1,4 mg Si/L) também podem aumentar a proporção das diatomáceas (BOYD, op. cit.).

Os fertilizantes orgânicos suplementam as fontes de carbono, beneficiando o crescimento de bactérias e organismos bentônicos e também estimulando o crescimento do fitoplâncton (MacLEAN et al., 1994; QIN et al., 1995; CORREIA, 1998; BURFORD et al., 2003). A decomposição destes fertilizantes libera CO_2 (dióxido de carbono) utilizado diretamente na fotossíntese (AVAULT JR., 1996). Fertilizantes orgânicos contêm quase todos

os elementos nutrientes essenciais e enriquecem o conteúdo de matéria orgânica do solo dos viveiros (JANA et al., 2001).

O melaço pode ser utilizado como um fertilizante orgânico no cultivo de camarão, aplicado diretamente no solo dos viveiros ou na coluna d'água. No Panamá, utiliza-se de 12 a 17 galões/ha/semana na preparação dos viveiros e manutenção da produtividade primária ao longo do cultivo (TALAVERA et al., 1998). O carbono aportado pelo melaço é utilizado pelas bactérias e algas na constituição dos tecidos e como fonte de energia, principalmente no processo de fotossíntese.

Certas fazendas de camarão, no Peru, utilizam o melaço com o objetivo de inibir a proliferação de bactérias oportunistas do gênero *Vibrio*, em doses de 5 a 7 galões/ha/semana. Outra utilização seria na preparação do “vomito” (mistura líquida de fertilizantes orgânicos e inorgânicos), tanto para o controle de bactérias como para a proliferação de algas na coluna d'água, melhorando, até certo ponto, a qualidade da água (TALAVERA et al., 1998).

Investigações extensivas têm sido feitas em relação à fertilização de viveiros de água doce, onde as taxas de aplicação usualmente consistem em 2 a 9 kg/ha de P_2O_5 isoladamente ou aplicações desta mesma dosagem de N e P_2O_5 (BOYD, 2001). Para viveiros de água estuarina, as quantidades recomendadas giram em torno de 10 a 20 kg de N e 1 kg de P por hectare, variando conforme a concentração destes na água, entretanto mantendo-se a relação N:P de 20:1 (KUBITZA, 2003; BOYD, 2001).

Cliford (1992) menciona que a manutenção de concentrações de nitrogênio próximas a 1,3 mg/L e fósforo ao redor de 0,15 mg/L favorecem o estabelecimento de populações de algas diatomáceas no fitoplâncton. Segundo Brito et al. (2006), os níveis recomendados de nitrogênio se situam entre 2 e 4 mg/L, enquanto os de fósforo entre 0,2 e 0,4 mg/L, sendo que as relações de N:P devem ser aproximadamente de 20-10:1.

Freqüentemente, observa-se que a aplicação de um mesmo programa de adubação em diferentes fazendas resulta em respostas variáveis quanto à produção e a manutenção do plâncton e dos organismos bentônicos. Isto faz com que as doses adequadas de fertilizantes e a resposta aos programas de adubação sejam específicas para cada propriedade, e até mesmo para cada viveiro dentro da mesma propriedade (BOYD, 1990; KUBITZA, 2003).

Segundo Correia (1998), o efeito da fertilização também pode estar condicionado à acidez, alcalinidade e dureza da água e/ou do solo, que podem ser corrigidas através de calagem, utilizando cal hidratada $[Ca(OH)_2]$, calcário calcítico ($CaCO_3$) ou dolomítico $[CaMg(CO_3)_2]$, aplicados diretamente no fundo do viveiro ou dissolvidos e espalhados na água, antes da aplicação dos fertilizantes.

3.3 Manejo de Água no Cultivo de Camarão

O cultivo de camarão tornou-se uma importante indústria em áreas tropicais e subtropicais ao redor do mundo (BURFORD et al., 2003), contando, em 2004, com uma produção mundial de 1.908.000 t, o que representou um incremento de 10,7% em relação ao ano anterior (ROCHA, 2005).

Nos últimos anos, apesar dos incrementos de produção, o surgimento de enfermidades tem se tornado um problema para os cultivos de camarão em muitos países no Sul da Ásia, e Américas do Sul e Central. Muitas dessas doenças têm origem viral (BROCK et al., 1997; LIGHTNER, 1999; LIGHTNER e PANTOJA, 2004; NUNES et al., 2004; GARCIA e OLMOS, 2007) e são exacerbadas pela má qualidade da água de cultivo e pelos elevados níveis de trocas de água (LeMOULLAC, 2000).

O crescimento acelerado da carcinicultura, em conjunto com o surgimento de enfermidades e a descarga direta de efluentes no meio ambiente, têm despertado a preocupação de vários grupos ambientalistas quanto à sustentabilidade ecológica desta atividade (NAYLOR et al., 2000; PÁES-OSUNA, 2001; BURFORD et al. 2003; HARI et al., 2006).

A renovação de água é uma técnica de manejo comum em cultivos de camarão, sendo bastante utilizada para manter níveis adequados de qualidade da água de cultivo (CHIEN, 1992; BURFORD et al., 2003; GÓMEZ-JIMÉNEZ et al., 2005). A troca de água também é utilizada para ajustes de temperatura e salinidade (AVAULT JR., 1996).

Viveiros de cultivo no sistema intensivo adotam taxas de renovação de água de 5 a 30% do volume do viveiro por dia (HOPKINS et al., 1993; MONTOYA et al., 1999; McINTOSH et al., 2001; GÓMEZ-JIMÉNEZ et al., 2005), enquanto que, em viveiros com baixa densidade de estocagem, utilizam-se taxas de 1 a 5% apenas para compensar as perdas por infiltração e evaporação (CHIEN, 1992; AVAULT JR., 1996). HOPKINS et al. (1993) estimam que para produzir 1 kg de camarão são necessárias 39 a 199 t de água.

Segundo Boyd (1997a), rotinas diárias de troca de água são ineficientes e desnecessárias, extrapolando-se os custos com bombeamento de água. Ainda segundo o mesmo autor, a renovação de água nos viveiros deve ser adotada apenas em casos específicos como ajuste da salinidade, remoção de produtos metabólicos tóxicos ou para conter *blooms* de algas. ALONSO-RODRIGUEZ e PÁES-OSUNA (2003) relatam que *blooms* de algas produzem alterações nos níveis de oxigênio dissolvido podendo causar a mortalidade dos camarões.

A liberação de efluentes sem tratamento representa uma perda econômica de

requisito básico para a viabilidade econômica deste tipo de cultivo (McNEIL, 2000; WASIELESKY et al., 2006).

Atualmente, sistemas sem renovação de água trabalham com densidades de estocagem acima de 60 pós-larvas/m³, com alguns empreendimentos chegando a utilizar 500 pós-larvas/m³. Cultivos intensivos de camarão são definidos por produções de 0,5 a 1,0 kg/m³ (5 a 10 t/ha), super-intensivo de 1 a 5 kg/m³ (10 a 50 t/ha) e hiper-intensivo com produções acima de 5 kg/m³ (McNEIL, 2000). Hopkins et al. (1995) e Velasco et al. (1998) relataram boa sobrevivência e crescimento em cultivo de camarão marinho em alta densidade e sem renovação de água.

Em Belize Aquaculture Ltda (BAL), na América Central, é utilizado com sucesso o sistema de produção sem renovação de água visando à redução dos efluentes, incremento da biossegurança e aumento das produções (McINTOSH, 1999; McNEIL, 2000; McINTOSH, 2001; ERLER et al., 2005). BAL desenvolveu uma abordagem integrada para o cultivo de camarão, utilizando estoques de pós-larvas selecionadas, ração com baixo nível protéico (~20%), elevadas densidades de estocagem (~120 animais/m²) em viveiros revestidos com lona plástica e sob constante aeração, sistema de recirculação e tratamento completo da água após a despesca. Estas técnicas de manejo resultaram em níveis de produção em torno de 15 t/ha/ciclo (McINTOSH, 1999; BOYD e CLAY, 2002; BURFORD et al., 2003).

Nos últimos anos vêm-se desenvolvendo pesquisas em cultivos intensivos que combinam o tratamento de água com a reciclagem de alimento artificial não consumido, utilizando-se viveiros de suspensão ativa – *Active Suspension Ponds* (ASP) (AVNIMELECH et al., 1994; CHAMBERLAIN e HOPKINS, 1994; AVNIMELECH, 2003; BURFORD et al., 2003; AVNIMELECH, 2006) ou sistemas de cultivo sem renovação de água através de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica – *Zero Exchange, Aerobic, Heterotrophic Culture Systems* (ZEAH) (McINTOSH, 1999; McNEIL, 2000; CHAMBERLAIN et al., 2001c; MCGRAW, 2002; ERLER et al., 2005; WASIELESKY et al., 2006). Estes sistemas têm em comum a predominância de bactérias aeróbicas heterotróficas que colonizam partículas de resíduos orgânicos e absorvem o nitrogênio, fósforo e outros nutrientes da água (CHAMBERLAIN et al., 2001a).

3.4 Os Microrganismos e a Qualidade da Água

A qualidade da água e o controle de enfermidades são interdependentes e ligados às atividades microbianas dos sistemas aquícolas (ABRAHAM et al., 2004). Processos microbianos afetam os fatores de qualidade da água como oxigênio dissolvido, amônia (NH_3), nitrito (NO_2^-) e sulfeto (MORIARTY, 1997).

Em alguns estudos, a qualidade da água nos cultivos de camarão tem sido melhorada com a aplicação de produtos probióticos

autotróficas que, ao crescer, produzem biomassa que será consumida eventualmente pelas heterotróficas (MORIARTY, 1997; MCGRAW, 2002).

O manejo da qualidade da água é uma importante ferramenta para o sucesso dos sistemas de cultivo, pois tem influência direta na reprodução, crescimento e sobrevivência dos organismos aquáticos, especialmente em sistemas semi-intensivos e intensivos (CHIEN, 1992). As águas e efluentes de viveiros de camarão geralmente são ricos em sólidos suspensos, matéria orgânica e outros nutrientes, e a concentração destes elementos está estritamente ligada ao manejo adotado e ao sistema de cultivo (ALONSO-RODRIGUEZ e PAEZ-OSUNA, 2003).

Segundo Nunes e Parsons (1998), em viveiros de camarão de água estuarina, somente uma porção da matéria orgânica e dos nutrientes da ração aportada ao sistema (10 a 15% do carbono orgânico e 20 a 70% do nitrogênio e fósforo) é convertida em biomassa pelos camarões e removida durante a despesca. Em sistemas convencionais, apenas 20 a 30% do carbono, nitrogênio e fósforo, adicionados com a ração, são assimilados pelos camarões (CHAMBERLAIN et al., 2001a; JACKSON et al., 2003; THAKUR e LIN, 2003; AVNIMELECH, 2006).

A baixa assimilação dos nutrientes pode ser causada por uma inadequada formulação da ração, excessos de alimentação, baixa qualidade dos ingredientes ou pouca estabilidade da ração (BURFORD e WILLIAMS, 2001).

O alimento não consumido, as fezes e outros resíduos excretados, como a amônia, tornam-se disponíveis favorecendo o rápido crescimento do fitoplâncton e dos organismos heterotróficos (NUNES e PARSONS, 1998; TOOKWINAS e SONGSANGJINDA, 1999). A mineralização da matéria orgânica acumulada, em condições anaeróbicas, também leva à formação de produtos metabólicos tóxicos como a amônia e o nitrito, deteriorando a qualidade da água no ambiente de cultivo (AVNIMELECH e RITVO, 2003).

Um dos maiores problemas de qualidade da água em sistemas aquícolas intensivos é o acúmulo de formas tóxicas de nitrogênio inorgânico na água (AVNIMELECH, 1999). Animais aquáticos, assim como peixes e camarões, excretam amônia, que pode se acumular no viveiro. Mesmo em baixas concentrações, a amônia e o nitrito (NH_3 e NO_2^-) são altamente tóxicos para os camarões e, portanto, devem ser removidos do sistema (CHIEN, 1992; BOYD e TUCKER, 1998; GROSS et al., 2003).

Vários processos microbianos podem ser utilizados para reduzir os níveis de amônia nos ambientes de cultivo. Estes processos incluem a nitrificação, denitrificação, mineralização, fotossíntese e o crescimento de bactérias heterotróficas (BRUNE et al., 2003).

Os sistemas de cultivo tradicionais estão baseados na biossíntese das algas (sistema fotoautotrófico) para remover a maior parte do nitrogênio inorgânico (HOPKINS et al., 1996; AVNIMELECH et al., 1994; EBELING et al., 2006). A grande desvantagem deste sistema é a variação diurna de oxigênio dissolvido, pH e nitrogênio amoniacal e, a longo prazo, as constantes mortes e as mudanças nas densidades das algas (BURFORD et al., 2003).

Segundo Schroeder (1978), a produtividade das algas também é limitada pela intensidade de energia solar que incide na superfície dos viveiros e pelas concentrações de nitrogênio e fósforo. Populações de algas em viveiros sem manejo, normalmente fixam entre 2 e 3 g de carbono/m²/dia, enquanto que, em viveiros com elevada taxa de mistura, fixam de 10 a 12 g de carbono/m²/dia (BRUNE et al, 2003).

Os fungos, todos que são aeróbios, também são considerados eficientes em converter matéria orgânica em material celular, mas geralmente preferem condições mais ácidas que as encontradas nos viveiros (SCHROEDER, 1978).

Os microrganismos nitrificantes são responsáveis pela oxidação da amônia para nitrito e, subsequentemente, para nitrato (VERSCHUERE et al., 2000). Estes são principalmente autótrofos obrigatórios, que consomem dióxido de carbono como fonte primária de carbono, e aeróbios obrigatórios, pois requerem oxigênio para crescer (HAGOPIAN e RILEY, 1998).

A conversão biológica da amônia em nitrito é desenvolvida por bactérias que oxidam a amônia – *Ammonia Oxidizing Bacteria* (AOB), que incluem bactérias do gênero *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, e *Nitrosovibrio*; já a subsequente oxidação, do nitrito em nitrato, é realizada por bactérias que oxidam o nitrito – *Nitrite Oxidizing Bacteria* (NOB), que são do gênero *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina* (EBELING et al., 2006). Quanto ao nitrato, este pode ser convertido em gás nitrogênio através da ação de bactérias denitrificadoras e volatilizado para a atmosfera (BOYD e QUEIROZ, 2001). Segundo BOYD (2001), a denitrificação representa a forma de maior perda de nitrogênio dos viveiros.

Os principais fatores que influenciam na taxa de nitrificação são as concentrações de amônia e nitrito, a relação carbono/nitrogênio, o oxigênio dissolvido, o pH, a temperatura e a alcalinidade (EBELING et al., 2006). Ao contrário das algas, populações microbianas são mais estáveis e independem de condições luminosas (SCHROEDER, 1978; AVNIMELECH, 2006).

Estudos realizados em viveiros de camarão têm demonstrado resultados satisfatórios em termos de produção e eficiência de retenção do nitrogênio, através da adição de fontes de carbono orgânico e manutenção de um sistema constante de aeração e mistura, para estimular

o desenvolvimento de bactérias heterotróficas (AVNIMELECH, 1999; McINTOSH, 1999; HARI et al., 2004; ERLER et al., 2005).

Sistemas heterotróficos reduzem o risco de introdução e disseminação de doenças, inibem o crescimento de *Vibrio* spp. e outros grupos de bactérias potencialmente patogênicas, além de complementar a produtividade natural presente nos viveiros (McINTOSH et al. 2000; BROWDY et al., 2001a; MOSS et al., 2001; WASIELESKY et al., 2006).

A habilidade para o controle das concentrações de nitrogênio está na manipulação da relação entre a quantidade de carbono orgânico e nitrogênio inorgânico (C:N), e tem sido utilizada com frequência para indicar a qualidade dos substratos orgânicos de viveiros de aquicultura (AVNIMELECH, 1999). A importância da relação C:N do viveiro se deve ao fato da deficiência de qualquer nutriente exigido pelas bactérias heterotróficas poder limitar a taxa de decomposição da matéria orgânica e, com isso, o desenvolvimento e a formação dos flocos bacterianos.

Para aperfeiçoar a produção e, conseqüentemente, a retenção dos nutrientes na biomassa bacteriana, Burford et al. (2003) informam que a relação C:N deve situar-se acima de 10:1. Schneider et al. (2005) sugerem que a relação C:N requerida no substrato é de aproximadamente 15 g C/g N. Segundo Wasielesky et al. (2006), a relação C:N ideal para formação do floco microbiano, com predomínio de bactérias heterotróficas, deve situar-se entre 14 e 30:1. No entanto, misturas balanceadas de carbono e nitrogênio numa relação de 20:1 são, aparentemente, mais facilmente assimiladas (CHAMBERLAIN et al., 2001a).

Goldman et al. *apud* Jana et al. (2001) mostraram que a eficiência de crescimento das bactérias diminui com o incremento da relação C:N e C:P no substrato. Um crescimento balanceado de bactérias requer substratos com carbono, nitrogênio e fósforo em uma relação atômica de 106:12:1, embora algumas bactérias tenham capacidade de variar estes requerimentos (JANA et al., 2001).

A relação C:N na água está vinculada à disponibilidade e competição por carbono orgânico e amônia. Para uma alta relação C:N, bactérias heterotróficas competem com as autotróficas por oxigênio dissolvido e espaço. Quando há uma baixa relação C:N, as bactérias autotróficas são privilegiadas (MICHAUD et al., 2006). Portanto, informações sobre uma ótima relação C:N e N:P são pré-requisitos para se entender as atividades microbianas e para o desenvolvimento de um protocolo racional de fertilização de ambientes para cultivo de organismos aquáticos (JANA et al., 2001).

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental dessa dissertação é apresentada no artigo intitulado “**Molasses utilization in *Litopenaeus vannamei* culture with different carbon/nitrogen ratios**” (manuscrito), que se encontra anexado.

MANUSCRITO

**“MOLASSES UTILIZATION IN *Litopenaeus vannamei* CULTURE WITH
DIFFERENT CARBON/NITROGEN RATIOS”**

Manuscrito a ser submetido à revista
Aquaculture, ISSN 0044-8486.

**Molasses utilization in *Litopenaeus vannamei* culture
with different carbon/nitrogen ratios**

João Paulo Viana de Lima^{1*}, Fabiana Penalva de Melo¹, Daniel Rodrigues dos Santos¹,
Albino Luciani Gonçalves Leal¹, Eudes de Souza Correia^{1*}

¹ Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAq), Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq), Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brazil.

Abstract

This study investigated the effect of molasses addition in different C:N ratios on the water quality, microbial activity and *Litopenaeus vannamei* semi-intensive production, in experimental culture tanks with no water exchange. Four treatments and three replicates were adopted, where three treatments with daily molasses addition in 10, 20 and 30:1 C:N ratios, and one control with no carbon source addition. Twelve 500 L fiber glass tanks stocked with 25 shrimps.m⁻² (1.90±0.37 g) were used. Commercial shrimp pelleted ration (35% crude protein) was offered in feeding trays at 08:00 and 16:00. Phytoplankton, bacteria and water samples were collected fortnightly during the culture. The C:N ratios 30 and 20:1 showed lower (P<0.05) oxygen dissolved levels that is related with the major organic carbon supply in these ratios. Molasses addition resulted in lower (P<0.05) nitrogenous compounds levels, as nitrite and nitrate, as well in reduced cyanobacteria densities in 20 and 30:1 C:N ratios. No significant differences (P≥0.05) were found in *Vibrio* spp, autotrophic and heterotrophic bacterial densities. Shrimp final weight and weight gain in high C:N ratios (20 and 30:1) were higher (P<0.05) than the others treatments. Specific growth rate was high in all treatments (2.53 to 2.69 % day⁻¹), and the 20:1 ratio was higher than the control. Yield values ranged from 267.4 to 301.0 g m⁻² with no significant difference (P≥0.05) among the treatments. This study showed that the molasses can be used as carbon source in order to increase C:N ratio, improving the water quality and the *L. vannamei* culture performance with no water exchange.

Keywords: molasses, C:N ratio, shrimp culture, heterotrophic bacteria, water quality, *Litopenaeus vannamei*.

* Corresponding author. Tel.: +55 81 3320.6517; fax: +55 81 3320.6502.

E-mail address: joaopaulo_lima@hotmail.com (J.P.V. Lima); ecorreia@depaq.ufrpe.br (E.S. Correia)

1 Introduction

Shrimp farming is an important industry in tropical and subtropical areas around the world. The accelerated expansion of this activity, diseases outbreaks in addition to the direct discharge of waste nutrients from shrimp farms into adjacent waters have raised global concerns of environmental groups concerning the sustainability of shrimp farming (Naylor et al., 2000; Burford et al., 2003; Hari et al., 2006).

Discharges of untreated pond effluents represents an economic loss of costly nutrients, thereby reducing farm profitability (Smith et al., 2002). The development of managing strategies to reduce nutrient wastes in ponds appears as a key point toward the success of the activity (Jackson et al., 2003; Casillas-Hernández et al., 2006).

In conventional culture systems, only about 20 to 30% of the carbon, nitrogen and phosphorus in feeds are assimilated by shrimp (Chamberlain et al., 2001; Jackson et al., 2003; Thakur e Lin, 2003; Avnimelech, 2006). The remainder is dispersed in the pond as uneaten food, shrimp faeces or others excreted metabolic residues (Nunes e Parsons, 1998; Tookwinas e Songsangjinda, 1999).

The shrimp farm effluents contain living and dead particulate organic matter, dissolved organic matter, ammonia, nitrite, nitrate, phosphate, suspended soil particles and other substances that can be considered potential pollutants (Hargreaves, 1998; Páes-Osuna, 2001).

One of the major quality problems in intensive aquaculture systems is the accumulation of toxic inorganic nitrogen species in the water (Avnimelech, 1999). Aquatic animals, such as fish and shrimp, excrete ammonia, which may accumulate in the pond. Even in low levels, ammonia and nitrite (NH_3 and NO_2^-) are highly toxic for shrimps and therefore should be removed from the water (Chien, 1992; Boyd e Tucker, 1998; Gross et al., 2003).

The microbial community plays an important role in the nutrient dynamics of aquaculture systems production (Moriarty, 1997; Montoya e Velasco, 2000; Browdy et al., 2001; McGraw, 2002). Nitrification, denitrification, photosynthesis, mineralization or heterotrophic bacterial re-growth can be used to reduce ammonia levels in the conventional ponds (Brune et al., 2003).

Recent studies in shrimp ponds have demonstrated satisfactory results in terms of production and efficiency nitrogen retention, through the addition of organic carbon sources (sugar, molasses, etc.) and maintenance of a constant system of mixing and aeration, for stimulate the development of heterotrophic bacteria (Avnimelech, 1999; McIntosh, 1999; Hari et al., 2004; Erler et al., 2005).

Heterotrophic systems reduce the risk of introduction and spread of diseases, inhibiting the growth of potentially pathogenic bacteria, as *Vibrio* spp, besides complementing the natural productivity within ponds (McIntosh et al. 2000; Browdy et al., 2001; Moss et al., 2001; Wasielesky et al., 2006).

Molasses is a by-product of the sugar refinery process (Najafpour and Shan, 2003) and can be used in marine shrimp pond preparation (Talavera et al., 1998), acting as an alternative carbon source for aquaculture (Schneider et al., 2006; Samocha et al., 2007). It also contains mineral elements and vitamins that can be used to improve bacterial growth (Squiao and Aragão, 2004).

The ability to control inorganic nitrogen concentrations through the manipulation of the relationship between organic carbon and inorganic nitrogen (C:N) and it has been used frequently to indicate the quality of the organic substrate in ponds (Avnimelech, 1999). The importance of pond C:N ratio is due to the fact that the deficiency of any nutrient demanded by heterotrophic bacteria can limit the decomposition rate of the organic matter, the development and the formation of bacterial floc that are used as food by the shrimps.

To improve the flocs production, and consequently, the retention of the nutrients in the bacterial biomass, Burford et al. (2003) inform that the C:N ratio should be located above 10:1. Schneider et al. (2005) suggest that the C:N ratio requested in the substrate is of approximately 15 g C/g N. Wasielesky et al. (2006) affirm that the ideal C:N ratio for formation of the microbial flocs, with prevalence of heterotrophic bacteria, is between 14 and 30:1. However, balanced mixtures of carbon and nitrogen are more easily assimilated in 20:1 ratio (Chamberlain et al., 2001).

In the present study the effects of molasses in different C:N ratios on the water quality, microbial activity and production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), in experimental culture tanks with no water exchange were investigated..

2 Materials and methods

2.1 Site and experimental conditions

The experimental culture was carried out at Aquacultural Station of Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, during 70 days using twelve 0.5m³ fiber glass circular tanks, supplied with continuous aeration. Bottom tanks were recovered by a 5cm estuarine sediment layer previously treated with lime (100 g m⁻²) and the tanks were filled

with 400L salt water (30‰). Weekly water replacements were used to compensate evaporation losses.

Tanks were fertilized only before shrimp stocking, using monoammonium phosphate – MAP (11% N and 44% P₂O₅), calcium nitrate (15% N) and sodium silicate (30% SiO₂), to reach concentrations of 3-4 mg L⁻¹ nitrogen, 0.15-0.20 mg L⁻¹ phosphorous and 1-2 mg L⁻¹ silicium.

An entirely randomized design was adopted, consisting in molasses addition to reach C:N ratios of 10, 20 and 30:1 (RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀, respectively), and a control treatment (CTL) without molasses addition. All treatments were done in triplicate.

2.2 Molasses addition

The amount of molasses added to the culture tanks was calculated basing on carbon:nitrogen ratios (C/N) established, in the feed nitrogen quantity converted into ammonia (N) and in the molasses carbon content (%C), according to Eq. 1:

$$Molasses = [N \times (C/N)] \times \%C^{-1} \quad (1)$$

It can be assumed that the ammonia flux into water, directly by excretion or indirectly by microbial degradation of the organic N residues, is roughly 50% of the feed nitrogen flux (Avnimelech, 1999):

$$N = Q_{Feed} \times \%N_{Feed} \times \%N_{Excretion} \quad (2)$$

where, Q_{Feed} is the daily feed quantity supplied and $\%N_{Feed}$ is the feed nitrogen input ($\%Crude\ Protein \times 6.25^{-1}$).

The molasses quantity to be added in each experimental unit to attend the required C:N ratios in treatments was calculated using Eqs. (1) e (2):

$$Molasses = [(Q_{Feed} \times \%N_{Feed} \times \%N_{Excretion}) \times (C/N)] \times \%C^{-1} \quad (3)$$

Molasses used contained 25% of carbon in relation to raw material. Thus, assuming 35% protein feed pellets (5.6% N) and that 50% of the feed nitrogen are excreted ($\%N_{Excretion}$), we get:

$$Molasses = [(Q_{Feed} \times 0.056 \times 0.5) \times (C/N)] \times 0.25^{-1} = Q_{Feed} \times 0.112 \times (C/N) \quad (4)$$

The described equations were adapted from the studies accomplished by Avnimelech (1999), Hari et al. (2004, 2006) and Ebeling et al. (2006). Molasses was added at noon daily to the cultivation tanks, diluted in water and spread in the experimental units.

2.3 Animals, feed management and production evaluation

Twenty *L. vannamei* shrimps (1.90 ± 0.37 g) were randomly stocked per tank (~ 25 shrimps $\cdot m^{-2}$) and submitted to fortnightly measurements. Shrimps were fed a commercial diet (Cameronina35™, 35%-crude protein, Agribrands Purina do Brasil), offered *ad libitum* in feeding trays twice a day (8 and 16 hrs.). The uneaten feed was daily collected and stored under refrigeration to posterior dry weight quantifying. Shrimp production performance was evaluated through final weight (W_f), weight gain (WG), survival ($S\%$), final biomass (B_f), biomass gain (BG), consumed feed (C_{feed}), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER) and shrimp yield (Y).

2.4 Water quality analysis

Water temperature, dissolved oxygen (YSI Incorporation, YSI-550A oxymeter) and pH (Homis, 1002PH digital pHmeter) were daily measured (7 and 16 hrs), while Secchi transparency and salinity (Atago, S-10E refractometer) were weekly measured. Fortnightly water samples were collected to nitrite (Bendochneider and Robinson (1952) *apud* Golterman et al., 1978), nitrate (Mackereth et al., 1978), total ammonia (Koroleff, 1976), alkalinity (Felfödy et al., 1987), α -chlorophyll (Nusch, 1988), silicate (Golterman et al., 1978), total phosphorous, inorganic phosphate, total suspended solids (TSS) and chemical oxygen demand (COD) determinations, according to APHA (1995). At the ending of experiment, it was also determinate organic matter level in sediment (EMBRAPA, 1997) and 5-days biochemical oxygen demand ($cBOD_5$) (APHA, 1995).

2.5 Bacteriological and phytoplankton analysis

Water samples to phytoplankton analysis were taken every two weeks. Two-liters samples were filtered on plankton net ($25\mu m$) and concentrated in 100 mL, to which was added 4% of 1%-borax neutralized formaldehyde for organisms preservation. The phytoplankton qualitative and quantitative (cells.mL⁻¹) analysis were done through Newell and Newell (1963) direct counting method, using 1-mL of sub samples and optical microscope.

Fortnightly water samples were taken for autotrophic, heterotrophic and *Vibrio* spp. population density (CFU mL⁻¹) evaluation. Autotrophic and heterotrophic bacteria were counted by depth and surface sowing techniques (respectively), according to Oliveira (2003). *Vibrio* were analyzed according to Silva (1997) and identified according to FDA (1998).

2.6 Statistical analysis of results

A one-way analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the effects of molasses addition in different C:N ratios, complemented by Duncan's test at 5% probability level. Survival and phytoplankton and bacteria population density data were $\arcsen x^{0.5}$ and $\log x$ transformed, respectively. When variance heterogeneity persisted, the Friedman non-parametric analysis of variance was applied.

The statistical analysis agrees with Zar (1996) and Mendes (1999). Calculation was helped by *STATISTICA* v. 6.0 and *SysEAPRO* v. 1.0.

3 Results and Discussion

3.1 Water Quality

Water quality and sediment data are synthesized in Table 1. It was not observed significant difference ($P \geq 0.05$) on water temperature, salinity and pH among treatments.

During the experimental period, the mean water temperature was 28.3 ± 1.45 °C, ranging from 25.2 to 31.8°C. The temperature amplitude observed was near to ideal for *L. vannamei* of 22 – 32°C (Pillay, 1990) or 26 – 33°C (Nunes, 2002).

The minimal (24‰) and maximum (35‰) salinities indicates a slight high variation. However, the mean salinity (28.3 ± 2.52 ‰) was adequate for culture of this species. Being a euryhaline species, *L. vannamei* support a high salinity variation (0 to 50‰), but the ideal salinity for culture is 15 – 25‰ (Arana, 2004; Li et al., 2007). According to LeMoullac (2000), the salinity has relatively little effect on metabolic rate of euryhaline shrimps, what indicate a low energy requirement to osmotic regulation. In low salinities, *L. vannamei* is more sensitive to ammonium (Lin and Chen, 2001) and utilize protein as amino acids source to keep osmotic pressure and growth (Rosas et al., 2001).

The mean pH was 8.1 ± 0.15 among treatments, ranging of 7.14 to 8.73. The ideal pH for shrimp culture varies from 6 to 9 (Boyd, 2001) or 7.5 to 8.5 (Chien, 1992). pH values below 7 damages *L. vannamei* growth in heterotrophic system (Wasielesky et al., 2006) and above 9 induces water quality alterations, increasing alkalinity and ammonium toxicity (Avault Jr., 1996).

The reduced pH fluctuation can be attributed to adequate alkalinity levels (>100 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), what means an excellent capacity of acid-basic equilibrium in the culture water.

According to Wasielesky et al. (2006), alkalinity helps to maintain pH, besides be an important calcium source for shrimp ecdysis. In aquaculture, the alkalinity should not be inferior to 20 mg CaCO₃ L⁻¹ due to phosphorous insolubility (Wurts, 2002); should be between 75 and 150 mg CaCO₃ L⁻¹ for shrimps (Boyd, 2001), and between 100 and 140 mg CaCO₃ L⁻¹ for *L. vannamei*, specifically (Clifford, 1994). The alkalinity levels were slightly increased throughout culture (Figure 1A), and significantly ($P<0.05$) affected by molasses addition on C:N ratios used (Table 1).

The concentration of total suspended solids (TSS) (0.128 to 0.152 g L⁻¹) varied similarly among treatments throughout culture (Figure 1B), and it was not influenced ($P\geq 0.05$) by molasses addition. However, the concentration of α -chlorophyll were strongly influenced ($P<0.05$) by molasses addition, responding inversely to C:N ratios, with lower concentrations in RM₃₀ (0.162 mg L⁻¹) and RM₂₀ (0.286 mg L⁻¹) (Figure 1C). Probably the heterotrophic tendency observed in treatments RM₂₀ and RM₃₀ should have inhibit the autotrophic development and consequently reduced the α -chlorophyll levels. According to Boyd (2001), productive ponds frequently show α -chlorophyll concentrations from 0.05 to 0.2 mg L⁻¹. Clifford (1994) reported that adequate α -chlorophyll and TSS levels to *L. vannamei* ranging from 0.05 to 0.075 mg L⁻¹ and 0.05 to 0.15 g L⁻¹, respectively. Erler et al. (2005) and Hari et al. (2006) did not observe statistical difference in α -chlorophyll due to organic carbon sources addition. The mean concentration of α -chlorophyll in tanks (Table 1) was superior to that obtained by Matias et al. (2002) (0.09 to 0.12 mg.L⁻¹) and compatible to Burford et al. (2003) (0.13 to 0.44 mg.L⁻¹).

Based on Secchi disk data, it was observed statistical difference ($P<0.05$) among treatments related to water visibility. The mean visibility varied from 13.27 to 16.03 cm, with lower values in CTL and RM₂₀, when related to RM₃₀. Correlating visibility with α -chlorophyll and TSS concentrations, it was observed that visibility values were mainly elapsed to α -chlorophyll concentration, due to equality in TSS among treatments.

The mean concentrations of dissolved oxygen (OD) were maintained above 4.0 mg L⁻¹ what, according to Chien (1992) and Boyd (1997), could be considerate adequate to shrimp culture. The reduced amplitude (~3.6 mg O₂ L⁻¹) observed in experimental tanks results of constant aeration system, which differ values for production ponds reported by Tookwinas and Songsangjinda (1999) (~10 mg O₂ L⁻¹) and Matias et al. (2002) (~9 mg O₂ L⁻¹). However, it was statistical difference ($P<0.05$) among treatments, where RM₃₀ and RM₂₀ showed the

lowest OD levels (4.64 and 4.76 mg L⁻¹, respectively), what could be related to bigger organic carbon supply in these treatments.

Table 1. Physicochemical water quality variables and organic matter on sediment in *Litopenaeus vannamei* experimental tanks, over a 70-day semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) with daily sugar cane molasses addition in different carbon:nitrogen ratios [C/N] and no water exchange.

Parameter	Treatment*			
	CTL	RM ₁₀	RM ₂₀	RM ₃₀
Temperature (°C) ^A	28.4 ^a ± 1.43	28.0 ^a ± 1.39	28.5 ^a ± 1.48	28.4 ^a ± 1.48
pH ^A	8.2 ^a ± 0.19	8.1 ^a ± 0.14	8.0 ^a ± 0.14	8.0 ^a ± 0.14
Dissolved Oxygen (mg L ⁻¹) ^A	4.97 ^a ± 0.78	4.99 ^a ± 0.81	4.76 ^b ± 0.8	4.64 ^b ± 0.81
Salinity (‰) ^B	27.9 ^a ± 2.62	28.4 ^a ± 2.43	29.2 ^a ± 2.38	27.9 ^a ± 2.66
Secchi Disk Visibility (cm) ^B	13.27 ^b ± 3.93	14.57 ^{ab} ± 4.55	13.37 ^b ± 3.54	16.03 ^a ± 3.65
Total Ammonia Nitrogen – TAN (mg L ⁻¹) ^C	0.102 ^a ± 0.18	0.250 ^a ± 0.27	0.152 ^a ± 0.15	0.289 ^a ± 0.23
Nitrite-N (mg L ⁻¹) ^C	0.037 ^a ±0.035	0.035 ^a ±0.034	0.001 ^b ±0.002	0.007 ^b ±0.019
Nitrate-N (mg L ⁻¹) ^C	0.884 ^a ± 0.66	0.456 ^b ± 0.55	0.048 ^c ± 0.10	0.180 ^{bc} ± 0.42
Total phosphorus (mg L ⁻¹) ^C	0.454 ^a ± 0.17	0.474 ^a ± 0.17	0.397 ^{ab} ± 0.11	0.335 ^b ± 0.13
Inorganic phosphate (mg L ⁻¹) ^C	0.006 ^a ±0.006	0.007 ^a ±0.006	0.002 ^b ±0.002	0.004 ^{ab} ±0.003
Alkalinity (mg CaCO ₃ L ⁻¹) ^C	143.4 ^b ± 21.5	163.1 ^{ab} ± 31.3	157.7 ^{ab} ± 31.3	178.9 ^a ± 42.1
Chlorophyll-a (mg L ⁻¹) ^C	0.335 ^a ± 0.23	0.318 ^a ± 0.24	0.286 ^{ab} ± 0.26	0.162 ^b ± 0.13
Silicate (mg L ⁻¹) ^C	0.334 ^a ± 0.25	0.343 ^a ± 0.29	0.265 ^a ± 0.15	0.315 ^a ± 0.24
Total Suspended Solids – TSS (g L ⁻¹) ^C	0.146 ^a ±0.067	0.128 ^a ±0.055	0.143 ^a ±0.064	0.152 ^a ±0.086
COD (mg O ₂ L ⁻¹) ^C	1,123 ^a ± 333.8	1,200 ^a ± 257.5	1,177 ^a ± 267.3	1,175 ^a ± 344.0
cBOD ₅ (mg O ₂ L ⁻¹) ^D	132.7 ^b ± 118.7	167.3 ^{ab} ± 44.1	282.0 ^a ± 10.4	221.3 ^{ab} ± 53.7
Organic Matter (sediment) (g kg ⁻¹) ^D	4.77 ^a ± 2.0	5.06 ^a ± 0.95	4.54 ^a ± 1.15	7.01 ^a ± 0.98

*Values are given as averages ± standard deviation. Different superscript letters (^{a,b,c}) in the same line denote significant difference (P<0.05) between the treatments by Duncan's test. ^{A,B,C}Daily, Weekly and Fortnightly measured parameter, respectively. ^DMeasured parameters at the end of the culture. cBOD₅ – 5-day Carbonaceous Biochemical Oxygen Demand and COD – Chemical Oxygen Demand CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively.

The molasses addition in different C:N ratios significantly interfered (P<0.05) on 5-days biochemical oxygen demand (cBOD₅), ranging from 132.6 to 282 mg O₂ L⁻¹ among

treatments. The highest cBOD₅ levels were observed in 20:1 and 30:1 C:N ratios, what corroborate with OD concentrations verified in these treatments. It was observed a small elevation on Chemical Oxygen Demand (COD) throughout culture in all treatments (Figure 1D). The mean COD was $1,168.7 \pm 298.0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, without statistical difference ($P \geq 0.05$) among treatments. The cBOD₅ and COD values registered during experimental period were superior to that reported by Hari et al. (2004): 1.6 to 2.0 mg O₂ L⁻¹ and 384.5 to 386.0 mg O₂ L⁻¹, respectively. Matias et al. (2002), using probiotics and molasses in *Penaeus monodon* culture, reported 16.54 to 22.3 mg O₂ L⁻¹ for cBOD₅ and 852.2 to 870.3 mg O₂ L⁻¹ for COD, and Samocha et al. (2007), rearing *L. vannamei* using different molasses quantities and 30%-CP feed, did not observe significant difference in cBOD₅ (7.4 to 9.7 mg O₂ L⁻¹) and COD (1,359 to 1,495 mg O₂ L⁻¹).

The molasses addition reduced ($P < 0.05$) nitrite and nitrate concentrations throughout culture (Figures 1E and 1F). The molasses acted in opposite way to C:N ratio; for higher ratios (RM₂₀ and RM₃₀) it was observed lower concentrations of these nitrogen compounds. The mean nitrite and nitrate concentrations ranging from 0.007 to 0.037 mg L⁻¹ and 0.05 to 0.88 mg L⁻¹, respectively. The total ammonia nitrogen – TAN (NH₃ + NH₄⁺) was in undetectable levels until 28th culture day and it varied in a so similar way among treatments (Figure 1G). Analyzing mean TAN concentrations, it was not observed significant difference ($P \geq 0.05$) due to molasses addition in different C:N ratios. However, at the end of culture, RM₂₀ showed the lowest TAN concentration (0.01 mg L⁻¹), which statistically differ ($P < 0.05$) of RM₁₀ (0.52 mg L⁻¹). Barbieri and Ostrensky (2002) recommend nitrite concentration below of 0.5 mg L⁻¹, nitrate between 0.4 and 0.8 mg L⁻¹ and TAN between 0.1 and 1.0 mg L⁻¹. Chien (1992) indicate maximum of 0.1 and 1.0 mg L⁻¹ for unionized ammonia (NH₃) and nitrite, respectively.

The evolution of others chemical water quality parameters (total phosphorous, inorganic phosphate and silicate) is showed in Figures 1H, 1I and 1J. Total phosphorous (0.335 to 0.474 mg L⁻¹) and inorganic phosphate (0.002 to 0.007 mg L⁻¹) statistically differed ($P < 0.05$) among treatments, with lowest concentrations in 20:1 and 30:1 C:N ratios. The molasses addition in different C:N ratios did not interfere ($P \geq 0.05$) in silicate levels ($0.314 \pm 0.23 \text{ mg L}^{-1}$). The sediment organic matter ranged from 4.54 to 7.01 g kg⁻¹. The RM₃₀ treatment showed the highest organic matter level, but without significant difference ($P \geq 0.05$) among treatments.

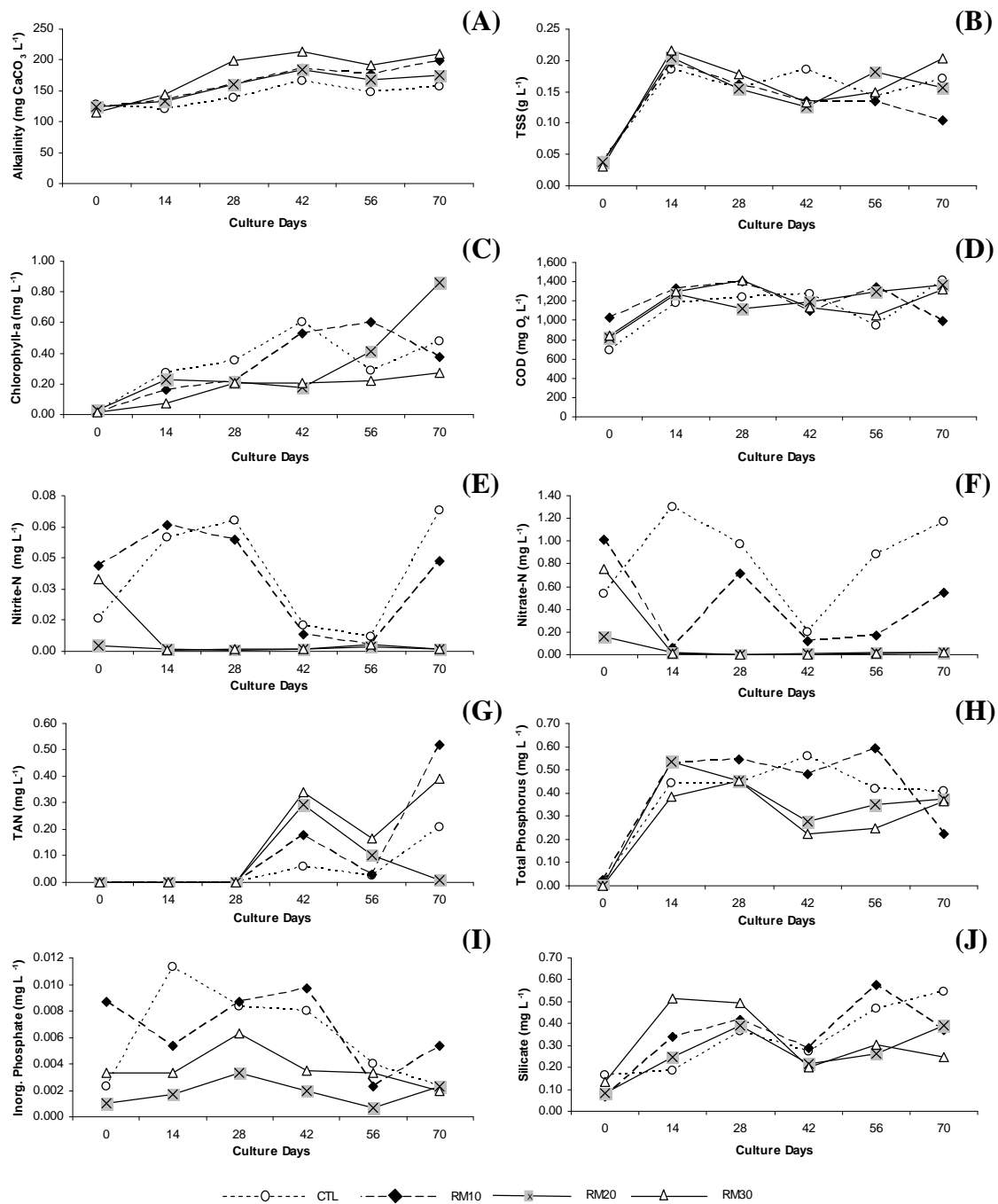


Figure 1. The effects of sugar cane molasses addition in different C/N ratios on the water quality parameters alkalinity (A), total suspended solids – TSS (B), chlorophyll-a (C), chemical oxygen demand – COD (D), nitrite-N (E), nitrate-N (F), total ammonia nitrogen – TAN (G), total phosphorus (H), inorganic phosphate (I) and silicate (J), over a 70-day *Litopenaeus vannamei* semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in experimental tanks with no water exchange. CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively.

3.2 Phytoplankton and bacteria

The mean phytoplankton density in CTL, RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀ treatments was 1,109, 1,036, 330 and 239 cell.mL⁻¹, respectively, without significant difference ($P \geq 0.05$) among them. In general, the phytoplankton was represented by Bacillariophyceae (diatoms), Chlorophyceae (chlorophyceans), Cyanophyceae (cyanobacteria) and Dinophyceae (dinoflagellates) (Table 2 and Figure 2).

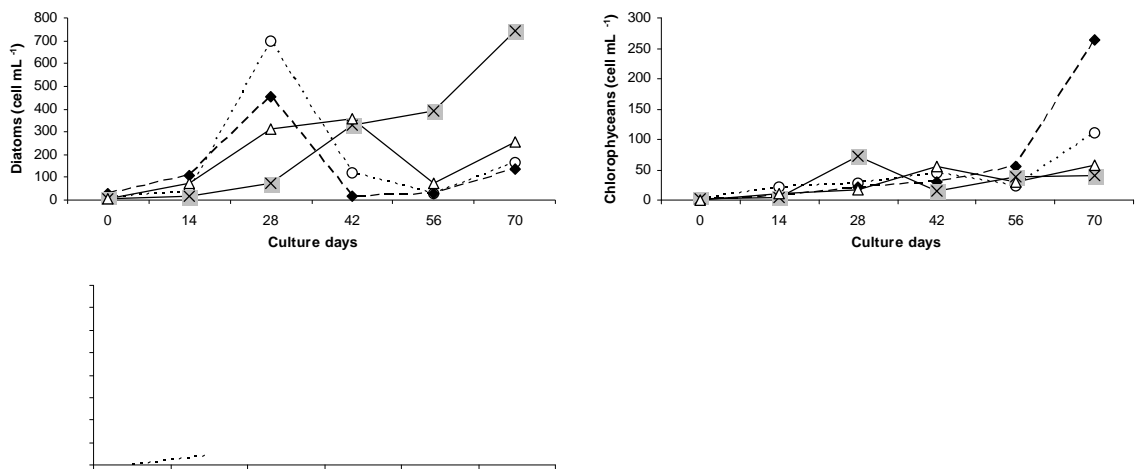
Bacillariophyceae class predominated ($P < 0.05$) in higher C:N ratios (RM₂₀ and RM₃₀), corresponding to 79 and 75%, respectively, of phytoplanktonic organisms. For lower C:N ratios (RM₁₀ and CTL), the predominant organisms ($P < 0.05$) were Cyanophyceae, with 81 and 80%, respectively. Chlorophyceae (~7.5%) and Dinophyceae (<1.0%) classes had few representation in all treatments.

Table 2. Phytoplankton and bacterial densities in *Litopenaeus vannamei* experimental culture tanks with daily sugar cane molasses addition in different C/N ratios and no water exchange.

Organism	Treatments*			
	CTL	RM ₁₀	RM ₂₀	RM ₃₀
Phytoplankton (cells mL⁻¹)				
<i>Diatoms</i>	177.0 ^a ± 325.5 (6.75–1,343)	128.5 ^a ± 249.7 (4.75–1,067)	260.3 ^a ± 325.0 (0.0–1,117)	180.4 ^a ± 187.1 (6.50–603.5)
<i>Chlorophyceans</i>	38.15 ^a ± 71.6 (0.50–301.8)	63.0 ^a ± 133.8 (0.0–575.8)	28.22 ^a ± 43.9 (0.0–183.3)	28.17 ^a ± 34.6 (0.0–108.8)
<i>Cyanobacteria</i>	892.8 ^a ± 1,302.3 (0.50–4,089)	841.6 ^a ± 1,681.6 (1.50–6,556)	40.7 ^b ± 112.7 (0.0–475.0)	30.7 ^b ± 65.6 (0.75–252.0)
<i>Dinoflagellates</i>	0.85 ^a ± 3.18 (0.00–13.5)	2.68 ^a ± 10.26 (0.00–43.75)	0.47 ^a ± 0.94 (0.0–3.0)	0.14 ^a ± 0.27 (0.00–0.75)
Bacteria (CFU)				
<i>Vibrio</i> spp. (x 10 ² mL ⁻¹)	1.51 ^a ± 3.14 (0.0–11.0)	1.47 ^a ± 3.96 (0.0–16.0)	1.09 ^a ± 2.86 (0.0–12.0)	1.13 ^a ± 2.05 (0.0–7.1)
HET (x 10 ⁵ mL ⁻¹)	174.9 ^a ± 434.8 (0.003–1,800)	440.6 ^a ± 858.7 (0.003–2,900)	70.3 ^a ± 125.5 (0.001–400.0)	170.9 ^a ± 371.1 (0.003–1,500)
AUTO (x 10 ⁴ mL ⁻¹)	2.08 ^a ± 3.93 (0.0–12.0)	8.76 ^a ± 28.07 (0.0–120.0)	4.15 ^a ± 5.15 (0.0–16.0)	1.60 ^a ± 2.37 (0.0–8.5)

*Values are given as averages ± standard deviation, minimum and maximum in parenthesis. Different superscript letters (^{a,b,c}) in the same line denote significant difference ($P < 0.05$) between the treatments by Duncan's test. CFU – Colony Forming Units. AUTO – Autotrophic Bacteria and HET – Heterotrophic Bacteria. CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively.

The molasses addition significantly interfered ($P < 0.05$) in cyanobacteria density during culture (Figure 2C), ranging from 30.7 to 892.8 cell.mL⁻¹. The lower densities (30.7 and 40.7 cell.mL⁻¹) were observed in 30:1 and 20:1 C:N ratios, respectively. Diatoms (128.5 to 260.3 cell.mL⁻¹), chlorophyceans (28.2 to 63.0 cell.mL⁻¹) and dinoflagellates (0.14 to 2.68 cell.mL⁻¹) did not show statistical difference ($P \geq 0.05$) among treatments. Nunes (2001) recommends minimal densities of 50,000 cell.mL⁻¹ and 20,000 cell.mL⁻¹ for diatoms and chlorophyceans (respectively) and maximum of 40,000 cell.mL⁻¹ for cyanobacteria.



density of autotrophic bacteria ranging from 1.60 to 8.76 CFU x 10⁴ mL⁻¹, while the heterotrophic one ranging from 70.3 to 440.6 CFU x 10⁵ mL⁻¹ (Table 2). The heterotrophic bacteria density was superior ($P < 0.05$) than autotrophic one. According to Ebeling et al. (2006), heterotrophic bacteria use organic carbon sources more efficiently and grow up fivefold faster than autotrophic bacteria.

The heterotrophic and autotrophic bacteria development happened in an analogous way among treatments, showing slow growth until 42nd day, with maximum densities below to 25.0 CFU x 10⁵ mL⁻¹ and 5.0 CFU x 10⁴ mL⁻¹, respectively (Figures 3A and 3B). Concomitantly, TAN concentrations were in non-detectable levels (Figure 1G). The reduction on TAN and nitrite levels, observed at 56th culture day, is directly related to significant enhance in bacterial densities in this period (Figure 1 and Figure 3). The TAN was mobilized to new bacterial cells synthesis (Hari et al., 2004) and the nitrite has harmful action on bacteria.

According to Mendes et al. (2005), *Vibrio* are the most important bacteria in shrimp culture and physiologically are presented in shrimp midgut; however, when in imbalance, could cause diseases with high mortality. The *Vibrio* mean density ranged from 1.09±2.86 to 1.51±3.14 CFU x 10² mL⁻¹ and, even without statistical difference ($P \geq 0.05$) among treatments, the lower values were observed in higher C:N ratios (RM₂₀ and RM₃₀) (Table 2). Along culture, it was identified six *Vibrio* specie: *Vibrio carchariae*, *V. proteolyticus*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. metchnikovii* and *V. nereis*.

The *Vibrio* development was so irregular in CTL, RM₁₀ and RM₂₀, showing two density peaks along culture (14th and 42nd days) (Figure 3C). It demonstrates an apparent correlation with phytoplankton development (Figure 2), once algal bloom exactly occurred between *Vibrio* density peaks (28th day).

The process of community succession occurs over time within shrimp ponds in response to the increasing organic load and maturity of the ecosystem (Chamberlain et al., 2001). Analyzing density data (Table 2) and phytoplanktonic and bacterial communities evolution along culture (Figures 2 and 3), can be observed that, at the end of culture, the environment tended to favour heterotrophic bacteria. However, in the experimental tanks was not observed a real heterotrophic system. According to Burford et al. (2003), to characterize a heterotrophic system, the carbon supply should exceed primary production.



and RM₂₀ was higher ($P<0.05$) than CTL (2.53 % day⁻¹). Hari et al. (2006) observed higher shrimps SGR and weight gain in extensive ponds with carbohydrate addition.

Shrimps final weight was significantly higher ($P<0.05$) in high C:N ratios (20:1 and 30:1) treatments, resulting in different ($P<0.05$) weight gain in these treatments during the culture. Final mean weights of CTL, RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀ treatments were 11.56, 11.66, 12.25 and 12.27 g, respectively. Relating to final biomass and biomass gain, it was not observed significant difference ($P\geq 0.05$) among treatments. The shrimp biomass ranged from 213.9 to 240.8 g, with mean gain of 189.7 ± 16.2 g related to initial biomass (Table 3).

Table 3. Yield performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* over a 70-day semi-intensive culture (~25 shrimps m⁻²) in zero water exchange experimental tanks with daily sugar cane molasses addition in different carbon: nitrogen ratios [C/N].

Yield variables	Treatment*			
	CTL	RM ₁₀	RM ₂₀	RM ₃₀
Initial weight [Wi] (g)	1.97 ^a ± 0.36	1.85 ^a ± 0.38	1.86 ^a ± 0.35	1.92 ^a ± 0.38
Final weight [Wf] (g)	11.56 ^b ± 1.50	11.66 ^{ab} ± 1.48	12.25 ^a ± 1.49	12.27 ^a ± 1.61
Weight gain [WG] (g)	9.59 ^b ± 0.14	9.82 ^{ab} ± 0.57	10.39 ^a ± 0.22	10.35 ^a ± 0.23
Survival (S%)	100.0 ^a ± 0.0	91.7 ^a ± 7.6	98.3 ^a ± 2.9	91.7 ^a ± 7.6
Final biomass [Bf] (g)	231.2 ^a ± 3.2	213.9 ^a ± 22.8	240.8 ^a ± 5.9	224.7 ^a ± 15.1
Biomass gain [BG] (g)	191.7 ^a ± 2.8	177.0 ^a ± 25.1	203.6 ^a ± 5.7	186.4 ^a ± 14.9
SGR (% dia ⁻¹)	2.53 ^b ± 0.06	2.63 ^{ab} ± 0.13	2.69 ^a ± 0.02	2.65 ^{ab} ± 0.03
FCR	1.35 ^a ± 0.12	1.45 ^a ± 0.10	1.41 ^a ± 0.07	1.51 ^a ± 0.14
PER	1.90 ^a ± 0.16	1.76 ^a ± 0.12	1.81 ^a ± 0.09	1.70 ^a ± 0.16
Shrimp yield [Y] (g m ⁻²)	289.0 ^a ± 4.0	267.4 ^a ± 28.5	301.0 ^a ± 7.3	280.9 ^a ± 18.9

*Values are given as averages ± standard deviation. Different superscript letters in the same line denote significant difference ($P<0.05$) between the treatments by Duncan's Test. $WG = Wf - Wi$; $S\% = 100 \times (N \times n^{-1})$, n – initial shrimp number per tank and N – final shrimp number per tank; $BG = Bf - (Wi \times n)$; $SGR = 100 \times (\ln Wf - \ln Wi) \times T^{-1}$, SGR – Specific Growth Rate and T – culture period at days (70 days); $FCR = C_{feed} \times BG^{-1}$, FCR – Feed Conversion Ratio; $PER = BG \times (C_{feed} \times CP)^{-1}$ and $[C_{feed}]$ – Consumed Feed (dry matter), PER – Protein Efficiency Ratio and CP – crude protein in dry matter feed, $Y = Bf \times A^{-1}$, A – Bottom area of culture tank (0.8 m²). CTL (control): with no molasses addition; RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀: C/N ratios in 10, 20 and 30:1, respectively.

The mean FCR was 1.35, 1.45, 1.41 and 1.51 for CTL, RM₁₀, RM₂₀ and RM₃₀ respectively, without statistic differences ($P\geq 0.05$) among them. According to Barbieri and Ostrensky (2002), FCR values between 0.9 and 1.5 are satisfactory, and could vary in

function of the stocking density. Boyd (1997) reports that shrimps farms generally obtain FCR between 2.0 and 2.4. The PER ranged from 1.70 to 1.90 and it was not significantly influenced ($P \geq 0.05$) by molasses addition.

In this work, shrimp yield values did not show significant difference ($P \geq 0.05$), ranging from 267.4 to 301.0 g m⁻² among treatments. Hari et al. (2006), testing carbohydrate addition (tapioca flour) in extensive *Penaeus monodon* culture, obtained production of 160 g m⁻², FCR of 1.1 and PER of 3.6. Martinez-Cordova et al. (2003) obtained shrimp yield ranging from 219.17 to 261.50 g m⁻², in 112-days period, stocking density of 16.6 shrimps m⁻² and without aeration. McIntosh et al. (2001), using aeration and stocking density of 40 shrimps m⁻², obtained values of 441 and 540 g m⁻² in a 94-days period.

Erler et al. (2005) demonstrated that carbon addition in molasses way could improve growth and FCR of *P. monodon* in no water exchange culture system. Samocha et al. (2007), rearing *L. vannamei* in limited water exchange tanks, did not observe significant effect on water quality and shrimp performance, when fed low protein diet and different molasses addition levels.

4 Conclusion

This study demonstrated that sugar cane molasses can be used as a carbon source to adjust carbon:nitrogen ratios in shrimp culture with no water exchange. The C:N ratios in 20 and 30:1 showed a good efficiency in the water quality control, reducing the nitrogen compounds levels (ammonia and nitrite) and inhibiting the development of undesirables microorganisms in the culture, besides to improve *Litopenaeus vannamei* culture performance. However production systems based on organic carbon source addition demand a higher dissolved oxygen quantity and consequently requiring an adequate aeration system.

5 Acknowledgements

We thank to *Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP/RECARCINE)* and *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)*, for financial support. We also thank to *Aquacultural Station of Universidade Federal Rural de Pernambuco (DEPAq/UFRPE)*, to shrimp farms *Miramar* and *Aquacultura Campo Novo*, also to *Laboratório de Limnologia (DEPAq/UFRPE)* and *Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (DMV/UFRPE)*, for all support during accomplishment of this research.

6 References

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

Arana, L. V., 2004. Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. UFSC Publisher, Florianópolis, SC, Brazil. 231 pp.

Avault, J.W. Jr., 1996. Fundamentals of aquaculture: a step-by-step guide to commercial aquaculture. AVA Publishing Company Inc, Baton Rouge, LA, 889 pp.

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

Avnimelech, Y., 2006. Bio-filters: The need for an new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34, 172-178.

Barbieri, R. C. J.; Ostrensky, A. N., 2002. Camarões marinhos – engorda. Aprenda Fácil, Viçosa, MG, Brazil. 325 pp.

Boyd, C. E., 1997. Pond bottom soil and water quality management for pond aquaculture. Alabama, USA, 55 pp.

Boyd, C. E., TUCKER, C. S., 1998. Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA.

Boyd, C.E., 2001. Manejo da qualidade de água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho. Tradução Josemar Rodrigues. Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), Recife, PE, 157 pp.

Browdy, C. L.; Bratvold, D.; Hopkins, J. S.; Stokes, A. D.; Sandifer, P. A., 2001. Emerging technologies for mitigation of environmental impacts associated with shrimp aquaculture pond effluents. *Asian Fisheries Science* 14, 255-267.

Brune, D. E.; Schwartz, G.; Eversole, A. G.; Collier, J. A.; Schwedler, T. E., 2003. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. *Aquacultural Engineering* 28, 65-86.

Burford, M. A.; Thompson, P. J.; McIntosh, R. P.; Bauman, R. H.; Pearson, D. C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393-411.

Casillas-Hernández, R.; Magallón-Barajas, F.; Portillo-Clarck, G.; Páez-Osuna, F., 2006. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. *Aquaculture* 258, 289-298.

Chaberlain, G.; Avnimelech, Y.; McIntosh, R. P.; Velasco, M., 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N - I: Nutrient transformation and water quality benefits. *Global Aquaculture Advocate* 4 (2), 53-56.

Chien, Y. H., 1992. Water quality requirements and management for marine shrimp culture. In: Wyban, J. (Ed.), *Proceedings of the special session on shrimp farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 144-156.

Clifford, H. C., 1994. Semi-Intensive sensation. A case study in marine shrimp pond management. *World Aquaculture* 25, 6-12 / 98-104.

Ebeling, J. M. Timmons, M. B. Bisogni, J. J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346-358.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 1997. *Manual de métodos de análise de solo*. 2nd ed., Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS), Rio de Janeiro, 212 pp.

Erler, D.; Songsangjinda, P.; Keawtawee, T.; Chaiyakum, K., 2005. Preliminary investigation into the effect of carbon addition on growth, water quality and nutrient dynamics in zero-exchange shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Asian Fisheries Science* 18, 195-204.

Felföldy, L.; Szabo, E.; Toth, L., 1987. *A biológiai vizminőség*. Budapest: Vizügyi Hidrobiológia Vizdok 160, 258 pp.

FDA (Food and Drug Administration), 1998. *Bacteriological analytical manual*. 8th ed., revision A. c.9, AOAC International, Gaithersburg.

Golterman, H.J.; Clymo, R.S.; Ohnstad, M.A.M., 1978. *Methods for physical and chemical analysis of freshwaters*. Blackwell Sci. Pub., London, 214 pp.

Gross, A.; Nemirovsky, A.; Zilberg, D.; Khaimov, A.; Brenner, A.; Snir, E.; Ronen, Z.; Nejdat, A., 2003. Soil nitrifying enrichments as biofilter starters in intensive recirculating saline water aquaculture. *Aquaculture* 223, 51-62.

Hari, B.; Kurup, B. M.; Varghese, J. T.; Schrama, J. W.; Verdegem, M. C. J., 2004. Effects of carbohydrate addition on production in intensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 241, 197-194.

Hari, B.; Kurup, B. M.; Varghese, J. T.; Schrama, J. W.; Verdegem, M.C. J., 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 252, 248-263.

Hargreaves, J. A., 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166, 181-212.

Jackson, C.; Preston, N.; Thompson, P. J.; Burford, M., 2003. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* 218, 397-411.

Koroleff, F., 1976. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie Weinheinp, pp. 117-187.

LeMoullac, G., 2000. Environmental factors affect immune response and resistance in crustaceans. *Global Aquaculture Advocate* 3 (6), 18-19.

Li, E.; Chen, L. Zeng, C.; Chen, X.; Yu, N.; Lai, Q.; Qin, J.G., 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen (total ammonia nitrogen) in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 168, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.009>

Litopenaeus vannamei juveniles

Matias, H. B.; Yusoff, F. M.; Shariff, M.; Azhar, O., 2002. Effects of commercial microbial products on water quality in tropical shrimp culture ponds. *Asian Fisheries Science* 15, 239-248.

McGraw, W. J., 2002. Utilization of heterotrophic and autotrophic bacteria in aquaculture. *Global Aquaculture Advocate* 5 (6), 82-83.

McIntosh, R. P., 1999. Changing paradigms in shrimp farming – I: general description. *Global Aquaculture Advocate* 2 (4/5), 40-47.

McIntosh, D.; Samocha, T. M.; Jones, E. R.; Lawrence, A. L.; McKee, D. A.; Horowitz, S.; Horowitz, A., 2000. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering* 21, 215-227.

McIntosh, D.; Samocha, T. M.; Jones, E. R.; Lawrence, A. L.; Horowitz, S.; Horowitz, A., 2001. Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* limited water discharge. *Aquacultural Engineering* 25, 69-82.

Mendes, P.P. 1999. Estatística aplicada à aqüicultura. Bagaço, Recife, 265 pp.

Mendes, E. S.; Mendes, P. P.; Góes, L. M. N. B.; Vieira, K. P. B. A., 2005. Os víbrios na carcinicultura. *Panorama da Aqüicultura* 15 (91), 26-29.

Montoya, R.; Velasco, M., 2000. O papel das bactérias nas estratégias de alimentação e de manejo em sistemas de aqüicultura. *Revista da ABCC* 2 (2), 22-23.

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

Moss, S. M.; Arce, S. M.; Argue, J.; Otsoshi, C. A.; Calderon, F. R. O.; Tacon, A. G. J., 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In: Browdy, C. L.; Jory, D. E. (Eds.), *The New Wave, Proceeding of the special session on sustainable shrimp culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, pp. 1-19.

Naylor, R.L., Goldberg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beverdidge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017–1024.

Najafpour, G. D.; Shan, C. P., 2003. Enzymatic hydrolysis of molasses. *Bioresource Technology* 86, 91-94.

Newell, G.E.; Newell, R.C., 1963. *Marine plankton: a practical guide*. EDUCAT, London, Hutchinson, 221 pp.

Newell, G.E.; Newell, R.C., 1963. *Marine plankton: a practical guide*. London Hutchinson Educational, London, 221 pp.

Nunes, A. J. P.; Parsons, G. J., 1998. Dynamics of tropical coastal aquaculture systems and the consequences to waste production. *World Aquaculture* 29 (2), 27-37.

Nunes, A. J. P., 2001. Alimentação para camarões marinhos – Parte II. *Panorama da Aqüicultura* 11 (63), 23-33.

Nunes, A. J. P., 2002. O impacto da temperatura no cultivo de camarões marinhos. *Revista da ABCC* 4 (1), 43-51.

Nusch, E.A., 1988. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 14, 14-36.

Oliveira, M., 2003. *Microbiologia – CD*. Lavras, MG, Brazil.

Páez-Osuna, F., 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental Management* 28 (1), 131-140.

Pillay, T. V. R., 1990. *Aquaculture – principles and practices*. Fishing News Books, Oxford, 575 pp.

Rosas, C. et al., 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259, 1-22.

Samocha, T. M.; Patnaik, S.; Speed, M.; Ali, A. M.; Burger, J. M.; Almeida, R. V.; Ayub, Z.; Harisanto, M.; Horowitz, A.; Brock, D. L., 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering* 36, 184-191.

Schneider, O.; Sereti, V.; Eding, E. H.; Verreth, J. A. J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 32, 379-401.

Schneider, O.; Sereti, V.; Eding, E. H.; Verreth, J. A. J., 2006. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. *Aquaculture* 261, 1239-1248.

Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N.F. A., 1997. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. Ed. Livraria Varela, São Paulo, SP, 317 pp.

Smith, D.M., Burfod, M.A., Tabrett, S.J., Irvin, S.J., Ward, L., 2002. The effect of feeding frequency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 207, 125–136.

Squio, C. R.; Aragão, G. M. F., 2004. Estratégias de cultivo para produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-hidroxi-butirato) e poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) por bactérias. *Quim. Nova* 27 (4), 615-622.

Talavera, V., Sánchez, D., Zapata, L.M. (Eds.), 1998. Utilización de melaza en estanques de cultivo de camarón. *Boletín Nicovita* 3, 3th ed.

Tookwinas, S.; Songsangjinda, P., 1999. Water quality and phytoplankton communities in intensive shrimp culture ponds in Kung Krabaen Bay, Eastern Thailand. *J. World Aquac. Soc.* 30 (1), 36-45.

Thakur, D. P.; Lin, C. K., 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* 27, 159-176.

Wasielesky, W.; Emerenciano, M.; Ballester, E.; Soares, R.; Cavalli, R.; Abreu, P. C., 2006. Cultivos em meios com flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. *Panorama da Aqüicultura* 16 (96), 14-23.

Wurts, W.A., 2002. Alkalinity and hardness in production ponds. *World Aquaculture* 33 (1), 16-17.

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 622 pp.

5. CONCLUSÕES

O melação de cana-de-açúcar pode ser utilizado como fonte alternativa de carbono para ajustar as relações Carbono:Nitrogênio no cultivo de camarão sem renovação de água. As relações C:N 20 e 30:1 proporcionaram um melhor desempenho no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, demonstrando ser efetivas no controle da qualidade da água, reduzindo os níveis dos compostos nitrogenados (amônia e nitrito) e inibindo o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis ao cultivo. No entanto, sistemas aquícolas baseados no aporte de fontes orgânicas de carbono demandam uma maior quantidade de oxigênio dissolvido e, portanto, necessitam de um sistema de aeração bastante eficiente.

6. REFERÊNCIAS

ABRAHAM, T. J.; GHOSH, S.; NAGESH, T. S.; SASMAL, D. Distribution of bacteria involved in nitrogen and sulphur cycles in shrimp culture systems of West Bengal, India. **Aquaculture**, v.239, p. 275-288, 2004.

AKIYAMA, D. M.; DOMINY, W. G.; LAWRENCE, A. L. **Penaeid shrimp nutrition**. In: FAST, A. W. e LESTER, J. (Eds.). *Marine shrimp culture: Principles and Practices*. Elsevier Science Publishers, p. 535-567, 1992.

ALONGI, D. M.; TIRENDI, F.; TROTT, L. A. Rates and pathways of benthic mineralization in extensive shrimp ponds of the Mekong delta, Vietnam. **Aquaculture**, v.175, p.269-292, 1999.

ALONSO-RODRÍGUEZ, R.; PÁEZ-OSUNA, F. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture**, v.219, p. 317-336, 2003.

ANDERSON, R.K., PARKER, P.L., LAWRENCE, A.L. A $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the utilization of presented feed by commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system. **World Aquaculture Society**, v. 18, p 148-155. 1987

ANDREATTA, E. R; BELTRAME, E. Cultivo de camarões marinhos. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. **Aqüicultura – Experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, p. 200-207. 2004

A.P.H.A. / A.AW.W.A / W.E.F. **Standard methods of the examination of water and wastewater**. 19 ed. Washington: A.P.H.A., 1995

ARANA, L. V. 2004. **Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões**. Florianópolis: Ed.da UFSC, 231pp.

AVAVULT, J.W. Jr. **Fundamentals of aquaculture: a step-by-step guide to commercial aquaculture**. Baton Rouge: AVA Publishing Company Inc. Louisiana, 1996. 889p.

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

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

AVNIMELECH, Y. Minimal discharge from intensive fish ponds. **World Aquaculture**, v. 29, p. 32-37,1998.

AVNIMELECH, Y. Controle de nitrogênio e reciclagem de proteína: viveiros de suspensão ativada. **Revista da ABCC**, Recife, v. 2, n. 2, p. 19-21, agosto, 2000.

AVNIMELECH, Y.; RITVO, G., Shrimp and fish pond soils: processes and management. **Aquaculture**, v. 220, p. 549-567, 2003.

AVNIMELECH, Y. Bio-filters: The need for an new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p. 172-178, 2006.

BARBIERI, R. C. J.; OSTRENSKY, A. N. **Camarões marinhos – engorda**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002. 325p.

BOYD, C.E. Chemistry in pond aquaculture. **Prog. Fish Cult**, v. 59, p 85-93. 1997a.

BOYD, C. E. Pond bottom soil and water quality management for pond aquaculture. Alabama: USA, 1997b. 55p.

BOYD, C. E., TUCKER, C. S. **Pond aquaculture water quality management**. Kluwer, Norwell, MA. 1998.

BOYD, C. E.;QUEIROZ, J. F. Nitrogen, phosphorus loads vary by system. **Global Aquaculture Advocate**, December, p. 84-86, 2001.

BOYD, C.E. Fertilizantes químicos na aqüicultura de viveiros. **Revista da ABCC**, Recife, v. 5, n. 3, p. 79-81, Setembro, 2003.

BOYD, C.E. **Manejo da qualidade de água na aqüicultura e no cultivo do camarão marinho**. Tradução Josemar Rodrigues. Recife: ABCC, 2001. 157 p

BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama. Fisheries and Allied Aquacultures Dept., 1990. 482p.

BRATVOLTD, D.; BROWDY, C. L.; Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMatsTM) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. **Aquaculture**, v. 195, p. 81-94, 2001.

BRITO, L. O.; COSTA, W. M.; OLIVERA, A. Importância da fertilização em viveiros de camarão marinho. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.16, n. 93, p.35-37, Janeiro/Fevereiro, 2006.

BROCK, J. A.; GOSE, R. B.; LIGHTNER, D. V.; HASSON, K. **Recent developments and an overview of Taura Syndrome of farmed shrimp in the Americas**. In: FLEGEL, T. W.; McRAE, I. H. (Eds.), Diseases in Asian aquaculture III. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 275-284, 1997.

BROWDY, C. L.; BRATVOLT, D.; HOPKINS, J. S.; STOKES, A. D.; SANDIFER, P. A. Emerging technologies for mitigation of environmental impacts associated with shrimp aquaculture pond effluents. **Asian Fisheries Science**, v.14, p.255-267, 2001a.

BROWDY, C. L.; BRATVOLD, D.; STOKES, A. D.; MCINTOSH, R. P. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: BROWDY, C. L.; JORY, D. E. (Eds.). The New Wave, **Proceedings** of special session on sustainable shrimp culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society Baton Rouge, USA, p. 20-34. 2001b.

BRUNE, D. E.; SCHWARTZ, G.; EVERSOLE, A. G.; COLLIER, J. A.; SCHWEDLER, T. E. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems **Aquacultural Engineering**, v.28, p. 65-86, 2003.

BURFORD, M. A.; WILLIAMS, K. C. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. **Aquaculture**, v. 198, p. 79-93, 2001.

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

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

CASILLAS-HERNÁNDEZ, R.; MAGALLÓN-BARAJAS, F.; PORTILLO-CLARCK, G.; PÁEZ-OSUNA, F. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. **Aquaculture**, v.258, p. 289-298, 2006.

COLMAN, J., EDWARDS, P. **Feeding pathways and environmental constraints in waste-fed aquaculture: balance and optimization.** In: MORIARTY, D.J.W., PULLIN, R.S.V. (Eds.), Detritus and Microbial Ecology in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 14, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines. p 240-281. 1987.

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

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

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

CHABERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N - II: Composition and nutritional value of organic detritus. **Global Aquaculture Advocate**, June, p. 23-24, 2001b.

CHABERLAIN, G.; AVNIMELECH, Y.; McINTOSH, R. P.; VELASCO, M. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N – III: Practical applications **Global Aquaculture Advocate**, October, p. 50-54, 2001c.

CHIEN, Y. H. **Water quality requirements and management for marine shrimp culture.** In: Wyban, J. (Ed.) Proceedings of the special session on shrimp farming. World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA. USA. p. 144-156, 1992.

CLIFFORD, H. C. Marine shrimp farming: A review. In: Wyban (Ed.) Proceedings of the Special session on Shrimp Farming. **World Aquaculture Society**, Baton Rouge, L. A. p.110-137, 1992.

CLIFFORD, H. C. Semi-Intensive sensation. A case study in marine shrimp pond management. **World Aquaculture**, v. 25, p. 6-12-98-104, 1994

D'ABRAMO, L. R.; S. S. SHEEN. Requerimientos nutricionales, formulación de dietas y prácticas alimenticias para el cultivo intensivo del langostino de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*. In: Mendoza, R.; Cruz-Soares, L.E.; Ricque, D. (Eds). **Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutricion Acuicola.** Monterrey, 1994. Monterrey : Universidad Autonoma de Nuevo León, p. 81-101. 1996.

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

DEVARAJA, T. N.; YUSOFF, F. M.; SHARIFF, M. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products. **Aquaculture**, v. 206, p. 245-256, 2002.

EBELING, J. M. TIMMONS, M. B. BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 257, p. 346-358, 2006.

EMBRAPA. Oxidação do carbono por via úmida. **Manual de métodos de análises de solo**, 1997.

ERLER, D.; SONGSANGJINDA, P.; KEAWTAWEE, T.; CHAIYAKUM, K. Preliminary investigation into the effect of carbon addition on growth, water quality and nutrient dynamics in zero-exchange shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. **Asian Fisheries Science**, v. 18, p. 195-204, 2005.

FAHY, V.; FITZGIBBON, F. J.; McMULLAN, G.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Decolourisation of molasses spent wash by phanerochaete chrysosporium. **Biotechnology Letters**, v.19, n. 1, p. 97-99, 1997.

FELFÖDY, L.; SZABO, E.; TOTH, L. **A biológiai vizminőség.** Budapest: Vizugyi Hidrobiológia Vizedok, v. 160, 1987. 258 p.

FOGG, G.E. **Algal cultures and phytoplankton ecology.** The University of Wisconsin Press, 2nd ed., 1975.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual.** Gaithersburg: AOAC International, 8. ed., revision A. c.9., 1998.

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

GÓMEZ-JIMÉNEZ, S.; GONZÁLEZ-FÉLIX, M, L.; PEREZ-VELAZQUEZ, M.; TRUJILLO-VILLALBA, D. A.; EZQUERRA-BRAUER, I. R.; BARRAZA-GUARDANO, R. Effect of dietary protein level on growth, survival and ammonia efflux rate of *Litopenaeus vannamei* (Boone) raised in a zero water exchange culture system. **Aquaculture Research**, v.36, p. 834-840, 2005.

GOLTERMAN, H.J.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters.** London: Blackwell Sci. Pub., 1978. 214 p.

GROSS, A.; NEMIROVSKY, A.; ZILBERG, D.; KHAIMOV, A.; BRENNER, A.; SNIR, E.; RONEN, Z.; NEJIDAT, A. Soil nitrifying enrichments as biofilter starters in intensive recirculating saline water aquaculture. **Aquaculture**, v. 223, p. 51-62, 2003.

HAGOPIAN, D. S.; RILEY, J. G. A closer look at the bacteriology of nitrification. **Aquacultural Engineering**, v. 18, p. 223-244, 1998.

HARI, B.; KURUP, B. M.; VARGHESE, J. T.; SCHRAMA, J. W.; VERDEGEM, M. C. J. Effects of carbohydrate addition on production in intensive shrimp culture systems. **Aquaculture**, v.241, p. 197-194, 2004.

HARI, B.; KURUP, B. M.; VARGHESE, J. T.; SCHRAMA, J. W.; VERDEGEM, M.C. J. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. **Aquaculture**, v. 252, p. 248-263, 2006.

HANSEN, C. F. K.; HOPKINS, K.D.; GUTTMAN, H. A comparative analysis of the fixed-input, computer modeling, and algal bioassay approaches for identifying pond fertilization requirements for semi-intensive aquaculture. **Aquaculture**, v. 228, p. 189-214. 2003.

HARGREAVES, J. A. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. **Aquaculture**, v.166, p. 181-212, 1998.

HOLL, C. M.; TALLAMY, C. J.; MOSS, S. M. Varied microbes important to recirculating aquaculture systems. **Global Aquaculture Advocate**, June, p. 38-39, 2006.

HOPKINS, J. S.; et. al. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of shrimp. **Journal of World Aquaculture**, v. 24, p. 304-320. 1993.

HOPKINS, J. S.; SANDIFER, P. A.; BROWDY, C. L.; HOLLOWAY, J. D. Comparison of exchange and no-exchange water management for the intensive culture of marine shrimp. **Journal of Shellfish Research**, v. 13, p. 441-445, 1996.

HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Aquaculture and the microbial world. **Global Aquaculture Advocate**, February, p. 34-35, 2000.

JANA, B. B. CHAKRABORTY, P. BISWAS, J. K. GANGULY, S. Biogeochemical cycling bacteria as indices of pond fertilization: importance of CNP ratios of input fertilizers. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 733-740, 2001.

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

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). **Methods of seawater analysis**. Verlag Chemie Weinheim, 1976. p. 117-187.

KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiaí: F. Kubitza, 2003.

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

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. New York, Van Nostrand Reinhold, 1989. 260p.

LI, E.; CHEN, L. ZENG, C.; CHEN, X.; YU, N.; LAI, Q.; QIN, J.G. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. **Aquaculture**, v. 265, p 385-390. 2007.

LIGHTNER, D. V. The penaeid shrimp viruses TSV, IHNV, WSSV, and YHV. Current status in the Americas, available diagnostic methods and management strategies. **J. Appl. Aquac.**, v. 9, p. 27-52, 1999.

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

LIN, Y.C.; CHEN, J.C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, Amsterdam, v. 259, p109-119. 2001.

MACKERETH, F.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. **Water analysis: some revised methods for limnologists**. London: Scient. Public., n. 36. 1978. 121 p.

MacLEAN, M. H.; ANG, K. J.; BROWN, J. H.; JAUNCEY, K.; FRY, J. C. Aquatic and benthic bacteria responses to feed and fertilizer application in trials with the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). **Aquaculture**, v. 120, p. 81-93, 1994.

MADRID, R. M. A crise econômica da carcinicultura. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.15, n. 90, p. 22-29, julho/agosto, 2005.

MAIA, E.P.; LEAL, A.; CORREIA, E. S.; PEREIRA, A. L.; OLIVERA, A. caracterização planctônica de cultivo semi-intensivo de *Litopenaeus vannamei*. **Revista da ABCC**, v.5, n. 2, p. 60-62, 2003.

MARTINEZ-CORDOVA, L. R. *et al.* Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone, 1931 in low water exchange ponds. **Aquacultural Engineering**, v. 17, p. 21-28. 1998.

MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; CAMPANA-TORRES, A.; PORCHAS-CORNEJO, M. A. Promotion and contribution of biota in low water exchange ponds farming blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). **Aquaculture Research**, v. 33, p. 27-32, 2002.

MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; TORRES, A. C.; PORCHAS-CORNEJO, M. A. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosms. **Aquaculture Nutrition**, v. 9, p. 155-160, 2003.

MATIAS, H. B.; YUSOFF, F. M.; SHARIFF, M.; AZHAR, O. Effects of commercial microbial products on water quality in tropical shrimp culture ponds. **Asian Fisheries Science**, v. 15, p. 239-248, 2002.

McCOY, G.A. Nutrient limitation in two arctic lakes, Alaska. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v. 40, p. 1195– 1202. 1983.

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

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

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

McINTOSH, R. P. Changing paradigms in shrimp farming – V: establishment of heterotrophic bacterial communities. **Global Aquaculture Advocate**, February, p.53-58, 2001.

McINTOSH, D.; SAMOCHA, T. M.; JONES, E. R.; LAWRENCE, A. L.; HOROWITZ, S.; HOROWITZ, A. Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. **Aquacultural Engineering**, v. 25, p. 69-82, 2001.

McNEIL, R. Zero exchange, aerobic, heterotrophic systems: key considerations. **Global Aquaculture Advocate**, June, p.76, 2000.

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

MENDES, E. S.; MENDES, P. P.; GÓES, L. M. N. B.; VIEIRA, K. P. B. A.; Os vibrios na carcinicultura. **Panorama da Aqüicultura**, v.15, n. 91, p 26-29, 2005.

MICHAUD, L.; BLANCHETON, J.P.; BRUNI, V.; PIEDRAHITA, R. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. **Aquacultural Engineering**, v.34, p. 224–233, 2006.

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

MOSS, S. M.; PRUDER, G. D.; LEBER, K. M.; WYBAN, J. A. The relative enhancement of *Penaeus vannamei* growth by selected fractions of shrimp pond water. **Aquaculture**, v. 101, p. 229-239, 1992.

MOSS, S. M.; ARCE, S. M.; ARGUE, J.; OTOSHI, C. A.; CALDERON, F. R. O.; TACON, A. G. J. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. In: BROWDY, C. L.; JORY, D. E. (Eds.), The New Wave, **Proceedings** of the special session on sustainable shrimp culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, p. 1-19, 2001.

NAJAFPOUR, G. D.; SHAN, C. P. Enzymatic hydrolysis of molasses. **Bioresource Technology**, v.86, p. 91-94, 2003.

NAYLOR, R.L., GOLDBURG, R.J., PRIMAVERA, J.H., KAUTSKY, N., BEVERDIDGE, M.C.M., CLAY, J., FOLKE, C., LUBCHENCO, J., MOONEY, H., TROELL, M. Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v.405, p.1017-1024. 2000.

NEWELL, G.E.; NEWELL, R.C. Marine plankton: a practical guide. London: London Hutchinson Educational, 1963. 221 p

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.; PARSONS, G. J. Dynamics of tropical coastal aquaculture systems and the consequences to waste production. **World Aquaculture**, v. 29, n. 02, p. 27-37, 1998.

NUNES, A. J. P. O impacto da temperatura no cultivo de camarões marinhos. **Revista da ABCC**, Recife, v. 4, n. 1, p 43-51, 2002.

NUNES, A. J. P. Alimentação para camarões marinhos – Parte II. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 63, p 23-33. 2001.

NUNES, A.J.P. **Fundamentos da engorda de camarões marinhos**. São Lourenço da Mata – PE, Purina do Brasil, 2ª ed, 2004.

NUSCH, E.A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. **Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.**, n. 14, p. 14-36. 1988.

OLIVEIRA, M. **Microbiologia – CD**. Lavras – MG. 2003.

PÁEZ-OSUNA, F. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. **Environmental Management**, v.28, n. 1, p. 131-140, 2001.

PILLAY, T. V. R. **Aquaculture – principles and practices**. Oxford: Fishing News Books,. 575p, 1990.

QIN, J., MADON, S. P., CULVER, D. A. Effect of larval walleye (*Stizostedion vitreum*) and fertilization on the plankton community: implications for larval fish culture. **Aquaculture**, v. 130, p. 51-65, 1995.

ROCHA, I.P. Uma análise da produção, demanda e preços do camarão no mercado internacional. **Revista da ABCC**, Recife, v. 7, n. 2, p. 24-35, junho, 2005.

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

ROSAS, C. *et al.* Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, Amsterdam, v. 259, p 1-22. 2001.

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

SANDIFER, P. A.; HOPKINS, J. S. Conceptual design of a sustainable pond-based shrimp culture system. **Aquacultural Engineering**, v. 15, p. 41-52, 1996.

SCHNEIDER, O.; SERETI, V.; EDING, E. H.; VERRETH, J. A. J. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v.32, p. 379-401, 2005.

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

SCHROEDER, G. L. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensively-manured fish ponds, and related fish yields. **Aquaculture**, v. 14, p. 303-325, 1978.

SCHROEDER, G.L., WOHLFARTH, G., ALKON, A., HALEVY, A., KRUEGER, H. The dominance of algal-based food webs in fish ponds receiving chemical fertilizers plus organic manures. **Aquaculture**, v. 86 (2/3), p. 219– 230. 1990.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.F. A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo-SP, Ed. Livraria Varela, p.317, 1997.

SILVA, L.O.B. **Utilização de nitrato de sódio em viveiros de camarão marinho**. Dissertação (Mestrado) - Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca. 2004. 45f.

SMITH, D.M., BURFOD, M.A., TABRETT, S.J., IRVIN, S.J., WARD, L. The effect of feeding frequency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Aquaculture**, v.207, p.125–136, 2002.

SQUIO, C. R.; ARAGÃO, G. M. F. Estratégias de cultivo para produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-hidroxi-butirato) e poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) por bactérias. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 615-622, 2004.

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

TALAVERA, V., SÁNCHEZ, D., ZAPATA, L.M. (Eds.). Utilización de melaza en estanques de cultivo de camarón. **Boletín Nicovita**, v. 3, ed. 3. marzo, 1998.

TOOKWINAS, S.; SONGSANGJINDA, P. Water quality and phytoplankton communities in intensive shrimp culture ponds in Kung Krabaen Bay, Eastern Thailand. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 30, n. 1, p. 36-45, 1999.

THAKUR, D. P.; LIN, C. K. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. **Aquacultural Engineering**, v.27, p. 159-176, 2003.

VELASCO, M.; LAWRENCE, A. Shrimp production systems with low / no water exchange: Nutritional strategies for phosphorus management. **Global Aquaculture Advocate**, December, p. 37-38, 2001.

VELASCO, M.; LAWRENCE, A. L.; NEILL, W. H. Development of a static-water ecoassay with microcosm tanks for postlarval *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 161, p. 79-87, 1998.

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

WASIELESKY, W.; EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E.; SOARES, R.; CAVALLI, R.; ABREU, P. C. Cultivos em meios com flocos microbianos: um novo caminho a ser percorrido. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 96, p. 14-23, julho/agosto, 2006.

WURMANN, C.F.G. Estratégia para lograr credibilidade e conquistar mercados para a produção brasileira do camarão marinho cultivado. **Revista da ABCC**, Recife, v. 3, n. 3, p. 85-101, dezembro, 2001.

WURTS, W.A. Alkalinity and hardness in production ponds. **World Aquaculture**, Baton Rouge, v. 33, n. 1, p.16-17, 2002.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall. 1996. 622p.

reproduce tables, plates, or other illustrations. If the copyright-holder is not the author of the quoted or reproduced material, it is recommended that the permission of the author should also be sought.

3. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

4. A suitable acknowledgement of any borrowed material must always be made.

US National Institutes of Health (NIH) voluntary posting ("Public Access") policy: Elsevier facilitates author response to the NIH voluntary posting request (referred to as the NIH "Public Access Policy"; see <http://www.nih.gov/about/publicaccess/index.htm>) by posting the peer-reviewed author's manuscript directly to PubMed Central on request from the author, 12 months after formal publication. Upon notification from Elsevier of acceptance, we will ask you to confirm via e-mail (by e-mailing us at NIHauthorrequest@elsevier.com) that your work has received NIH funding and that you intend to respond to the NIH policy request, along with your NIH award number to facilitate processing. Upon such confirmation, Elsevier will submit to PubMed Central on your behalf a version of your manuscript that will include peer-review comments, for posting 12 months after formal publication. This will ensure that you will have responded fully to the NIH request policy. There will be no need for you to post your manuscript directly with PubMed Central, and any such posting is prohibited.

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+44) 1865 843830, fax (+44) 1865 853333, e-mail permissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage (<http://www.elsevier.com/locate/permissions>).

Upon acceptance of an article, Authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

Online submission to the journal prior to acceptance

Submission to **Aquaculture** proceeds totally on-line by way of an electronic submission system. By accessing the website <http://www.ees.elsevier.com/aqua> you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. When submitting a manuscript to Elsevier Editorial System, authors need to provide an electronic version of their manuscript. For editing purpose original source files, not PDF files, are required should the manuscript be accepted. The author should specify a category designation for the manuscript (full length article, review article, short communication, etc.), choose a set of classifications from the prescribed list provided online and select an editor. Once the uploading is complete, the system automatically generates an electronic FDF (can be read by PDF readers) proof, which is then used for reviewing. Authors may provide the names of three potential referees in their covering letter. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office. They should avoid responding by messages received from the system using the 'Reply' button on their e-mail message; this will send the message to the system support and not to the editorial office, and will create unnecessary load of sorting out and forwarding. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be by e-mail.

Papers for consideration should be submitted via the website mentioned above to the appropriate Section Editor:

Nutrition:

R. P. Wilson

Husbandry and Management:

B.Costa-Pierce

Physiology and Endocrinology:

E.M. Donaldson

Diseases:

D.J. Alderman

Genetics: G. Hulata

English language

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Authors who require information about language editing and copy editing services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions

Format requirements for accepted articles

General

1. Manuscripts should be typewritten, with numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc. should be numbered in the upper right-hand corner. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

2. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and concise)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone and fax number and E-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items.

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgements and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

3. In typing the manuscript, titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use bold face, lower-case letter type for titles; use non-bold, italic letter type for sub-titles. Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ?), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text".

4. Species names and other Latin terms should be typed in italics.

5. SI units should be used.

6. It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the word processor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/authors>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text. See also the section on Preparation of electronic illustrations.

LaTeX documents

The article should preferably be written using Elsevier's document class "elsart", or alternatively the standard document class "article".

The Elsevier LaTeX package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Quickguide: <http://www.elsevier.com/latex>. It consists of the files: elsart.cls, guidelines for users of elsart, a template file for quick start, and the instruction booklet "Preparing articles with LaTeX".

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should provide a very brief introduction to the problem and a statement about the methods used in the study. This should generally be followed by a brief summary of results, including numerical data (means and standard errors, for example). The abstract should end with an indication of the significance of the results. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. References should therefore be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 4-6 keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field at their first occurrence in the article: in the abstract but also in the main text after it. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Each table should be typewritten on a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Formulae Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics. Use the solidus (/) instead of a horizontal line, e.g., X/Y

Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text). Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺ and not Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P₂O₅).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves on a separate sheet at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Preparation of electronic illustrations

General

1. Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
2. Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.

3. Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
4. Number the illustrations according to their sequence in the text.
5. Use a logical naming convention for your artwork files.
6. Provide all illustrations as separate files.
7. Provide captions to illustrations separately.
8. Produce images near to the desired size of the printed version.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: Colour or greyscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (colour or greyscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

1. embed graphics in your word processor (spreadsheet, presentation) document;
2. supply files that are optimized for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
3. supply files that are too low in resolution;
4. submit graphics that are disproportionately large for the content.

Captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Line drawings

The lettering and symbols, as well as other details, should have proportionate dimensions, so as not to become illegible or unclear after possible reduction; in general, the figures should be designed for a reduction factor of two to three. The degree of reduction will be determined by the Publisher. Illustrations will not be enlarged. Consider the page format of the journal when designing the illustrations. Do not use any type of shading on computer-generated illustrations.

Photographs (halftones)

Remove non-essential areas of a photograph. Do not mount photographs unless they form part of a composite figure (plate). Where necessary, insert a scale bar in the illustration (not below it), as opposed to giving a magnification factor in the caption.

Colour illustrations

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable colour figures, then Elsevier will ensure, at no additional charge that these figures will appear in colour on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for colour in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to "grey scale" (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white versions of all the colour illustrations. As only one figure caption may be used for both colour and black and white versions of figures, please ensure that the figure captions are meaningful for both versions, if applicable.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1993) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1994, pp. 12-16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and all co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically by authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1994a, 1994b, etc.
5. Use the following system for arranging your references:
 - a. *For periodicals*
Dame, R., Libes, S., 1993. Oyster reefs and nutrient retention in tidal creeks. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 171, 251-258.
 - b. *For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical*
Benzie, J.A.H., Ballment, E., Frusher, S., 1993. Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes. In: Gall, G.A.E., Chen, H. (Eds.), *Genetics in Aquaculture IV. Proceedings of the Fourth International Symposium, 29 April-3 May 1991, Wuhan, China.* *Aquaculture* 111, 89-93.
 - c. *For books*
Gaugh, Jr., H.G., 1992. *Statistical Analysis of Regional Yield Trials.* Elsevier, Amsterdam, 278 pp.
 - d. *For multi-author books*

Shigueno, K., 1992. Shrimp culture industry in Japan. In: Fast, A.W., Lester, L.J. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, pp. 641-652.

6. Titles of periodicals mentioned in the list of references should be abbreviated following ISO 4 standard. The ISSN word abbreviations, for example, can be found at <http://www.issn.org/Istwa.html>.

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Papers accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Use of the Digital Object Identifier

The digital object identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly "Articles in press" because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change. However, please check the DOI very carefully as an error in a letter or number will result in a dead link.

GenBank/DNA sequence linking

DNA sequences and GenBank Accession numbers. Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine.

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. **An error in a letter or number can result in a dead link.** Note that in the final version of the *electronic copy*, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article.

Example 1: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)".

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link.

In the final version of the printed article, the accession number text will not appear bold or underlined (see Example 2 below).

Example 2: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

In the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article (see Example 3 below).

Example 3: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.
2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Supplementary data

Preparation of supplementary data. Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

After acceptance

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your

corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Online Publication

Your article will appear on Elsevier's online journal database ScienceDirect as an "Article in Press" within approximately 4-6 weeks of acceptance. Articles in Press for this journal can be viewed at <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00448486>. An Article in Press may be cited prior to its publication by means of its unique digital object identifier (DOI) number, which does not change throughout the publication process.

Reprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Author's Discount

There is a 30% discount on all Elsevier book publications. An order form will be sent together with the proofs.

Author Services

For enquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit <http://www.elsevier.com/authors>. You can track your accepted article by visiting <http://www.elsevier.com/trackarticle>. The Elsevier Web page also provides the facility to set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed, as well as detailed artwork guidelines, copyright information, frequently asked questions, and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, are provided when an article is accepted for publication.

Aquaculture has no page charges.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)