

EDMILSON DE MOURA DANTAS JÚNIOR

**SUBSTITUIÇÃO DE FARINHA DE PEIXE POR FARINHA DE BIOFLOCO EM
RAÇÕES PARA PÓS-LARVAS DE CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO,**

***Litopenaeus vannamei* (BOONE,1931)**

RECIFE,

2013



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

SUBSTITUIÇÃO DE FARINHA DE PEIXE POR FARINHA DE BIOFLOCO EM
RAÇÕES PARA PÓS-LARVAS DE CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO,

Litopenaeus vannamei (BOONE,1931)

Edmilson de Moura Dantas Júnior

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

Prof^a. Dr^a. Roberta Borda Soares

Orientadora

Prof^o. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto

Co-orientador

Recife,

Agosto/2013

Ficha catalográfica

D192s Dantas Júnior, Edmilson de Moura
 Substituição de farinha de peixe por farinha de biofloco em
 rações para pós-larvas de camarão branco do pacífico,
 Litopenaeus vannamei (Boone,1931) / Edmilson de Moura
 Dantas Júnior. -- Recife, 2013.
 53 f. : il.

 Orientadora: Roberta Borda Soares.
 Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
 Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
 Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2013.
 Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

 1. *L. vannamei* 2. Camarão peneido. 3. Carcinicultura
 4. Nutrição 5. Farinha de biofloco 6. Crescimento 7. Pós-Larva
 I. Soares, Roberta Borda, orientadora II. Título

CDD 639.3

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

SUBSTITUIÇÃO DE FARINHA DE PEIXE POR FARINHA DE BIOFLOCO EM
RAÇÕES PARA PÓS-LARVAS DE CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO,

Litopenaeus vannamei (BOONE,1931)

Edmilson de Moura Dantas Júnior

Dissertação julgada adequada para obtenção do título
de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.
Defendida e aprovada em 19/08/2013 pela seguinte
Banca Examinadora

Prof.^a. Dr.^a. Roberta Borda Soares (Orientadora)

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (Membro interno)

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (Membro interno)

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Membro externo)

Departamento de Bioquímica e Biofísica
Universidade Federal Pernambuco

Prof. Dr. Silvio Ricardo Maurano Peixoto (Suplente)

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico...
A DEUS pela Vida,

Aos meus pais Edmilson Dantas e Maria da Paz Dantas pelo cuidar,

Ao meu grande irmão Emerson Dantas pela amizade,

À minha esposa Raquel Dantas e meu filho Oliver Dantas pelo Amor.

Agradecimentos

Agradeço a DEUS pela vida, pela família, pelos amigos e por alarga mais uma vez minhas fronteiras, me preparando para servir;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pela contribuição na minha formação profissional;

A minha querida orientadora Prof^a Roberta Soares, pela confiança, respeito e exemplar orientação;

Ao meu grande co-orientador Prof^o Sílvio Peixoto pelos ensinamentos e parceria desde a época do Laboratório de piscicultura marinha - LPM;

Aos membros da banca examinadora, pelas indispensáveis e valiosas contribuições;

Aos órgãos financiadores FACEPE pelo recurso para execução do projeto e a CAPES pela bolsa de pós-graduação;

Aos professores Eudes Correia e Ronaldo Cavalli pela eterna disponibilidade e exemplo;

À Bruna Cáritas (Bruninha), que esteve comigo neste Mestrado como gêmeos siameses, sem deixar o outro cair;

A equipe Campo, representada pelos companheiros Jovêncio, Marcelinho e Euclides;

À Camila Brito (Camilinha) e Nathalia Calazans (Nathi) por toda a força e amizade durante esta jornada;

À toda equipe do Laboratório de Tecnologia em Aquicultura - LTA, , Bruna, Camila Barros, Diego, Emanuell Felipe, Isabelly, Joana Vogeley, Juliana Interaminense, Karin Barbosa, Roberta Nery, Thais, Vívian. Por todo empenho e dedicação aos nossos trabalhos, mesmo nos finais de semana e feriados.

Aos grandes colaboradores e amigos João Paulo Viana, Fabiana Penalva, Carolina Costa e Victor Andrade.

Aos meus pais pela educação e FÉ, orando por mim a cada segundo... Amo vocês;

Às minhas lindas Eduarda, Emily e Tamires pelos sorrisos;

Ao meu amado irmão Emerson Dantas, inseparável mesmo a distância;

Ao meu anjo Raquel Dantas e meu filhinho Oliver Dantas, pelo sentido da vida.

Aqui ficará registrado por décadas minha gratidão e respeito por todos vocês.

Obrigado!

RESUMO

A farinha de peixe é uma das fontes de proteína mais utilizadas em rações para animais aquáticos, devido suas características nutricionais e palatabilidade, sendo este ingrediente mais oneroso em rações para aquicultura incorporando entre 10-50% das dietas comerciais. O presente estudo avaliou a substituição da farinha de peixe (FP) por farinha de biofloco (FB) em dietas práticas para pós-larvas (PL) de camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*. O biofloco utilizado foi proveniente de um efluente de cultivo de *L. vannamei* em sistema BFT (*Biofloc Technology*) em larga escala. Quatro rações isoproteicas ($437,42\text{g Kg}^{-1}$) e isoenergeticas ($19,84\text{Kj g}^{-1}$), foram formuladas a substituir em 0 (T0); 7,5 (T7,5); 15 (T15) e 30% (T30) a FP por FB, sendo utilizada uma ração comercial (RC) como referência. O estudo foi realizado durante 42 dias, em um sistema de recirculação de água com tanques de 50L. As pós-larvas com peso inicial de $2,3 \pm 0,26\text{mg}$ (média $\pm$ DP) foram distribuídas aleatoriamente nos cinco tratamentos (T0; T7,5; T15; T30 e RC), numa densidade de 3PL/L, e em três repetições. Ao final do cultivo foi avaliado o desempenho zootécnico dos camarões, para os parâmetros de ganho de peso (GP), peso final (PF), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência protéica (TEP) e sobrevivência. Obtendo uma sobrevivência elevada ($>91,1\%$) e semelhante em todos os tratamentos. Os índices de GP, PF, TCE e TEP foram significativamente superiores na substituição máxima de 30% da farinha de peixe por farinha de biofloco, sendo este resultado relacionado às qualidades nutricionais do biofloco. Além disso, foi observado por meio da regressão que a substituição da FP por FB, só poderá trazer benefícios ao crescimento dos camarões com substituições superiores a 20%. Estes resultados sugerem que a substituição de 30% de FP por FB pode ser viável em dietas para pós-larvas de *L. vannamei*.

Palavras chave: Alimento alternativo, dietas farinha de biofloco, *L. vannamei*

ABSTRACT

Fish meal is one of the most commonly used protein source in diets for aquatic animals, because of its nutritional characteristics and palatability. However this ingredient is very costly incorporating 10-50% of commercial diets price. The present study evaluated the replacement of fish meal (FM) per biofloc meal (BM) in practical diets for post-larvae (PL) of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. The biofloc originates from a culture of *L. vannamei* in BFT system (Biofloc Technology). Four isonitrogenous (437.42 g kg^{-1}) and isocaloric (19.84 kJ g^{-1}) diets were formulated to replace at 0 (T0), 7.5 (T7, 5), 15 (T15) and 30% (T30) FM for BM, a commercial diet (RC) was used as an external control. The study was conducted for 42 days in a water recirculation system. The postlarvel initial weight of $0.0023 \pm 0.00026 \text{ g}$ (mean $\pm$ SD) were randomly assigned to five treatments (T0, T7, 5, T15, T30 and RC), a density of 3PL / L (50 L/tank), and three replications. At the end of the experiment were evaluated the shrimp performance of shrimp, for indices of weight gain (WG), final weight (FW), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and survival. Survival was high ($> 91.1\%$) and similar in all treatments. The rates of WG, FW, SGR and PER were significantly higher in the replacement of 30% of fish meal by biofloc meal. These results were related to the nutritional qualities of biofloc. Furthermore, it was observed that by regression by replacing the FP by BM can only benefit the growth of shrimps with substitutions above 20%. These results suggest that the substitution of 30% of FP by BM may be feasible in diets for postlarvae *L. vannamei*.

Keywords: Food alternative diets biofloc meal, *L. vannamei*.

LISTA DE FIGURAS

Página

Figure 1. Regressions of final weight (A), weight gain (B), specific rowth rate (C) and protein efficiency ratio (D) post-larvae of *Litopenaeus vannamei* fed diets with increasing substitution of fishmeal (FM) biofloc per meal (BM)..... 50

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Página

Tabela 1. Diferentes concentrações de Proteína bruta (PB) e Lipídeos Totais (LT) em bioflocos.....	18
---	----

Tabela 2. Artigos sobre substituição da farinha de peixe em dietas para camarões.....	20
---	----

ARTIGO CIENTÍFICO

Página

Table 1. Proximate composition and amino acid profile of meal bioflocs and experimental diets. (g kg ⁻¹ dry matter).	46
---	----

Table 2 - Formulation of diets for post larvae of <i>L. vannamei</i> with different levels of substitution of fish meal by meal biofloco (g kg ⁻¹ dry matter).....	47
---	----

Table 3. Fatty acid composition of experimental diets and meal biofloco (BM) (g kg ⁻¹ dry matter).....	48
---	----

Table 4. Growth performance of post-larvae of <i>L. vannamei</i> fed for 42 days with experimental diets replacing fish meal by meal biofloco	49
---	----

SUMÁRIO

Página

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vi
Resumo	vii
Abstract.....	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	x
1. Introdução	12
2. Revisão de Literatura.....	14
2.1.Sistema BFT (Tecnologia em bioflocos)	15
2.2. Os bioflocos	17
2.3. Farinha de peixe.....	18
2.4. Substituição de farinha de peixe	19
3. Referências Bibliográficas.....	22
4. Artigo Científico.....	28
Replacement of fishmeal by biofloc meal in diets for the Pacific white shrim postlarvae, <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931)	
4.1. Abstract.....	29
4.2. Introduction.....	30
4.3. Materials and Methods	31
4.4. Results	34
4.5. Discussion.....	35
4.6. Acknowledgments	40
4.7. Reference	40
5. Anexo (Normas para publicação na revista <i>Aquaculture Nutrition</i>)	46

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de camarões peneídeos tem sua história marcada por cultivos em viveiros de terra em climas tropicais. Em 2010 este setor foi responsável por 9,6% da produção aquícola mundial, equivalente a 5,7 milhões de toneladas (FAO, 2012). Visando atender um mercado cada vez mais competitivo, a carcinicultura desenvolve-se com base na elevação da produtividade, maximizando suas áreas de cultivo por meio de altas densidades de estocagem e utilização de rações protéicas. No entanto, o teor de proteína é o item mais caro nas rações comerciais para camarão, representando pelo menos 50% do custo total de produção (NAYLOR et al., 1998). O preço elevado é justificado pela utilização da farinha de peixe, ingrediente com crescente demanda pelas indústrias de produção animal e oferta limitada.

Contudo, os elevados níveis de proteína incorporados às rações catalisam o crescimento dos animais, porém grande parte desta proteína não é metabolizada pelos camarões. Assim, acaba se tornando um fertilizante caro para os viveiros prejudicando a qualidade da água e do sedimento. Além disso, a descarga destes nutrientes principalmente o nitrogênio e fósforo podem aumentar os riscos de impactos ambientais adversos.

Com a finalidade reciclar os nutrientes, sistemas fechados sem renovação de água (ou trocas mínimas) denominados de BFT (Biofloc Technology), estimulam a formação de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica, a partir da fertilização com fontes ricas em carbono orgânico e aeração constante do ambiente de cultivo (WASIELESKY et al., 2006; Emerenciano et al., 2007). O sistema BFT consiste na manipulação das comunidades bacterianas presentes no meio aquático, que são capazes de processar a matéria orgânica acumulada, assimilar compostos nitrogenados e converte-los em proteína bacteriana. A associação de bactérias a detritos orgânicos, partículas inorgânicas, microalgas, protozoários,

entre outros, formam agregados microbianos conhecidos como bioflocos ou flocos microbianos.

Em longo prazo, muitos países em desenvolvimento serão incapazes de manter a utilização da farinha de peixe como a principal fonte de proteína em rações aquáticas, devido à contínua elevação de preço (FAO, 2012). Logo, pesquisas têm sido direcionadas a fontes protéicas alternativas que sejam, idealmente, de baixo custo e prontamente disponíveis como substitutas para a farinha de peixe nas formulações de rações. Assim, diversos produtos têm sido utilizados com o propósito de substituir total ou parcialmente a farinha de peixe em rações aquícolas, incluindo subprodutos de pescado ou de animais terrestres, sementes oleaginosas, plantas aquáticas, concentrados protéicos, proteína microbiana, subprodutos de leguminosas e cereais. Estes ingredientes são classificados como de origem, animal, vegetal e microbiana. As proteínas microbianas, segundo Tacon (1994), são um dos principais focos para pesquisas que visam à substituição do óleo e farinha de peixes na produção de rações para aquicultura.

Considerando que nos sistemas BFT os flocos microbianos se desenvolvem continuamente, a concentração de sólidos em suspensão aumenta muito com o avanço do cultivo. Parte deste material precisa ser removido para não comprometer a saúde dos camarões e a estabilidade de funcionamento do sistema. Algumas alternativas vêm sendo sugeridas para destino deste material sedimentado, como produção de fertilizantes e produção de alimentos para os camarões. Devido à satisfatória composição nutricional dos flocos e o custo relativamente baixo de sua produção, acredita-se que sua utilização em rações possa ser uma eficiente alternativa para substituição parcial de ingredientes mais caros nas rações como a farinha de peixe, oferecendo à indústria do camarão uma nova opção de fonte protéica, de baixo custo e sustentável ambientalmente.

Neste contexto, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar a substituição parcial da farinha de peixe por farinha de bioflocos em rações para pós-larvas de *L. vannamei*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A indústria do camarão no Brasil vive um momento de estabilização em sua historia. Diante o enfrentamento de adversidades na ultima década, como oscilações climáticas que influenciaram negativamente a produtividade da região Nordeste, o surgimento de novas doenças em diversas áreas do país e ações de defesa econômica pelos Estados Unidos da America, que geraram taxas inviabilizando exportações (ABCC, 2012). No entanto, o País adaptou suas estratégias para atingir novos mercados visando o escoamento de sua produção.

Segundo Rocha (2013) a carcinicultura brasileira a partir 2003 direcionou sua produção ao mercado interno, passando de 22% para 97,8%, em 2010. Posteriormente houve uma queda na produção anual de 90.190t (2003) para 65.000/70.000t (2005-2010). Neste mesmo período foi registrado um aumento do consumo per capita aparente de pescado no país de 6,46 para 9,75 Kg/ano (MPA, 2010). Trabalhando basicamente com o camarão branco do pacifico, *Litopenaeus vannamei*, espécie mais cultivada no País desde a década de 90 e que representou em 2010 71,8% da produção mundial de todas as espécies da carcinicultura marinha (FAO, 2012).

No cenário internacional, o Brasil ocupa a sétima posição na lista mundial de produtores de camarão *L. vannamei*, com uma produção de 65.671 toneladas em 2011 (FISHSTAT, 2013), e produtividade média de 4.054 kg/ha/ano (ABCC, 2012). Sendo apontado como o País que poderá se tornar uma referencia mundial, no setor da aquicultura, ampliando nas próximas décadas produção pesqueira nacional (MPA, 2010; FAO, 2008).

Com o notório potencial brasileiro para carcinicultura marinha e de águas interiores, o seu contínuo desenvolvimento não só contribui com a produção de alimento, mas também com a conjuntura socioeconômica, por meio da geração de empregos diretos e indiretos, desenvolvimento local e ambiental, contribuindo na redução da exploração dos estoques naturais. Entretanto, a corrida desatinada ao crescimento e expansão dessa atividade pode gerar novos problemas, quando a demanda induz o desenvolvimento de tecnologias sem atenção aos elementos da qualidade (CRESSEY, 2009). Ressaltando que produtores de vários países vêm enfrentando problemas causados por quebras da produção (SAMOCHA et al., 2007). Observado que, o manejo impróprio das unidades de produção e projetos hidráulicos que não atendem as boas práticas de cultivo fez com que o camarão cultivado se tornasse mais susceptível a enfermidades, originadas de bactérias e vírus (TAW, 2012). Deste modo, o impacto gerado por doenças sobre as atividades de cultivo comercial de camarão, durante as duas últimas décadas tem afetado a gestão operacional da carcinicultura em todo o mundo (WASIELESKY et al., 2006)

Com surto de enfermidades, a sustentabilidade ambiental e econômica da aquicultura depende do desenvolvimento de novas tecnologias que garantam biosegurança, eficiência no uso de alimentos, tempo e estabilidade do sistema (TAW, 2012). Visando tais necessidades diversos autores apontam a tecnologia em bioflocos como alternativa mais promissora, promovendo melhora na qualidade de água, produtividade e gerando sistemas com maior biosseguridade para aquicultura. (FARZANFAR et al., 2006; WASIELESKY et al., 2006; EMERENCIANO et al., 2007; TAW et al., 2012).

2.1 Sistema BFT (Tecnologia de Bioflocos)

O consumo de água pela aquicultura vem se tornando um fator limitante para implantação de fazendas aquícola, devido à alta valorização de áreas litorâneas, como também

a preocupação em reduzir os efluentes ricos em nutrientes. Adaptando-se a esta realidade faz-se necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para carcinicultura em sistemas “Environmental Friendly” (Que favorecem o meio Ambiente), para atender à crescente demanda e qualidade de seus produtos (SUBASINGHE et al., 1998). A partir da década de 90 houve uma intensificação nos estudos de cultivo sem renovação de água no Waddell Mariculture Center, nos Estados Unidos (SANDIFER e HOPKINS, 1996) com contínuas adaptações (BOYD E CLAY, 2002; BURFORD et al., 2003; WASIELESKY et al., 2006).

O modelo de aquicultura BFT (Biofloc Technology) é caracterizado por utilizar elevada densidade de cultivo, sob forte aeração, com biota predominante heterotrófica e formação de flocos microbianos que são aproveitados como alimento natural, o que reduz o uso de ração (AVNIMELECH 2007). Esta modalidade vem apresentando um conceito de uma aquicultura responsável e ambientalmente correta, já que são realizados praticamente sem renovação de água. (AVNIMELECH, 2007; De SCHRYVER et al., 2008). Observado que, para produzir 1 kg de camarão em sistema tradicional são consumidos em média 64.000 litros de água (HOPKINS et al., 1993), entretanto são necessários apenas 160 litros de água para produzir a mesma quantidade de camarão, no modelo de cultivo sem renovação de água utilizando alta densidade de estocagem (Otoshi et al., 2006). De tal modo, o sistema BFT além de melhorar os índices de produtividade, se comparado com os sistemas tradicionais de cultivo, apresenta maior biosegurança, pois diminui trocas de água, e com isso evita o risco de introdução e disseminação de doenças (SAMOCHA et al., 2007; SAMPAIO et al., 2010).

Segundo Silva e Souza (1998), organismos heterotróficos são aqueles que não possuem a capacidade de sintetizar seu próprio alimento, ou seja, necessitam da presença de matéria orgânica para sua nutrição. No sistema BFT as bactérias heterotróficas presentes na água, assimilam os compostos nitrogenados por meio do processamento da matéria orgânica acumulada a convertendo em proteína bacteriana. Para aumentar a eficiência deste processo, a

relação Carbono:Nitrogênio deve ser mantida em níveis acima de 10:1 (AVINIMELECH, 1999, 2007).

Para atingir a relação desejada, se faz necessária a adição de uma fonte extra de carbono orgânico. O melaço da cana-de-açúcar é comumente utilizado para este fim, possibilitando o equilíbrio desejado da relação C:N, o que facilita a imobilização do nitrogênio presente no meio de cultivo (CRAB et al., 2007; SAMOCHA et al., 2007; SILVA, 2009; TAW, 2012). O melaço se apresenta na forma líquida viscosa e não cristalizável, contendo baixos níveis de nitrogênio e cinzas (UGALDE e CASTRILLO, 2007), além da alta disponibilidade. Cerca de 18 milhões de toneladas de melaço de cana-de-açúcar são produzidos por ano no Brasil pelo setor agrícola (LIMA et al., 2008).

2.2. Os Bioflocos

No cultivo em sistema BFT a formação do biofloco se dá pelo agrupamento microbiano gerado por agregados de detritos orgânicos, microalgas, protozoários, partículas inorgânicas, entre outros. Além disto, os flocos podem ser consumidos diretamente pelos camarões contribuindo com a reciclagem dos nutrientes em biomassa de camarão (BURFORD et al., 2003, 2004; HARGREAVES, 2006), substituindo parcialmente a ração comercial (EMERENCIANO et al., 2012). Segundo Azim e Little (2008), o biofloco pode ser usado por peixes e camarões como uma fonte adicional de proteínas, contribuindo com a nutrição dos animais, reduzindo as exigências por proteínas exógenas. No entanto, pesquisas mostram a heterogeneidade das composições nutricionais dos bioflocos, sendo observada uma variação de 28% na proteína bruta e 13,7% nos lipídeos totais dos bioflocos divulgados na Tabela 1.

Experimento realizado em reatores abastecidos com efluentes de cultivo super-intensivo de tilápias (CRAB et al., 2010a), mostraram que a escolha da fonte de carbono utilizada para

produzir o biofloco, é de suma importância, o mesmo utilizou Glicose, Acetato, Glicerol e Glicerol + *Bacillus* como diferentes tratamentos e obtiveram bioflocos com diferentes percentuais de Proteína/Lipídeos, 28/5,4; 42/2,3; 43/2,9 e 58/3,5, respectivamente. Entretanto, Azim e Little (2008), utilizaram diferentes níveis de proteína bruta (24 e 35%) em rações para cultivo de tilápias em sistema BFT e obtiveram bioflocos sem diferença significativa em suas composições centesimais, possibilitando a redução dos níveis de proteína nas rações em troca de proteína microbiana.

Tabela 1 - Diferentes concentrações de Proteína bruta (PB) e Lipídeos Totais (LT) em bioflocos.

Referências	PB (%)	LT (%)	Origem do biofloco	PB das rações (%)
Tacon et al., 2002	31,20	0,26	Cultivo BFT de camarões.	35-40
Soares et al., 2004	42,00	8,00	Cultivo BFT de camarões.	-
Wasielesky et al., 2006	31,07	0,49	Cultivo BFT de camarões.	35
Azim e Little, 2008	37,9-38,4	3,20	Cultivo BFT de peixes.	24-35
Kuhn et al., 2009	49,00	1,13	Efluentes de cultivo BFT de peixes.	-
Avnimelech et al., 2009	33,45	0,61	Diferentes cultivos*	-
Kuhn et al., 2010	38,8-40,5	< 0,10	Efluentes de cultivo BFT de peixes.	-
Crab et al., 2010a	28-58	2,3-5,4	Efluentes de cultivo BFT de peixes.	-
Bauer et al., 2012	23,39	0,30	Cultivo BFT de camarões.	-
Emerenciano, 2012	30,40	0,47	Cultivo BFT de camarões.	40
Luo et al., 2013	26,32-30,42	-	Efluentes de cultivo BFT de peixes.	45
Pérez-Fuentes et al., 2013	51,19	13,84	Cultivo BFT de camarões.	35

* Valores médios

2.3. Farinha de Peixe

A farinha de peixe é produzida a partir de peixe inteiro ou miudezas derivadas da produção. Os produtos com mais de 75% de proteína são denominados de farinha de peixe de alto nível protéico (GALANO et al., 2007). Estas fontes protéicas de origem marinha são as mais utilizadas para produção de rações por ser uma fonte equilibrada de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, que adicionam boa palatabilidade às dietas (EL-SAYED, 1999; DAVIS & ARNOLD, 2000; SUÁREZ et al., 2009).

Em 2010, 20,2 milhões de toneladas de pescado foram destinados à fins não alimentícios, dos quais 75% (15,1 milhões de toneladas) foi designado a produção de farinha e óleo de peixe (FAO, 2012). Anualmente são produzidas de 5 a 7 milhões de toneladas de farinha de peixe em todo mundo, representando uma parcela substancial das exportações, 35% da quantidade e 5% do valor de todo pescado capturado, sendo que a aquicultura utiliza cerca de 20% da farinha e o restante é consumido em rações para aves e suínos. Isso exige, em média, cerca de 28 milhões de toneladas de pescado *in natura*, volume equivalente a 30% da atual produção pesqueira (cerca de 95 milhões de toneladas) (FAO, 2008, 2012). Cressey (2009) questiona sobre o real potencial da aquicultura como substituto sustentável da pesca por captura, devido à criação em sua maioria depender da captura como fonte de alimento. Isso porque a farinha e o óleo de peixes são ingredientes dominantes em rações para peixes carnívoros e camarões marinhos, acarretando forte pressão de pesca sobre espécies forrageiras, ocasionando sobrepesca e até depleção de alguns desses estoques, por impactos na cadeia alimentar marinha (TACON e AKIYAMA, 1997; NAYLOR et al., 2000)

2.4. Substituição de farinha de peixe

A utilização de ingredientes alternativos como farinhas e concentrados protéicos obtidos de resíduos do processamento industrial de alimentos, que atuem como fonte de proteínas e

que sejam mais barato e acessível que a farinha de peixe, pode resultar em rações aquícolas de menor custo, mantendo ou melhorando a qualidade nutricional das rações destinadas à alimentação animal (LEAL, 2010).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2012), a maior parcela de farinha de peixe consumida pela aquicultura em 2008 foi destinada para carcinicultura marinha (27,2%) ficando a piscicultura marinha em segundo lugar com (18,8%). Sozinha a carcinicultura exige, em média, cerca de 7,6 milhões de toneladas de pescado *in natura*. Frente a esta realidade, alguns estudos conduzidos a fim de analisar a eficiência de outros ingredientes em dietas para camarões na última década são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Artigos sobre substituição da farinha de peixe em dietas para camarões.

Espécie	Referência	Ingrediente Substituto	Melhor Substituição
<i>Penaeus monodon</i>	Dayal et al., 2011	Torta de óleo de girassol	5%
<i>L. vannamei</i>	Kuhn et al, 2009	Farinha de biofloco e Proteína de Soja	7,8%
<i>L. vannamei</i>	Yi-Rong Yue et al. 2012	Farinha de soja e de amendoim	30%
<i>L. vannamei</i>	Hernández et al., 2008	Farinha de carne suína	35%
<i>L. vannamei</i>	Goytortúa-Bores et al., 2006	Farinha de caranguejo	38%
<i>L. vannamei</i>	Oujifard et al., 2012	Concentrado protéico de arroz	50%
<i>L. vannamei</i>	Ju et al., 2012	Farinha de Microalga	50%
<i>L. vannamei</i>	Harter et al., 2011	Farinha de sementes de Jatropha	50%
<i>L. vannamei</i>	Tan et al., 2005	Farinha de carne e ossos	60%
<i>L. vannamei</i>	Shuyan et al., 2009	Farinha de subproduto de aves	70%
<i>L. schmitti</i>	Alvarez et al., 2007	Farelo de Soja	75%
<i>L. vannamei</i>	Forster et al., 2003	Farinha de carne e ossos	75%
<i>L. vannamei</i>	Suarez et al., 2009	Farelo de soja e farinha de canola	80%
<i>L. vannamei</i>	Cruz-Suárez et al., 2007	Farinha de subproduto de aves	80%
<i>L. vannamei</i>	Samocha et al., 2004	Farelo de soja coextrusado e farinha de subproduto de aves	100%
<i>L. vannamei</i>	Elkin et al., 2007	Farelo de soja	100%
<i>L. vannamei</i>	Bauer et al., 2012	Farinha de biofloco e Concentrado protéico de soja	100%

Derivados da soja constituem um dos ingredientes mais utilizados, como fonte de proteína vegetal na alimentação aquícola, sendo bastante utilizado na substituição da farinha de peixe. Embora, a farinha de soja tenha potencialmente problemas associados com insuficiência de níveis de lisina e metionina, presença de fatores anti-nutricionais e baixa palatabilidade (DERSJANT-LI, 2002).

As proteínas microbianas, segundo Tacon (1994), são um dos principais focos para pesquisas que visam à substituição do óleo e farinha de peixes na produção de rações para aquicultura. A utilização de efluentes de criações de peixes para produzir componentes adicionais às rações foi apresentado por Kuhn et al. (2009, 2010).

Segundo a FAO (2012), o custo de produção de uma tonelada de farinha de peixe ficou em torno de US\$1500 a US\$1600. Kuhn et al., (2010) estimaram os custos de produção de bioflocos a partir de SBR (*Sequencing Batch Reactors*) e MBR (*Membrane Biological Reactor*) utilizando efluente de criação de tilápia em torno de US\$400 a US\$1000 por tonelada de ingrediente seco. Sendo uma opção a substituir farinha de peixe, além disso, se mostra como alternativa para diminuir os custos da produção e ainda gerar destino apropriado aos efluentes gerados pela produção intensiva da aquicultura BFT. Pesquisas anteriores mostraram que biofloco pode ser utilizado na alimentação de diferentes culturas e espécies como tilápia e camarão branco do pacífico (AZIM and LITTLE 2008; CRAB et al., 2009; KUHN et al., 2009).

A utilização da mistura de farinha de biofloco (produzidos a partir de efluentes da piscicultura de tilápias) com proteína de soja em dietas para camarões, mostrou a viabilidade desse ingrediente como substituto parcial (7,8%) à farinha de peixe, sem danos aos parâmetros zootécnicos e sobrevivência (KUHN et al., 2009). Recentemente, pesquisa realizada sobre substituição de farinha de peixe, pela combinação de farinha de biofloco e hidrolisado protéico de peixe na alimentação de pós-larvas de peneídeo, encontrou níveis de

substituição ideais entre 15-16%, limitadas pelo excesso de lipídico do hidrolisado (FERREIRA et al., 2013). Outra combinação de ingredientes é relatada por Bauer et al. (2012), onde, combinando farinha de bioflocos e concentrado protéico de soja em dietas para juvenis de *L. vannamei*, substituiu a farinha de peixe por uma mistura de 14% de farinha de bioflocos e 28% de concentrado protéico de soja, sem trazer prejuízos ao desenvolvimento ou ao sistema imune dos animais. Embora o bioflocos possua níveis adequados de proteína, lipídeos, carboidratos e cinzas satisfatórios para seu uso como alimento na aquicultura (CRAB, 2010a), mais pesquisas precisam ser realizadas sobre a composição de aminoácidos e ácidos graxos (CRAB et al., 2012).

3. Referência bibliográfica

ABCC, Associação Brasileira de Criadores de Camarão. **Revista ABCC**, 1–76, set 2012

ALVAREZ JS, A HERNÁNDEZ-LLAMAS, J GALINDO, I FRAGA, T GARCÍA, H VILLARREAL, 2007. Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante & Kensley 1997). **Aquaculture Res.**, 38: 689-695.

AMAYA, E.; DAVIS, D. A.; ROUSE, D. B. Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 262, n. 2-4, p. 419-425, fev. 2007.

AVNIMELECH, Y.; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing. **Aquaculture**, v. 287, n. 1-2, p. 163-168, fev. 2009.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 140-147, abr. 2007.

AVNIMELECH, Y. Carbon:nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. n. February, p. 227-235, 1999.

AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, n. 1-4, p. 29-35, out. 2008.

BAUER, W. et al. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 342-343, p. 112-116, abr. 2012.

BOYD, C.E., CLAY, J.W., 2002. "Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Superintensive Shrimp Aquaculture System ". Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and

FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 17 pages.

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.

CRAB, R. et al. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, v. 356-357, p. 351-356, ago. 2012.

CRAB, R. et al. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 559-567, mar. 2010.

CRAB, R. et al. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. **Aquacultural Engineering**, v. 40, n. 3, p. 105-112, maio. 2009.

CRAB, R. et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, n. 1-4, p. 1-14, set. 2007.

CRESSEY, D., 2009. Future fish. **Nature** 458, 398 – 400.

CRUZ-SUÁREZ, L. E. et al. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. **Aquaculture**, v. 272, n. 1-4, p. 466-476, nov. 2007.

DAVIS, D. A.; ARNOLD, C. R. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. p. 291-298, 2000.

DAYAL, J. S. et al. Sunflower oil cake as a replacement for fish meal in feeds of Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* reared in tanks and in net cages. v. 40, n. June, p. 460-470, 2011.

DERSJANT-LI Y., 2002. The use of soy protein in aquafeeds. Advances en Nutrition Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 2002. Cancun, Quintana Roo, Mexico, 3–6 September.

DE SCHRYVER, P. et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, jun. 2008.

EL-SAYED, A.-F.M. Alternative dietary protein for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v. 179, p. 149-168, 1999.

EMERENCIANO, M. et al. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). **Aquaculture Research**, v. 43, n. 3, p. no-no, 1 fev. 2012.

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

FAO, 2012. **The state of world fisheries and aquaculture 2012.**

FAO, 2008. **The state of world fisheries and aquaculture 2008.**

FAO, 2013. Aquaculture production quantities. **Fishstat Plus**, Version 2.30

FARZANFARA. (2006) The use of probiotics in shrimp aquaculture. **FEMS Immunology and Medical Microbiology** 48, 149-158.

FERREIRA, B. C. S. DO V. **Substituição da farinha de peixe por hidrolisado proteico de peixe e farinha de biofloco na alimentação de pós-larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.** 2013.

FORSTER IP, W DOMINY, L OBALDO, AGJ TACON, 2003. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture**, 219: 655–670.

GOYTORTUA-BORES, E., CIVERA-CERECEDO, R., ROCHA-MEZA, S., GREEN-YEE, A., 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Effects on growth and in vivo digestibility. **Aquaculture** 256, 414–422

GALANO, T. G., H. V. C.; FENUCCI, J. L. **Manual de ingredientes proteicos.** [s.l: s.n.]. v. 1p. 263

HARGREAVES JA. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquaculture Engineering** 34:344-363.

HARTER, T. et al. Substitution of fish meal by *Jatropha curcas* kernel meal: Effects on growth performance and body composition of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 5, p. 542-548, 27 out. 2011.

HERNÁNDEZ C, MA OLVERA-NOVOA, K AGUILAR-VEJAR, B GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, IA PARRA. 2008. Partial replacement of fish meal by porcine meat meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 277: 244-250.

HOPKINS, S.J., HAMILTON, R.D. II, SANDIFER, P.A., BROWDY, C.L., STOKES, A.D., 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. **J. World Aquacult. Soc.** 24, 304–320.

JU, Z. Y.; DENG, D.-F.; DOMINY, W. A defatted microalgae (*Haematococcus pluvialis*) meal as a protein ingredient to partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). **Aquaculture**, v. 354-355, p. 50-55, jul. 2012.

KUHN, D. D. et al. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 303, n. 1-4, p. 28-33, maio. 2010.

KUHN, D. D. et al. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, v. 296, n. 1-2, p. 51-57, nov. 2009.

LEAL, A. L. G. et al. Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. **Aquaculture International**, v. 18, n. 4, p. 635-646, 8 ago. 2010.

LIMA, H.; ET AL. Utilização de melaço de cana-de-açúcar previamente hidrolisado e suplementado para obtenção de ácido l-glutâmico. Disponível em; <www.seminagro.com.br/trabalhos_publicados/3jornada/02ciencia_tecnologia_de_alimentos/CTA0207.pdf>. Acesso em: 21/11/2011.

In: **JORNADA NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA**, 3, 2008, Bananeiras. Anais. São Paulo.

LUO, G. et al. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. **Aquacultural Engineering**, v. 52, p. 73-79, jan. 2013.

MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura). Produção pesqueira e aquícola, estatística 2008 e 2009. **Brasil**, 18p. 2010.

NAYLOR, R.L., GOLDBURG, R.J., PRIMAVERA, J.H., KAUTSKY, N., BEVERIDGE, 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.

NAYLOR, R., GOLDBURG, R.J., MOONEY, H., BEVERIDGE, M., CLAY, J., FOLKE, C., KAUTSKY, N., LUBCHENCO, J., PRIMAVERA, J., WILLIAMS, M., 1998. Nature's subsidies to shrimp and salmon farming. **Science** 282, 883–884.

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

OUIJIFARD, A. et al. Fish meal replacement with rice protein concentrate in a practical diet for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931. **Aquaculture International**, v. 20, p. 117-129, 2012.

PÉREZ-FUENTES, J. A.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P. Pond-reared Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* with the biofloc system. **Aquaculture**, v. 400-401, p. 105-110, jun. 2013.

ROCHA, I. 2013. Current status and trends of the Brazilian shrimp farming industry. **Feed e Food** 69, 68-70.

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

SAMOCHA, T. M., PATNAIK, S., SPEED, M., ALI, A. M., BURGER, J. M., ALMEIDA, R. V., ET AL. (2007). Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, 36, 184-191.

SAMOCHA, T., 2004. Substitution of fish meal by co-extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture** 231, 197-203.

Sandifer, P.A., Hopkins, J.S., 1996. Conceptual Design of a Sustainable Pond-based Shrimp Culture System. **Aquacultural Engineering** 15, 41-52.

SILVA, U. L. et al. Efeito da adição do melaço na relação carbono/nitrogênio no cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei* na fase berçário. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 31, n. 4, p. 337-343, 20 ago. 2009.

SILVA, A. L. N.; SOUZA, R. A. L. Glossário de aquíicultura. Recife: UFRPE, **Imprensa Universitária**, 1998. 97 p.

SOARES, R.; JACKSON, C.; COMAN, F.; PRESTON, N. 2004. Nutritional composition of flocculated material in experimental zero-exchange system for *Penaeus monodon*. In: **Australasian aquaculture**, 2004, WAS, Sydney. p.89.

SUAREZ JA, GAXIOLA G, MENDOZA R, CADAVID S, GARCIA G, ALANIS G, SUAREZ A., 2009. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931). **Aquaculture** 289:118-123

SUBASINGHE, R.P., BARG, U., PHILLIPS, M.J., BARTLEY, D. & TACON, A. (1998) Aquatic animal health management: investment opportunities within developing countries. **J Appl. Ichthyol.**, 14, 123-129.

SHUYAN C, T BEIPING, M KANGSEN & Z SHIXUAN, 2009. Growth and feed efficiency of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* fed formulated diets containing different levels of poultry by-product meal. **J. Oean Univ. China (Oceanic and Coastal Sea Res)** 8: 399-403.

TACON, A. G. J. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. n. February 2001, 2002.

TACON, A.G.J., AKIYAMA, D.M., 1997. Feed ingredients for crustaceans. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. (Eds.), **Crustacean Nutrition. The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, LA, USA, pp. 411-472.

TACON A.G.J, 1994. Feed Ingredients for Carnivorous Fish Species: Alternatives to Fishmeal and Other Fishery Resources. **Food and Agricultural Organization**, Rome, 1994.

TAN B, K MAI, S ZHENG, Q ZHOU, L LIU & Y YU. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). **Aquaculture Res**, 36: 439-444, 2005.

TAW, N.. Recente Desenvolvimento do Cultivo Intensivo de Camarões Peneídeos com Uso De Bioflocos. **Advocate**, 2012.

UGALDE, U.O.; CASTRILLO, J.I. 2007. Single Cell Proteins from Fungi and Yeasts. s.d.

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

YUE, Y. et al. Effects of replacing fish meal with soybean meal and peanut meal on growth, feed utilization and haemolymph indexes for juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 1687-1696, 2012.

4. Artigo Científico

Artigo científico a ser submetido para publicação na revista *Aquaculture Nutrition*

Replacement of fishmeal by biofloc meal in diets for the Pacific white shrimp postlarvae,

Litopenaeus vannamei (Boone, 1931)

Edmilson de Moura Dantas Jr^{*1}, Bruna Cáritas Souza do Valle Ferreira¹, Camila Mayara

Santos Brito¹, Nathalia Karolinne Ferreira Calazans¹, Silvio Ricardo Maurano Peixoto¹,

Roberta Borda Soares¹

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), R. Dom Manoel de Medeiros, s/n,

Departamento de Pesca e Aqüicultura – Laboratório de Tecnologia em Aquicultura. Dois

Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: jr_pesca@hotmail.com Telefone (81) 3320 6597/ 3320

ABSTRACT

The present study evaluated the replacement of fishmeal (FM) by biofloc meal (BM) in practical diets for postlarvae (PL) of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. The biofloc used was the effluent from a *L. vannamei* breeding BFT system (Biofloc Technology) scale. Four isonitrogenous diets (437.42 g kg⁻¹) and isocaloric (19.84 kJ g⁻¹) were formulated to replace at 0 (T0), 7.5 (T7, 5), 15 (T15) and 30% (T30) FM for BM, and we used a commercial diet (CD) as a reference. The study was conducted for 42 days in a recirculation system water in tanks of 50L. The postlarvae with initial weight of 0.0023 ± 0.00026 g (mean $\pm$ SD) were randomly distributed in the treatments (T0, T7, 5, T15, and T30 RC), a density of 3PL / L, with three replicates. At the end of the crop was rated the growth performance of shrimp, for the parameters of weight gain (WG), final weight (FW), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and survival. Achieving high survival (> 91.1%) and similar in all treatments. The Tukey test revealed that replacing 30% of fish meal by biofloc meal, showed better results, statistically (> 0.05) than other treatments for indexes WG, FW, SGR and PER, related to the qualities nutritional biofloc. Furthermore, it observed by regression that the replacing the FM for the BM may only be beneficial to growth of shrimps with substitutions above 20%. These results suggest that the substitution of 30% of FM by BM may be feasible in diets for postlarvae *L. vannamei*.

Keywords: alternative food, practices diets, biofloc meal, *L. vannamei*

INTRODUCTION

Fishmeal is one of the most widely used protein sources in diets for aquatic animals, because of its nutritional features and palatability when incorporated between 10-50% into commercial diets (Tacon 1993). However, the increasing demand for fishmeal, driven by the growth of aquaculture to meet world demand for fish, along with the instability of their offer, increases its price (FAO, 2012). However, for a successful aquaculture, it is necessary to develop new technologies to increase their economic and environmental sustainability (Kuhn et al, 2010).

In aquaculture the culture of penaeid shrimp is the fastest growing in the world. In 2010 this sector accounted for 9.6% of world aquaculture production, equivalent to 5.7 million tonnes (FAO, 2012). Thus, finding alternative sources of protein for the partial or total replacement of fish meal in feed for shrimp has become the focus of research focused on the production and stable supply of commercial diets at a reduced price (Harter et al, 2011; Oujifard et al, 2012; Yue et al 2012;. Jiang et al, 2013).

Several studies have reported the replacement of fishmeal for animal and vegetable products in diets for shrimp (Tan et al., 2005; Cruz-Suárez et al., 2007; Ju et al., 2012; Yue et al. 2012; Oujifard et al. 2012). However, antinutritional factors, deficiency of some essential amino acids (lysine and methionine) and low palatability, typically observed in plant ingredients may limit its use (Davis & Arnold, 2000; Gatlin et al. 2007). However, research with ingredients of microbial origin, have been little explored in the replacement of fishmeal in diets for shrimp.

The biofloc is a potential alternative for protein supplementation in diets for shrimp (Kuhn et al, 2009, 2010). This product is derived from the cultivation system BFT (Biofloc Technology), an emerging alternative for the development of eco-sustainable aquaculture.

This was established to develop technology benefits through reduced water usage and effluent discharges, providing high production of fish and improved biosafety (Wasielesky et al, 2006; Avnimelech 2007; Emerenciano et al, 2012). The BFT system consists in the manipulation of the bacterial communities present in the aquatic environment, which are able to process the accumulated organic matter, nitrogen assimilation and those converts them into bacterial protein. The combination of organic debris and bacteria, inorganic particles, micro-algae, protozoa and other microbial form aggregates known as microbial biofloc or microbial flakes.

Thus, some authors have exposed the feasibility of using biofloc as an additional source of protein in the diet of fish and shrimp (Azim and Little, 2008; Kuhn et al., 2009, 2010; Bauer et.al. 2012). Whereas, in the BFT systems the bioflocos evolve continuously, the concentration of suspended solids increases with the progress of cultivation. Some of this material needs to be removed to avoid compromising the health of shrimp and the stability of operation of the system and this surplus, commonly discarded. In this context, the present work aims to evaluate the partial replacement of fish meal by biofloc meal in postlarvae diets of *L. vannamei*.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

The experiment was conducted at the Laboratory of Technology in Aquaculture, UFRPE (Brazil) for 42 days in a recirculation system aquamarine, composed of 15 polyethylene tanks filled with a volume of 50L clear water, equipped with biological, mechanical and UV filters and constant aeration. The water in the tanks was recirculated at a flow rate of 1.5 L / min and its temperature maintained between 31-32 ° C with immersion

heaters. The replenishment was carried out with fresh water to compensate for evaporation losses.

The experiment consisted of four treatments, using isonitrogenous and isocaloric diets containing 0, 7.5, 15 and 30% replacement of fish meal (FM) by biofloc meal (BF). As a reference, a fifth treatment was assigned using commercial feed (Purina CR1 and CR2) for cultivation of *L. vannamei* postlarvae containing crude protein of 40% minimum in accordance with the manufacturer. Each treatment was carried out with three replicates and randomly allocated between farm ponds.

The postlarvae (PL) of the species *L. vannamei* used in the experiment were acquired as PL8 (eight days post-larval) with 0.0023 ± 0.00026 g of a commercial hatchery, located in Barra Sirinhaém - PE. Shrimps (PL8) were acclimated in a polyethylene tank 310L with constant aeration, were subsequently stored (PL10) in the experimental system density 150/tanque (3PL / L).

The diets were offered in excess three times a day, at 8:00, 13:00 and 18:00 hours, during the 42 days of experiment. Weekly were weighted to adjust the power. During the first four weeks the diets were offered according to 50% of the animal biomass per day, later reduced to 40% in the weeks following the end of the experiment. Were removed daily feces, uneaten feed and molt, and reset the volume of water lost in this process. Water quality parameters were measured daily (temperature, salinity, dissolved oxygen and pH) with a multiparameter device (YSI 556), ammonia and nitrite were also measured using a spectrophotometer (ALFAKIT-AT10P).

At the end of the experiment, the results of growth performance through the final weight (FW), weight gain (WG = final weight-initial weight), specific growth rate (SGR = $100 (\ln \text{ final weight} - \ln \text{ initial weight}) / \text{time}$) survival (Surviv. = (final number shrimps /

initial number shrimps) $\times 100$), protein efficiency ratio (PER = weight gain / protein percentage to the feed).

Biofloc

The biofloc used in this study was produced in two tanks of large-scale cultivation of *L. vannamei* in BFT system (Biofloc Technology) from a farm in the municipality of Rio Formoso, Pernambuco, Brazil. The development of the BFT biofloc was monitored daily with Imhoff cone (1L). When biofloc volume reached 20 mL / L was made recirculating water culture in a decantation system adapted from Johnson and Chen (2006) to collect the biofloc. The material was subjected to three sequential filterings with nylon bags mesh 250 μ m and 50 μ m, and cellulose filter of 10 μ m. Subsequently, to reduce moisture, biofloc was distributed in layers with approximately 0.5 cm thick in well ventilated without direct exposure to solar radiation. Drying was completed in forced circulation oven for 48 hours at 50 ° C. Dried samples were ground to 250 μ m and stored in containers kept at -20 ° C.

The samples were analyzed for proximate composition and aminoácidos in commercial laboratory following the method of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) (Table 1).

Preparation of experimental diets

Four diets were formulated isonitrogenous and isocaloric by replacing fish meal by biofloc meal at 0, 7.5, 15 and 30%, called T0, T7, 5, 15 and 30 respectively (Table 2). Previously, the dry ingredients were ground to produce particles 250 micrometers. Then, the ingredients were homogenized and dried for nine hours at 50 ° C in an oven with forced

circulation. Subsequently, the diets were pelleted in stainless steel sieves of 1.40 mm and 0.85 to obtain the required particle size, returning to the forced circulation oven at 50 ° C for 30min, finishing drying. Diets were stored in plastic recipient, sealed and maintained at -18 ° C. Amino acids and fatty acids of experimental diets are presented in tables 1 and 3, respectively.

Statistical analysis

Initially verified normality and homoscedasticity of data water quality and animal performance obtained with the use of four diets developed for the experiment. Subsequently, the data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and regression. The Tukey test for comparison of means was used to determine significant differences between treatment means ($p < 0.05$). By Dunnett's test ($P < 0.001$) external control (commercial feed) was compared with each experimental treatment individually. The statistical analyzes were performed with the aid of SAS 9.2.

RESULTS

Water Quality

The water quality parameters remained within the safety levels for the species (Boyd, 1990), no significant difference ($p < 0.05$) between treatments. The mean ($\pm$ SD) of temperature, salinity, dissolved oxygen and pH were $27.67 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$, 31.17 ± 0.56 , 5.49 ± 0.49 mg L⁻¹ and 7.59 ± 0.11 , respectively. The average concentration of ammonia showed 0.10 ± 0.106 mg L⁻¹ nitrite and 2.04 ± 0.61 mg L⁻¹.

Rates of zootechnical performance

The table 4 shows the mean ($\pm$ SD) for final weight (FW), weight gain (WG), specific growth rate (SGR) and protein efficiency ratio (PER) of all treatments with diets and commercial feed. The Tukey test revealed differences between treatment means ($p < 0.05$) in the zootechnical performance of animals fed diets with different levels of substitution of fishmeal. Shrimps fed with T30 had better FW, WG, SGR and PER than the other treatments. However, the T7.5 did not contribute to the growth of the animals, resulting in lower performance similar to the T0 and T15 (Table 4).

However, Dunnett's test showed that all treatments differ ($P < 0.001$) of commercial feed used as external control. The four experimental diets were significantly higher than the commercial feed in terms of FW, WG, SGR and PER. The survival of farmed shrimp was above 99% in all treatments, with no significant differences ($p > .05$). According to Figure 1, the regressions A, B, C and D show a significant upward trend in the parameter FW, WG, SGR and PER when the fish meal was replaced by 30% by biofloc meal.

DISCUSSION

Many studies demonstrate the benefits of biofloc in shrimp breeding systems, including satisfactory growth rates and feed conversion, and provision of various nutrients by the microbial community (Burford et al., 2003, 2004; Wasielesky et al., 2006; Otoshi et al., 2011), playing an important role in providing supplemental food, digestion of proteins and maintenance of the shrimp (Xu et. al. 2013). The positive results of shrimp fed with biofloc meal in the present study may be related to the nutritional qualities of biofloc, because this was not used in nature but in the form of meal. Like manner, Bauer et al. (2012) used a combination of biofloc meal and soy protein concentrate in diets for juvenile's *L. vannamei*, successfully replacing fish meal with a mixture of 14% meal biofloc and 28% soy protein

concentrate, without harming the development or the immune system of animals. These results validate the assumption of the bioflocs in its dried form may also contribute to the nutrition of penaeid shrimp.

In the present study, the choice of the maximum percentage of replacement of fish meal by meal biofloc (30%) aimed to cater mainly levels of essential amino acids and gross energy required by the species. Segundo Avnimelech (2009), there is significant heterogeneity in the protein composition of bioflocs, registered changes from 24.64 to 40.60 percent protein. In the same sense, in a study conducted by Crab et al. (2010), it was demonstrated that the choice of carbon source used in the production of biofloc is of paramount importance for the protein and lipid. The same study utilized glucose, acetate, glycerol and glycerol + *Bacillus* how different treatments and bioflocs obtained with different percentages of protein / lipid, 28/5.4, 42/2.3; 43/2.9, and 58/3.5 respectively. Biofloc meal used in this study showed a low level of protein (247.1 g kg^{-1}), which can be related to the use of molasses (glucose) as carbon source for the production of this biofloc.

The result obtained in the quantification of amino acids essential biofloc meal (Table 2) showed a higher percentage to the minimum found by Avnimelech (2009) analyzed 12 different samples of biofloc produced in intensive systems of shrimp farming. With the exception of arginine (10.4 g kg^{-1}), which showed lower level. This result may be related to the high ash content (366 g kg^{-1}), a higher range of $70\text{-}320 \text{ g kg}^{-1}$, revealed in previous studies (Tacon et al. 2002; Azim et al. 2007; Ju et al. 2008). Furthermore, the low content of amino acids versus high ash content may be related to the high presence of acid insoluble oxides and silicates present in the mixed biofloco (Tacon et al. Al. 2002).

In this study, a diet containing higher level of replacement of fishmeal by meal biofloc (T30) showed the level of methionine (7.9 g kg^{-1}), below the required (9.0 g kg^{-1}) (Richard et al. 2010). In diets for marine shrimp methionine, and lysine, amino acids are essential for

proper maintenance and growth of the animals (Millamena et al. 1999), and microalgae major sources of these amino acids in bioflocs (Ju et al. 2008). Despite the lower level of methionine was not observed in T30 adverse effect on the performance in this treatment.

The bioflocs generally have low total lipid content, with concentrations ranging from $< 1-25 \text{ g kg}^{-1}$ (Azim et. al., 2008; Avnimelech, 2009; Kuhn et. al., 2009, 2010, Bauer et. al. 2012). In the present study the lipids consisted 4 g kg^{-1} biofloc composition used, resulting in the need for addition of 10 g kg^{-1} fish oil as a dietary supplement lipid T30, to permit the replacement of 120 g kg^{-1} from FP to BM (Table 2).

Shrimps use lipids from your diet as a source of energy, so their availability reduces the use of protein as an energy source resulting in better development of animals (Halver and Hardy, 2002). Lipids are also sources of essential fatty acids. According to NRC (2011) for a good growth performance is necessary nutritional requirements for linoleic acid (18:2 n-6) and linolenic acid (18:3 n-3) and the n-6 and n-3 HUFA (Highly unsaturated fatty acids), eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6 n-3) and arachidonic acid (ARA, 20:4 n-6) (Table 3).

According Glencross et al. (2002), the imbalance in the composition of essential fatty acids in diets for shrimp can cause undesirable effects on weight gain of the same. However, the uniformity in low-ARA (0.9 g kg^{-1}) found for all experimental diets did not impair the purpose of the research. However, the beneficial effects of ARA on the immune system of shrimp, such as coagulation, breathing and stress tolerance may have been supplied by the low level of stress and nutritional balanced set offered to the experiment (Aguilar et. al., 2012). Moreover, the levels of DHA and EPA in the experimental diets corresponded to a 2:1 ratio respectively (NRC, 2011), and the requirement $\text{kg}^{-1} 5 \text{ g}$ recommended for the species (Gonzalez-Felix et al. Al. 2003).

However, there is a lack of publications describing the profile and fatty acid content in bioflocs. In the present study to quantify the levels of SFA (Saturated fatty acids), HUFA (highly unsaturated fatty acids), PUFA (poly unsaturated fatty acids) and MUFA (Monounsaturated fatty acids) present in the biofloc meal (Table 3) had concentrations below the averages found by Azim and Little (2008), SFA (15.8 g kg^{-1}) HUFA (8.7 g kg^{-1}) PUFA (8.3 g kg^{-1}) and MUFA (9.2 g kg^{-1}) investigated the composition of bioflocs produced with varying levels of protein in diets. According to Lim et al. (1997), flagellates and ciliates have 16-25% of HUFA, contributing to the fatty acid profile essential biofloc.

The inclusion of maximum biofloc meal (T30) used in this study, does not harm the shrimp, favored the growth of the same, confirmed by other indices of growth performance (Figure 1). According Sudaryono et. al. (1995), weight gain (WG) is directly affected by the quality of protein used in the diet. Thus, the maintenance of improved growth performance of T30 may be related to the nutritional quality of biofloc meal the experimental diets. However, the replacement of less than 15% represented by T7, 5, resulted in growth performance less than the control treatment (T0), by regression indicating that the replacement from FP to BM, can only bring benefits to the shrimp growth, with substitutions greater than 20%.

Furthermore, by regression (Figure 1), there was an increase in the T30 protein efficiency ratio (PER). This may be related to the nutritional benefits of biofloc meal on enzymatic activity in the digestive tract of prawns (Moss et al. 2001). In a study by Xu et al. (2012a, 2013) demonstrated the positive effect of biofloc on the activity of digestive enzymes in shrimp, helping in digestion of proteins and eventually to its growth. Probably there is a promotion of the total activity of proteinases and amylases prawns, influenced by the ingestion of biofloc (Moss et al. 2001, Xu et al. 2012b).

During the test there was not any sign of rejection of food by shrimp factor along with high rates of survival in all treatments showed a good acceptance of diets and good health of

the animals. However, the commercial diet (RC), used as an external control, showed lower results for the ratios of FW, WG, SGR and PER compared individually with the other treatments. This result may have been influenced by the high content of lipids present in this diet (118.3 g kg⁻¹). Despite the lipids in the diet represent a source of energy, penaeid shrimps do not tolerate high levels in their diet (Halver and Hardy, 2002). Several studies using different lipid sources or combinations have suggested that lipid levels above 100 g kg⁻¹ can cause growth retardation of shrimps (Davis and Robinson, 1986; Kanazawa et al. 1977; D'Abramo and Sheen, 1991). Thus, are recommended levels of 40 to 90g kg⁻¹ lipid in diets for marine shrimp (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000).

According to Kuhn et. al. (2010), the initial estimates for production bioflocs in biological reactors are approximately 400 to 1000 US\$ per ton of dry ingredient, designed to obtain values less than fishmeal. During the period January 2012 to June 2013, the global market for fishmeal derived a range of approximately 1292 to 1919 US\$/t, obtaining an average of US\$ 1650/t in the same period (FAO, 2013). However, this study suggests the use of excess biofloc in aquaculture system BFT would be discarded, reducing production costs biofloc meal and reducing the wastewater load on the environment.

The good results of growth performance of animals fed diets containing biofloc meal to point out as a viable replacement of fishmeal. Its replacement by up to 30% by biofloc meal proved feasible in diets for post-larvae of *L. vannamei*. This ingredient may represent an alternative strategy to support sustainable shrimp farming, reducing production costs and dependence on fishmeal as well as environmental impacts. Future studies are needed to examine the feasibility of substitution greater than 30%.

ACKNOWLEDGMENTS

To Fundação de Amparo a Ciencia e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

6. REFERENCES

- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.
- Avnimelech, Y., 2009a. Biofloc technology - A practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Azim ME, Little DC, Bron JE. 2007. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C/N ratio in feed and implications for fish culture. *Bioresource Technology* 99:3590-3599.
- Azim, M E, Little, D C, Bron, J.E., 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource technology* 99, 3590–9.
- Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29–35.
- Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Tesser, M.B., Wasielesky, W., Poersch, L.H.S., 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 342-343, 112–116.
- 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.

- Burford, M. a, Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research* 41, 559–567.
- Cruz-Suárez, L.E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Scholz, U., Ricque-Marie, D., 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture* 272, 466–476.
- Davis, D. A., & Arnold, C. R. (2000). Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 185, 291–298.
- Davis, D.A. & Robinson, E.H. (1986) Estimation of the dietary lipid requirement level of the white crayfish *Procambarus acutus acutus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 17, 37–43.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research* 43, no–no.
- FAO, 2012. The state of world fisheries and aquaculture, Roma, 2012.
- FAO, 2013. International Commodity Prices, on: faostat3.fao.org/home/#DOWNLOAD[accesse on 15 07 2013].
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P. et al. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquacult Res.*, 38, 551–579.
- Glencross, B. G., Smith, D. M., & Thomas, M. R. (2002). The effects of dietary lipid amount and fatty-acid composition on the digestibility of lipids by the prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 205, 157–169.

- González-Félix, M.L., Gatlin, D.M., Lawrence, A.L., Perez-Velazquez, M., 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. *Aquaculture Nutrition* 9, 115–122.
- Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. *Fish Nutrition*, 3rd ed.
- Harter, T., Buhrke, F., Kumar, V., Focken, U., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2011). Substitution of fish meal by *Jatropha curcas* kernel meal: Effects on growth performance and body composition of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition*, 17(5), 542–548.
- Hertrampf, J.W. & Piedad-Pascual, F. (2000) *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*, pp. 573. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Jiang, H.-B., Chen, L.-Q., Qin, J.-G., Gao, L.-J., Li, E.-C., Yu, N., Sun, S.-M., Jiang, X.-Q., 2013. Partial or complete substitution of fish meal with soybean meal and cottonseed meal in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* diets. *Aquaculture International* 21, 617–628.
- Johnson, W., Chen, S., 2006. Performance evaluation of radial/vertical flow clarification applied to recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 34, 47–55.
- Ju, Z.Y., Deng, D.-F., Dominy, W., 2012. A defatted microalgae (*Haematococcus pluvialis*) meal as a protein ingredient to partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquaculture* 354-355, 50–55.
- Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C., David Horgen, F., 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research* 39, 118–133.

- Lim, C., Ako, H., Brown, C.L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture* 151, 143–153.
- 115
- Kanazawa, A., Teshima, S. and Tokiwa, S., 1977. Nutritional requirements lipids on growth. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 43: 849-856
- Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Lawrence, Addison L., Marsh, L., Flick, G.J., 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture* 296, 51–57.
- Kuhn, D.D., Lawrence, Addison L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L., Flick, G.J., 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303, 28–33.
- Millamena, O.M., Bautista-Tereul, M.N., Reyes, O.S., Kanazawa, A., 1998. Requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* for lysine and arginine. *Aquaculture* 164, 95–104.
- Millamena, O.M., Bautista-Tereul, M.N., Reyes, O.S., Kanazawa, A., 1999. Quantitative dietary requirement of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan. *Aquaculture* 179, 69–179.
- Moss, S.M., 2000. Benefits of a Microbially Dominated Intensive Shrimp Prod
- Moss, S.M., Divakaran, S. & Kim, B.G. (2001) Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Res.*, 32, 125– 132.
- National Research Council (NRC). (2011) Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, pp. 360. National academies Press. Washington, DC, USA

- Otoshi, C.A., Moss, D.R., Moss, S.M., 2011. Growth-enhancing effect of pond water on four size classes of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42, 417–422.
- Oujifard, A., Seyfabadi, J., Kenari, A.A., Rezaei, M., 2012. Fish meal replacement with rice protein concentrate in a practical diet for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931. *Aquaculture International* 20, 117–129.
- Richard, L., Blanc, P.P., Rigolet, V., Kaushik, S.J., Geurden, I., 2010. Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilisation efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. *The British Journal of Nutrition* 103, 984–995.
- Sheen, S.S., D'Abramo, L.R., 1991. Response of juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to different levels of a cod liver/corn oil mixture in a semi-purified diet. *Aquaculture* 93, 121–138.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets 8, 121–137.
- Wasielensky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396–403.
- Xu, W., Pan, L., Zhao, D., Huang, J., 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture* 350-353, 147–153.
- Xu, W.-J., Pan, L.-Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356-357, 147–152.

- Xu, W.J., Pan, L.Q., Sun, X.H., Huang, J., 2013. Effects of bioflocs on water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture Research* 44, 1093–1102.
- Yue, Y., Liu, Y., Tian, L., Gan, L., Yang, H., Liang, G., 2012. Effects of replacing fish meal with soybean meal and peanut meal on growth, feed utilization and haemolymph indexes for juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture Research* 43, 1687–1696.

Table 1. Proximate composition and amino acid profile of meal bioflocs and experimental diets. (g kg⁻¹ dry matter).

	(%) Replacement of FM/BM					Commercial feed	Recommended levels
	BM	T 0	T 7,5	T 15	T 30		
Proximate composition							
Crud Protein	247,1	436	435,5	447	431,2	419,7	
Crud Fat	4	83	83,1	82,4	79,3	118,3	
Ash	366	101,6	103	103,1	117,6	97,9	
Moisture	86,3	173,7	175	174	198,3	111,7	
^f ENN	296,6	205,7	203,4	193,5	173,6	252,4	
Gross Energy (Kj g ⁻¹)	12,6	20,18	19,79	19,83	19,58	10,98	
Essential amino acids							
Arginine	10,4	28,1	27,1	28,8	28,3		19,0 ^b
Histidine	3,3	11,5	10,8	10,8	9,7		8,0 ^c
Isoleucine	8,2	15,2	14,5	15,0	14,2		10,0 ^c
Leucine	15,6	29,1	28,1	28,5	27,0		17,0 ^c
Lysine	8,2	28,0	26,8	26,6	24,4		21,0 ^b
Methionine	2,7	10,3	9,8	9,1	7,9		9,0 ^d
Phenylalanine	10,7	17,3	16,7	17,0	16,2		14,0 ^c
Threonin	10	17,0	16,6	16,7	15,7		14,0 ^e
Valine	13,8	21,8	20,9	21,6	20,5		14,0 ^f
Monessential amino acids							
Glutamic acid	21,6	66,7	65	66,4	63,1		
Aspartic acid	11,9	38,5	37,2	38,6	37,3		
Glycine	15,6	32,2	31,4	35,6	37,5		
Proline	10	24,5	24,1	26,5	27,4		
Alanine	15,1	25,9	25,3	26,6	26,5		
Tyrosine	7,2	12,7	12,1	12,2	11,4		
Cystine	1,3	4,3	4,4	4,3	4		
Serine	10,1	19,3	19	19,4	18,7		
Taurine	0,1	2,4	2,2	2	1,6		

^aENN (Carbohydrates for easier digestion) expressed by ENN= 100-(CP+EE+CZ+UMID)^bMillamena et al. (1998).^cMillamena et al. (1999).^dRichard et al. (2010).^eMillamena et al. (1997).^fTeshima et al. (2002).

Table 2 - Formulation of diets for post larvae of *L. vannamei* with different levels of substitution of fish meal by meal biofloco (g kg⁻¹ dry matter).

Ingredients	(%) Replacement of FM/BM			
	T 0	T 7,5	T 15	T 30
Fishmeal	400	370	340	280
Biofloc meal	0	30	60	120
Soybean meal	130	130	160	185
Wheat bran	140	140	140	135
Wheat flour	230	230	195	150
Yeast	25	30	30	30
Gelatin	10	15	20	30
Fish oil	30	31	35	40
mixture of vitamins and minerals	10	10	10	10
Bentonite	25	14	10	20

Minimum levels of protein and lipids and maximum levels of ash and moisture in the feed established by the manufacturer b Mineral and vitamin mix (Supremais, Campinas-SP): Composition per kg the product: Vit. A = 1.200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg;vit. K3 = 2400 mg; vit. B1 = 4800 mg; vit. B2 = 4800 mg; vit. B6 = 4000 mg; vit. B12 = 4800 mg; folic acid = 1200 mg; Calcium pantothenate = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; Biotin = 48 mg; Choline = 65.000 mg; Nicotinic acid = 24.000 mg; Fe = 10.000 g; Cu = 600 mg; Mn = 4000 mg; Zn = 6000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg e Se = 20 mg. c NFE (carbohydrate digestion easier) NFE=100– (crude protein + crude fat + ash + moisture)

Table 3. Fatty acid composition of experimental diets and meal biofloco (BM) (g kg⁻¹ dry matter).

	(%) Replacement of FM/BM				BM	(%) Recommended levels
	T 0	T 7,5	T 15	T 30		
C14:0	2,8	02,7	3,0	2,6		
C16:0	15,0	14,8	15,6	14,6		
C17:0	0,2	0,2	0,2	0,2		
C18:0	3,5	3,4	3,5	3,3		
C18:1n9	15,2	15,5	15,4	15,2		
C18:2n6c	15,6	15,7	15,9	16,4		12,0 ¹
C18:3n3	01,7	1,7	1,8	1,8		
C20:4n6	0,9	0,9	0,9	0,9		5,0 ²
SFA	22,4	22,0	23,4	21,7	2,4	
MUFA	21,0	21,1	21,3	20,6	1,0	
EPA	07,6	7,6	7,1	6,5		5,0 ²
DHA	13,1	13,2	11,5	10,7		5,0 ²
PUFA	39,6	39,9	37,8	37,1	0,5	
HUFA	60,6	61,0	59,1	57,6	1,5	
Omega-3	22,5	22,6	20,4	19,1		
Omega-6	17,0	17,2	17,3	17,9		

¹NRC, 2011, *P.monodon*²NRC, 2011, *L.vannamei*

SFA: saturated fatty acids.

MUFA: monounsaturated fatty acids.

EPA = Ác. Eicosapentaenoic (C20:5n-3).

DHA = Ác. Docosahexaenoic (22:6n-3).

PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

HUFA: Highly unsaturated fatty acids = C20:4n-6,

EPA,DHA.

Table 4. Growth performance of post-larvae of *L. vannamei* fed for 42 days with experimental diets replacing fish meal by meal biofloco.

Treatments	Parameters				
	FW (g)	WG (g)	SGR (% dia-1)	PER	Survival
T 0	0,198 ± 0,022 ^b	0,196 ± 0,022 ^b	10,933 ± 0,262 ^b	0,0044 ± 0,0005 ^b	100 ± 0 ^a
T 7,5	0,154 ± 0,003 ^c	0,152 ± 0,003 ^c	10,337 ± 0,050 ^c	0,0034 ± 0,0001 ^c	99,1 ± 0,404 ^a
T 15	0,179 ± 0,014 ^{bc}	0,177 ± 0,014 ^{bc}	10,691 ± 0,184 ^{bc}	0,0039 ± 0,0003 ^{bc}	99,8 ± 0,404 ^a
T 30	0,278 ± 0,010 ^a	0,276 ± 0,010 ^a	11,749 ± 0,082 ^a	0,0064 ± 0,0003 ^a	99,3 ± 0,700 ^a
CF	0,100 ± 0,006	0,098 ± 0,006	9,305 ± 0,137	0,0023 ± 0,0002	99,1 ± 0,808

Different superscript letters differ significantly by Tukey test ($P < 0.05$). FW= Final Weight; WG = Weight gain; SGR = Specific growth Rate; PER = protein Efficiency, CF (Commercial feed); initial weight of the shrimp = 0,0023 ± 0,00026g.

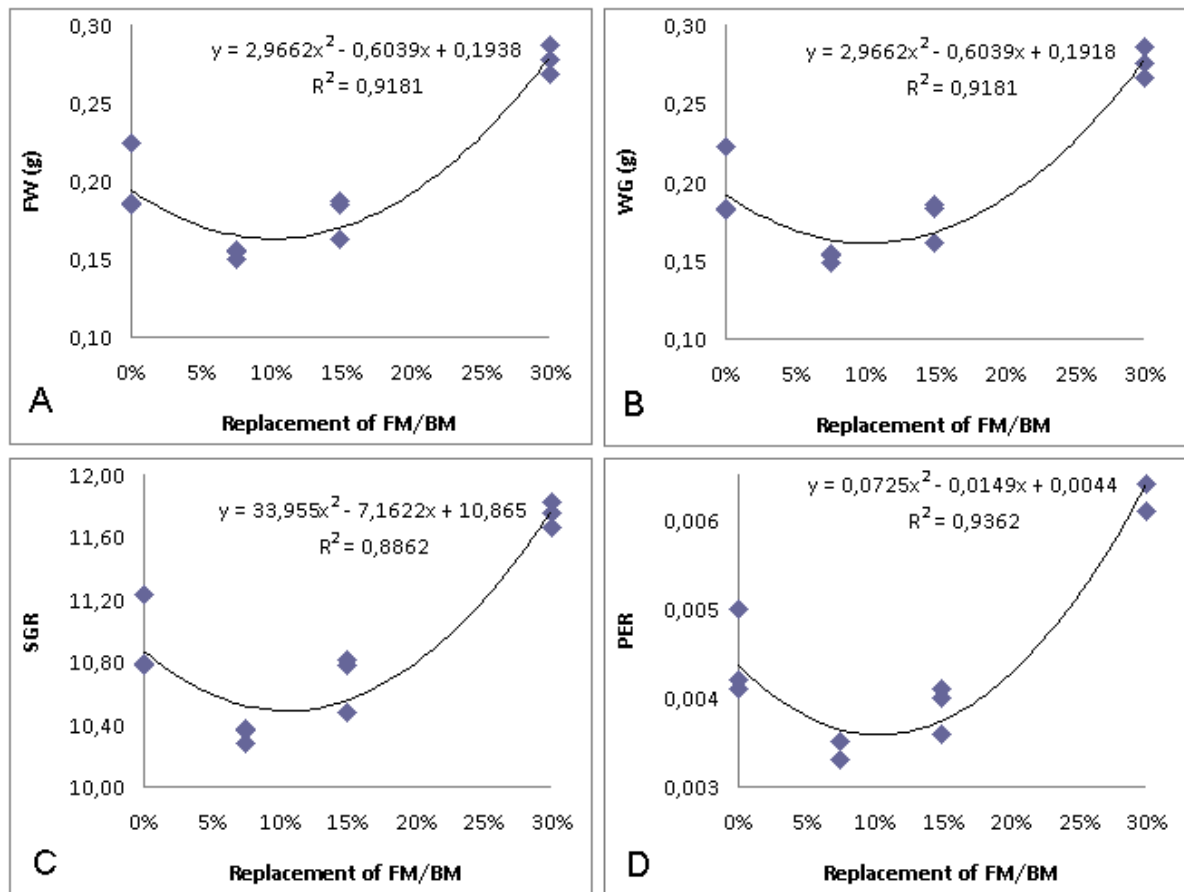


Figure 1. Regressions of final weight (A), weight gain (B), specific rowth rate (C) and protein efficiency ratio (D) post-larvae of *Litopenaeus vannamei* fed diets with increasing substitution of fishmeal (FM) biofloc per meal (BM).

5. ANEXO (Normas da Revista Aquaculture Nutrition)

Periódico : Aquaculture Nutrition Site:
[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095) ISSN: 1365-2095 Fator de impacto: 2.179

Preparation of the Manuscript

All sections of the manuscript should be double-spaced and with 30mm margins. Articles are accepted for publication only at the discretion of the Editor(s). Authors will receive prompt acknowledgement of receipt of their paper and a decision will be reached within 3 months of receipt. A manuscript should consist of the following sections: Title

page

This should include: the full title of the paper; the full names of all the authors; the name(s) and address(es) of the institution(s) at which the work was carried out (the present addresses of the authors, if different from the above, should appear in a footnote); the name, address, and telephone and fax numbers of the author to whom all correspondence and proofs should be sent; a suggested running title of not more than fifty characters, including spaces; and six key words to aid indexing. Main

text

Generally, all papers should be divided into the following sections and appear in the order: (1) Abstract or Summary, not exceeding 150-200 words, (2) Introduction, (3) Materials and Methods, (4) Results, (5) Discussion, (6) Acknowledgements, (7) References, (8) Figure legends, (9) Tables, (10) Figures. The Results and Discussion sections may be combined and may contain subheadings.

The Materials and Methods section should be sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced. Trade names should be capitalized and the manufacturer's name and address given.

All pages must be numbered consecutively from the title page, and include the acknowledgements, references and figure legends, which should be submitted on separate sheets following the main text. The preferred position of tables and figures in the text should be indicated in the left-hand margin. Units and spellings Système International (SI) units should be used. The salinity of sea water should be given as g L⁻¹. Use the form g mL⁻¹ not g/mL. Avoid the use of g per 100g, for example in food composition, use g kg⁻¹. If other units are used, these should be defined on first appearance in terms of SI units, e.g. mmHg. Spelling should conform to that used in the Concise Oxford Dictionary published by Oxford

University Press. Abbreviations of chemical and other names should be defined when first mentioned in the text unless they are commonly used and internationally known and accepted. Scientific names and statistics Complete scientific names should be given when organisms are first mentioned in the text and in tables, figures and key words. The generic name may subsequently be abbreviated to the initial, e.g. *Gadus morhua* L., otherwise *G. morhua*. Carry out and describe all appropriate statistical analyses. References

(Harvard style)

References should be cited in the text by author and date, e.g. Lie & Hemre (1990). Joint authors should be referred to by et al. if there are more than two, e.g. Hemre et al. (1990). More than one paper from the same author(s) in the same year must be identified by the letters a, b, c, etc., placed after the year of publication. Listings of references in the text should be chronological. At the end of the paper, references should be listed alphabetically according to the first named author. The full titles of papers, chapters and books should be given, with the first and last page numbers; journal titles should be abbreviated according to World List of Scientific Periodicals. Lie, O., Lied, E. & Lambertsen, G. (1988) Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus fat* versus protein content in the feed. *Aquaculture*, 69, 333-341.

morhua):

Lall, S.P. (1989) The minerals. In: *Fish Nutrition* (Halver, J.E. ed.), 2nd edn, Vol. 1, pp. 219-257. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA. Work that has not been accepted for publication and personal communications should not appear in the reference list, but may be referred to in the text (e.g. A. Author, unpubl. observ.; A.N. Other, pers. comm.). It is the authors' responsibility to obtain permission from colleagues to include their work as a personal communication. A letter of permission should accompany the manuscript. References in for reference reference styles can management be and Articles

We recommend the use of a tool such as EndNote () or Reference Manager (<http://www.refman.com/>) EndNote

Searched formatting. For here:<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp> Reference

Manager reference here:<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp> Illustrations

styles and can be searched for tables These should be referred to in the text as figures using Arabic numbers, e.g. Fig. 1, Fig. 2, etc., in order of appearance. Three copies of each figure should be submitted and each figure should be marked on the back with its appropriate number, together with the name(s) of the author(s) and the title of the paper. Where there is

doubt as to the orientation of an illustration the top should be marked with an arrow. Photographs and photomicrographs should be unmounted glossy prints and should not be retouched. Labelling should be clearly indicated on an overlay or photocopy. Colour illustrations are acceptable when found necessary by the Editor; however, the author may be asked to contribute towards the cost of printing. Line drawings should be on separate sheets of white paper in black indelible ink (dot matrix illustrations are not permitted); lettering should be on an overlay or photocopy and should be no less than 4 mm high for a 50% reduction. Please note, each figure should have a separate legend; these should be grouped on a separate page at the end of the manuscript. All symbols and abbreviations should be clearly explained. Tables should be self-explanatory and include only essential data. Each table must be typewritten on a separate sheet and should be numbered consecutively with Arabic numerals, e.g. Table 1, and given a short caption. No vertical rules should be used. Units should appear in parentheses in the column headings and not in the body of the table. All abbreviations should be defined in a footnote. All tables and figures that are reproduced from a previously published source must be accompanied by a letter of permission from the Publisher or copyright owner.

Colour figures

It is the policy of Aquaculture Nutrition for authors to pay the full cost for the reproduction in print of their colour artwork. Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Wiley-Blackwell requires you to complete and return a colour work agreement form before your paper can be published. This form can be downloaded as a PDF*[here](#). If you are unable to access the internet, or are unable to download the form, please contact the Production Editor at anu@wiley.com