



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**SUCESSÃO MICROBIANA NA DEGRADAÇÃO DE SUBSTRATOS  
ORGÂNICOS ASSOCIADOS ÀS LEVEDURAS (*Saccharomyces  
cerevisiae*): POTENCIAL PARA UTILIZAÇÃO NA AQUICULTURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

***Orientador: Dr. Edegar Roberto Andreatta***

***Co-orientador: Dr. Paulo César Abreu***

CLAUDIO KINACH LOUREIRO

FLORIANÓPOLIS - SC

2006

LOUREIRO, Cláudio Kinach,

Sucessão microbiana na degradação de substratos orgânicos associados às leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*): potencial para utilização na aquicultura. - 2006, F. tabs.37, grafs.

Orientador: Edegar Roberto Andreatta

Co-Orientador: Paulo Cesar Oliveira Vergne de Abreu

Dissertação de Mestrado em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

1. Alfafa; 2. Bagaço de cana-de-açúcar; 3. *Saccharomyces cerevisiae*; 4. Microorganismos; 5. Aquicultura.

**Sucessão microbiana na degradação de substratos orgânicos associados às leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*): potencial para utilização na aqüicultura**

Por

**CLÁUDIO KINACH LOUREIRO**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQÜICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Profa. Débora Machado Fracalossi, Dra.  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Edemar Roberto Andreatta - *Orientador*

---

Dr. Elpídio Beltrame

---

Dr. Ronaldo Olivera Cavalli

## DEDICATÓRIA

Eu dedico este trabalho aos meus queridos pais  
e à minha linda Vó Cida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço o professor Edegar Roberto Andreatta pela orientação durante a realização do mestrado;

Meus agradecimentos ao amigo Carlito Klunk pela atenção prestada nos momentos de precisão;

Aos professores Paulo César Abreu e Clarisse Odebrecht pela valiosa orientação e paciência durante o experimento no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos (FURG), e pelas oportunidades que me ofereceram;

Meus agradecimentos ao professor Duda Bersano pela amizade e motivação durante minha caminhada;

Aos amigos Alessandro, Valdema e Francis do Laboratório de Zooplâncton – FURG;

Meus sinceros agradecimentos aos grandes amigos de Rio Grande: Digui, Rodrigo Seqüela, Carlos Fujita (Japa), Márcio (Cabeção), Rafael Arantes, Maria Luiza (Malú), Fábio Roselet, Bia, Arnaldo (Catatau), Curiri, Joca e Afrânio pelo auxílio, e por tornarem mais alegres meus dias de dificuldade;

Aos inesquecíveis amigos de turma pelos momentos vividos;

Aos meus queridos pais Plínio Marcondes Loureiro Filho e Claudete Kinach Loureiro pelo apoio incondicional em todas as minhas decisões;

Ao meu Tio Mário (*in memoriam*) e minha tia Claudenice pelo auxílio prestado quando precisei;

Ao meu irmão Plínio Neto e minha cunhada Titi pela valiosa ajuda prestada nos momentos em que não pude estar presente;

Aos amigos José Carvalho, Daniel (Polaco), Carlinhos (Carlão), Jabutí, pela amizade;

Meus agradecimentos a indescritível Graziela Medaglia pela companhia, apoio, carinho e paciência durante minha jornada;

Agradeço a CAPES por viabilizar a execução deste projeto;

Em fim, a todos que me ajudaram de alguma forma na execução deste trabalho e não estão presentes nesta lista.

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTO

SUMARIO

ABSTRACT

RESUMO

ABSTRACT

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>9</b>
<i>Bactérias</i> .....	11
<i>Flagelados</i> .....	12
<i>Leveduras</i> .....	12
<i>Nematódeos</i> .....	13
<i>Ecologia de Microorganismos</i> .....	14
<i>Microorganismos e Aqüicultura</i> .....	15
OBJETIVOS.....	17
<i>Objetivo geral</i> .....	17
<i>Objetivos específicos</i> .....	17
<b>SUCESSÃO MICROBIANA NA DEGRADAÇÃO DE SUBSTRATOS ORGÂNICOS ASSOCIADOS ÀS LEVEDURAS (SACCHAROMYCES CEREVISIAE): POTENCIAL PARA UTILIZAÇÃO NA AQUICULTURA? .....</b>	<b>18</b>
ABSTRACT .....	18
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
<i>Delineamento e unidades experimentais</i> .....	20
<i>Coleta das Amostras</i> .....	20
<i>Temperatura</i> .....	21
<i>Quantificação de bactérias</i> .....	21
<i>Determinação do biovolume e biomassa das bactérias</i> .....	22
<i>Quantificação de leveduras, flagelados e nematódeos</i> .....	22
<i>Determinação do biovolume para flagelados</i> .....	22
RESULTADOS .....	23
DISCUSSÃO.....	28
<i>Estratégia de produção de microorganismos para o cultivo de diferentes organismos aquáticos</i> .....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	36

## RESUMO

A caracterização da sucessão microbiana desenvolvida por “indutores de crescimento de zooplâncton” foi realizada através de análises quali-quantitativas destes meios de cultivo. Também foi testada a influência exercida pela *Saccharomyces cerevisiae* sobre as características da cadeia microbiana induzida, quando as leveduras foram associadas aos substratos orgânicos adicionados aos meios. Os testes foram executados utilizando dois diferentes substratos (alfafa e bagaço de cana-de-açúcar), divididos em quatro tratamentos: 1- bagaço de cana-de-açúcar (bc), 2- bagaço de cana-de-açúcar com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (bcl), 3- alfafa (a) e 4- alfafa com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (al). Dados referentes à abundância de leveduras, bactérias livres e aderidas a partículas, flagelados e nematódeos, bem como, dados de biovolume das bactérias e flagelados, foram comparados entre os tratamentos. Os resultados evidenciaram a superior capacidade da alfafa em desenvolver grandes populações de microorganismos durante sua degradação, levando à produção de organismos maiores como os nematódeos, o mesmo não aconteceu nos tratamentos a base de bagaço de cana-de-açúcar. Concluiu-se que este fato está relacionado a baixa razão C:N da alfafa, que propiciou uma maior disponibilidade de elementos nitrogenados que favoreceram o crescimento dos microorganismos. Verificou-se, também que as leveduras serviram de alimento aos microorganismos nos tratamentos onde o desenvolvimento da população bacteriana foi inferior.

## ABSTRACT

Characterization of microbial succession developed by “zooplankton growth inducers” was accomplished through quali-quantitative analysis of culture mediums. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* on characteristics of the induced microbial chain was also tested, when this yeast was associated to organic substrates added to the mediums. Testes were carried out using two different substrates (alfalfa and sugarcane bagasse), divided into four treatments: 1- sugarcane bagasse (sb), 2- sugarcane bagasse with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (sby), 3- alfalfa (a) and 4- alfalfa with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (ay). Data regarding abundance of yeast, free and particulate-adhered bacteria, flagellates and nematodes, as well as data on bacteria and flagellate biovolume, were compared among treatments. Results evidenced that alfalfa showed a superior capacity in developing large populations of microorganisms during its degradation, leading to the production of larger organisms such as nematodes. On the other hand, treatments based on sugarcane bagasse did not show such high capacity. It was concluded that this is related to alfalfa’s low C:N proportion, which provides large availability of nitrogen compounds, leading to higher microorganism growth. It was also verified that yeast served as food for microorganisms in treatments where bacterial population development was inferior.



## INTRODUÇÃO GERAL

Os microorganismos ocupam todo e qualquer corpo d'água, desde poças até ambientes extremos, onde animais ou plantas são incapazes de sobreviver devido a alta pressão, alta temperatura, ou alta salinidade. O ambiente aquático sofre grande efeito dos microorganismos sobre vários aspectos. Eles desempenham importante papel na ciclagem de nutrientes, no suprimento e consumo de oxigênio, como fonte de alimento para grandes organismos e como potenciais patógenos para animais e plantas. Estes processos exercidos pelos microorganismos têm importante repercussão nas atividades de produção aquícola, podendo interferir significativamente na sua produção (HOROWITZ & HOROWITZ, 2002).

A maioria dos microorganismos são seres unicelulares microscópicos, podendo pertencer a dois diferentes grupos. Os procariontes (bactérias e cianobactérias) possuem estrutura celular simplificada, sem membrana que separe o material genético no citoplasma (Figura 1). Sendo assim, o DNA dos procariontes encontra-se espalhado por todo o citoplasma celular. Além disso, as bactérias não possuem estruturas especializadas para executar funções específicas, como cloroplastos e mitocôndrias. As atividades de fotossíntese e respiração ocorrem no citoplasma (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1991).

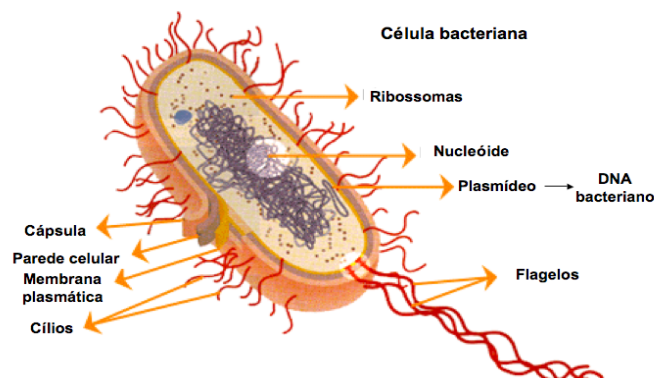


Figura 1: Célula procarionte

Os eucariontes (algas, fungos e protozoários), por outro lado, possuem complexa estrutura celular, com o material genético envolto por uma membrana na região chamada núcleo (Figura 2). As células eucarióticas apresentam o citoplasma compartimentalizado com presença de organelas como mitocôndrias, lisossomos, vacúolos, retículo endoplasmático entre outros (STOLP, 1988; BROCK & MADIGAN, 1991; SCHELEGEL, 1995; RAVEN, 1996 e KIRCHMAN, 2000).

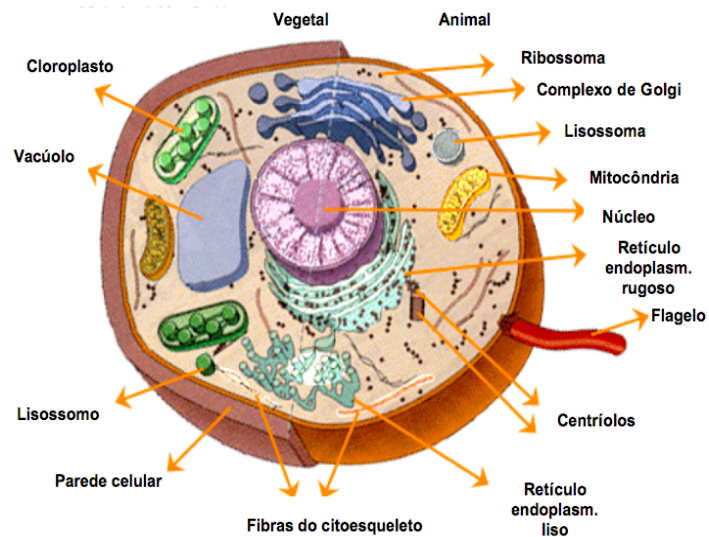


Figura 2: Célula eucarionte (Animal/Vegetal)

O mundo dos microorganismos é constituído por bactérias, protozoários (flagelados, ciliados e amebas), vírus, fungos. Alguns organismos maiores como os nematódeos também compõem a microbiota especialmente por predarem diretamente sobre as bactérias e outros microorganismos. A seguir será feita uma breve descrição dos principais grupos de microorganismos observados neste estudo (Figura 3).

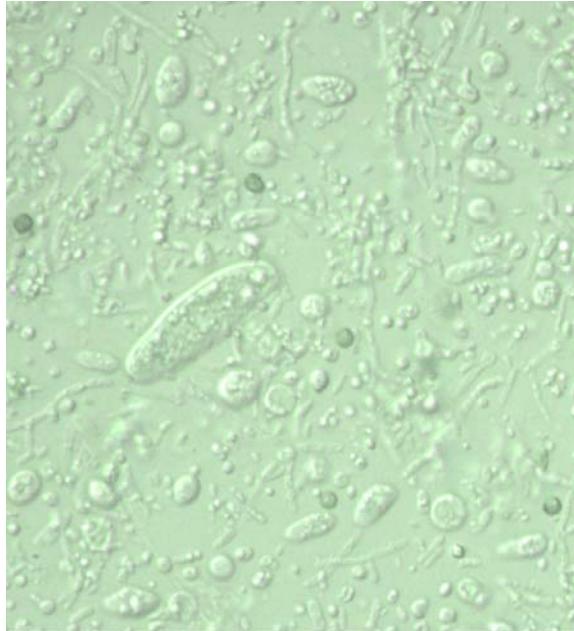


Figura 3: Comunidade microbiana induzida

### **Bactérias**

As bactérias constituem os menores organismos, o mais antigo e o mais abundante grupo de organismos do nosso planeta. A maioria não ultrapassa o tamanho de 1 micrômetro de diâmetro. Entretanto algumas podem alcançar 30 ou mais micrômetros de comprimento. As bactérias são células procarióticas envoltas por uma rígida parede celular contendo proteína, polissacarídeos e lipídeos. Apresenta uma membrana celular, e o citoplasma contém DNA e RNA utilizados na reprodução (RAVEN *et al.* 1976; BOLD, *et al.* 1987; ALBERTS *et al.* 1989).

As bactérias podem ser aeróbicas ou anaeróbicas, ocorrendo em todos os tipos de habitats, principalmente devido à sua grande versatilidade metabólica. Sobrevivem em muitos ambientes que não sustentam outras formas de vida como nos resíduos gelados da Antártica, nas águas ferventes de fontes termais e nas profundezas dos oceanos.

Todavia, as bactérias são mais importantes pelo papel que representam em todos os ecossistemas do planeta, pois como os fungos, elas encarregam-se da decomposição da matéria orgânica, e aliada a outros microorganismos convertem grandes quantidades dessa matéria em nutrientes inorgânicos (RAVEN *et al.* 1976; ALBERTS *et al.* 1989; BUBEL & FITZSIMMONS, 1989; DAY, 1989; HOROWITZ & HOROWITZ, 2002).

As bactérias aderidas à substratos vegetais ou à superfície dos sedimentos podem servir de alimento a uma maior variedade de organismos da macrofauna quando comparadas às bactérias de vida livre (MORIARTY, 1987).

### **Flagelados**

O nível de organização celular é a única característica pela qual podem ser descritos todos os protozoários. São organismos unicelulares eucarióticos de vida livre e exibem uma ampla variedade de formas e comportamento, podendo ser fotossintetizantes (fitoflagelados) ou carnívoros (zooflagelados), móveis ou sedentários. Sua anatomia inclui cerdas como estruturas sensoriais, fotoreceptores, flagelos, apêndices, peças bucais e músculo contrátil (ALBERTS *et al.*, 1989; BARNES, 1990; RUPPERT & BARNES, 1994; PEREIRA & BOEGER, 2002). A maioria dos protozoários habitam o mar, águas doces e poluídas, o solo e a matéria orgânica em decomposição (STORER & USINGER, 1979; BARNES, 1990).

Segundo Zhukova & Kharlamenko (1999), do ponto de vista nutricional os flagelados são capazes de sintetizar ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), enriquecendo a composição bioquímica da alça microbiana (“microbial loop”) i.e., servindo como um ótimo complemento alimentar.

De acordo com Sher & Sher (2000), dentre os organismos flagelados existe uma ampla variedade morfológica e filogenética, incluindo os flagelados fototróficos, fagotróficos e mixotróficos que variam de 2 a 70 µm de comprimento.

### **Leveduras**

As leveduras são fungos unicelulares que se reproduzem por brotamento (Figura 4), espécies da ordem *Saccharomycetales* podem se desenvolver no néctar de flores, resinas de árvores, superfícies de plantas, nas águas doce e marinha, no solo e presentes em vários frutos (RAVEN, *et al.*, 1976; BOLD *et al.*, 1987; ALEXOPOULOS *et al.*, 1996).

A importância deste grupo de fungos está relacionado à panificação, cervejarias, destilarias, na produção de álcool combustível, como suplemento alimentar, na formação da riboflavina e ácido cítrico, na contaminação de alimentos, como patógenos de plantas e humanos, como micoparasitas, e como organismos para estudos científicos (BOLD *et al.*, 1987; ALEXOPOULOS *et al.*, 1996).

Os fungos, juntamente com as bactérias, são responsáveis pela decomposição de matéria orgânica, liberando gás carbônico e nutrientes inorgânicos para o meio, disponibilizando-os novamente para outros seres vivos. Estes fungos são equipados com um poderoso arsenal de enzimas que são secretadas pela parede celular, e decompõem produtos orgânicos que posteriormente são ingeridos por absorção (RAVEN *et al.*, 1976).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma rica fonte de proteínas, fibras solúveis e minerais (YAMADA e SGARBIERI, 2005). Segundo PREDOMO *et al.* (2004), a composição química desta levedura é composta de 8,4% de nitrogênio, motivo pelo qual foi testada como suplemento alimentar na produção de microorganismos

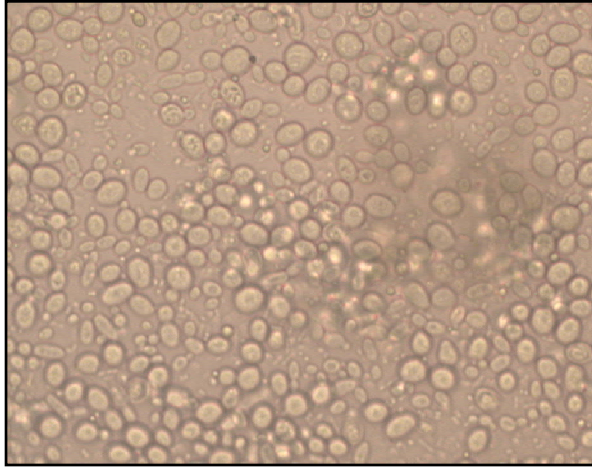


Figura 4: Leveduras *Saccharomyces cerevisiae*

### **Nematódeos**

Os nematódeos constituem um dos mais numerosos grupos de animais multicelulares de vida livre (Figura 5). São encontrados no mar, em ambientes aquáticos dulcícolas, no solo, raízes de plantas, sementes e tecidos ou líquidos de animais. Ocorrem desde as regiões polares, até os trópicos e em todos os tipos de ambientes, nas mais elevadas montanhas aos mais profundos oceanos, graças as suas variadas e complexas adaptações. Os nematódeos são geralmente pequenos, mas alguns chegam a atingir 1 metro de comprimento (STORER & USINGER, 1979; RUPPERT & BARNES, 1994; PEREIRA & BOERGER, 2002).

Warwick (1987) afirma que os nematódeos são encontrados em grandes quantidades no material vegetal em decomposição, como nos derivados de macroalgas e macrófitas terrestres, e que os principais nematódeos encontrados no detrito são seletivos consumidores de bactérias, podendo consumir organismos maiores do protozoa. O mesmo autor, utilizando diferentes meios de cultura para nematódeos, concluiu que o nitrogênio disponibilizado pelo detrito de plantas ofereceu melhores condições para o crescimento destes organismos, e como grandes consumidores de bactérias, estes metazoários tem importante papel na decomposição da matéria orgânica.

Análises bioquímicas realizadas em nematódeos indicaram níveis de proteína, lipídeos e carboidratos de 48,3%, 17,3%, 31,3% respectivamente sobre o peso seco. Alguns pesquisadores afirmam que este organismo possa ser incluído na dieta de algumas espécies de interesse para aquicultura como os camarões peneídeos. O fornecimento de nematódeos em conjunto, ou substituindo totalmente os náuplius de *Artemia* sp. utilizados em larviculturas de camarão, pode ser adotado sem redução no crescimento, sobrevivência, ou taxa de crescimento (BIEDENBACH *et al.* 1989).

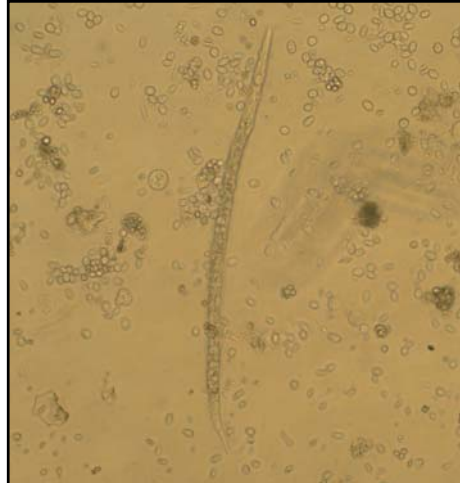


Figura 5: Nematódeo

### Ecologia de Microorganismos

As funções e atividades dos microorganismos são fatores-chave no entendimento do ambiente de cultivo em sistemas na aquicultura. Novas metodologias relacionadas a ecologia microbiana têm sido desenvolvidas para o estudo dos microorganismos aquáticos e suas interações.

O microscópio de epifluorescência tornou-se uma importante ferramenta na quantificação, estimativa de biomassa e nas determinações da distribuição das bactérias aquáticas no ambiente (HOBBIE *et al.* 1976; MORIARTY, 1997; MAEDA, 2002).

Destaca-se também técnicas desenvolvidas para determinação da produtividade de bactérias heterotróficas pela taxa de síntese de DNA. Neste método utiliza-se a timidina-triciada (adicionada de tritium). A síntese de DNA está relacionada à divisão celular, onde a timidina é capturada pelas bactérias e convertida rapidamente em nucleotídeos, fazendo parte dos constituintes básicos do DNA (BELL, 1993; MORIARTY, 1997).

Estes métodos tornaram-se importantes ferramentas para os estudiosos da microbiologia de ambientes aquáticos, habilitando-os a estudar as funções dos grupos ecológicos de bactérias em seu ambiente natural, e possibilitando a aplicação destas técnicas a favor da aquicultura, contribuindo com a melhoria das técnicas de manejo de viveiros, e no incremento da produtividade (MORIARTY & PULLIN, 1987).

Um importante tópico de pesquisa para os ecologistas marinhos tem sido a quantificação da contribuição que a biomassa microbiana exerce aos níveis tróficos mais elevados nos ecossistemas marinhos (MOSS, 2002).

De acordo com Pomeroy (1974), Azam *et al.* (1983) e Azam *et al.* (2002), os protozoários são importantes consumidores de bactérias na cadeia alimentar plantônica, e canalizam energia e nutrientes aos níveis tróficos superiores (“microbial loop”). Atuam também na remineralização, especialmente do nitrogênio (N) e fósforo (P). A cadeia alimentar microbiana é parte integrante dos viveiros de cultivo, tendo relação direta com a produtividade, equilibrando o meio em sistemas intensivos.

## Microorganismos e Aqüicultura

Em um ambiente marinho, poucos segundos após a imersão de qualquer estrutura na coluna d'água, dá-se início a um processo físico-químico para a formação do biofilme. Este processo ocorre a partir do acúmulo de moléculas orgânicas na superfície da estrutura, resultando em poucas horas na colonização por bactérias (WHAL 1989).

Através da decomposição da matéria orgânica pelos microorganismos heterotróficos, nutrientes como o nitrogênio e fósforo são reciclados e re-disponibilizados para o meio, estimulando a produtividade primária, secundária e a alça microbiana. A alça microbiana é considerada a maior via para o fluxo de matéria orgânica em oceanos e estuários, e tem um importante papel na transferência de energia e nutrientes em sistemas de cultivo (MAEDA, 1989; MORIARTY, 1997; AZAM *et al.* 2002).

Os microorganismos atuam na degradação do alimento não consumido nos viveiros de cultivo, na eliminação de compostos tóxicos como a amônia e nitrito, contribuem com a manutenção da qualidade da água e exercem um importante papel na alimentação dos organismos cultivados beneficiando-os com enzimas digestivas (MORIARTY, 1997; DECAMP, *et al.*, 2002; HOROWITZ & HOROWITZ, 2002).

Abreu *et al.* (1988) e Thompson *et al.* (2001) verificaram a importância dos microorganismos componentes do biofilme na alimentação de *Farfantepenaeus paulensis*, manutenção da qualidade da água e no controle de patógenos.

Segundo Moriarty (1997), patogenias em larviculturas e viveiros de produção vêm se tornando um problema na aqüicultura, causando perdas de até 100%, especialmente em sistemas intensivos. Balcázar *et al.* (2006) afirmam que, entre outras bactérias, os *Lactobacillos* são utilizados como probióticos no controle de patógenos, e são considerados alternativas para minimizar o uso de antibióticos. Gatesoupe (1999) define probióticos como um suplemento alimentar microbiano benéfico à saúde dos humanos e animais.

Decamp *et al.* (2002), afirmam que tanques de cultivo de camarões marinhos, equipados com forte aeração, gerando intensa circulação de água, favorecem o desenvolvimento de flocos bacterianos. Estes macro-agregados são formados por diatomáceas, macroalgas, pelotas fecais, exoesqueletos, restos de animais mortos, bactérias, protistas e invertebrados. Os mesmos autores sugerem que a composição natural das espécies constituintes determinará o valor nutricional dos flocos, e possivelmente isso tenha poder atrativo sobre os camarões.

Para incrementar a abundância de organismos zooplanctônicos, Martinez-Cordova *et al.* (2002) sugerem a utilização de “indutores da produtividade natural” nos viveiros de cultivo. Estes indutores são compostos por substratos orgânicos (alfafa), leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), melação, vitaminas e óleo de peixe, beneficiando as cadeias de microorganismos.

Apesar de se conhecer os benefícios que os microorganismos podem oferecer aos cultivos na aqüicultura, não se tem informações sobre as características das diferentes sucessões microbianas induzidas em função de diferentes substratos utilizados nesta técnica. Além disso, é

necessário ampliar o conhecimento para se utilizar os microorganismos com segurança sem oferecer riscos à rentabilidade do sistema.

Neste estudo de caso procurou-se caracterizar a sucessão de microorganismos e suas características quali-quantitativas induzidas a partir de dois diferentes substratos: bagaço de cana-de-açúcar e feno de alfafa, bem como a influência da levedura *S. cerevisiae* no processo de decomposição da matéria orgânica.



## **Objetivos**

### **Objetivo geral**

Contribuir para o conhecimento do efeito de ingredientes promotores do desenvolvimento de cadeias de microorganismos para serem utilizados como alimento alternativo na aqüicultura.

### **Objetivos específicos**

Caracterizar as comunidades microbianas de acordo com sua composição, abundância e classes de tamanho dos organismos que as compõe a partir de diferentes substratos (alfafa e bagaço de cana de açúcar).

Comparar o efeito da relação C:N dos diferentes substratos sobre as comunidades microbianas.

Avaliar a influência exercida pelas leveduras *S. cerevisiae* sobre o desenvolvimento e composição das comunidades microbianas, quando associadas aos diferentes substratos.

## **Sucessão microbiana na degradação de substratos orgânicos associados às leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*): potencial para utilização na aqüicultura?**

CLÁUDIO KINACH LOUREIRO<sup>1,3</sup>, PAULO CÉSAR ABREU<sup>2</sup> & EDEMAR ROBERTO ANDREATTA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura - Universidade Federal de Santa Catarina;

<sup>2</sup> Fundação Universidade Federal do Rio Grande - Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos - Departamento de Oceanografia – Cx. Postal: 474 - CEP 96201-900 Rio Grande RS - Brasil

<sup>3</sup> Laboratório de Camarões Marinhos - Departamento de Aquicultura - Universidade Federal de Santa Catarina - Beco dos Coroas - CxPostal: 10.136 - CEP 88062-601 - Florianópolis SC Brasil.

E-mail: [ckloureiro@hotmail.com](mailto:ckloureiro@hotmail.com)

### Abstract

Characterization of microbial succession developed by “inducers of natural productivity” was accomplished through quali-quantitative analysis of culture mediums. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* on characteristics of the induced microbial chain was also tested, when this yeast was associated to organic substrates added to the mediums. Tests were carried out using two different substrates (alfalfa and sugarcane bagasse), divided into four treatments: 1- sugarcane bagasse (sb), 2- sugarcane bagasse with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (sby), 3- alfalfa (a) and 4- alfalfa with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (ay). Data regarding abundance of yeast, free and particulate-adhered bacteria, flagellates and nematodes, as well as data on bacteria and flagellate biovolume, were compared among treatments. Results evidenced that alfalfa showed a superior capacity in developing large populations of microorganisms during its degradation, leading to the production of larger organisms such as nematodes. On the other hand, treatments based on sugarcane bagasse did not show such high capacity. It was concluded that this is related to alfalfa’s low C:N proportion, which provides large availability of nitrogen compounds, leading to higher microorganism growth. It was also verified that yeast served as food for microorganisms in treatments where bacterial population development was inferior.

### Introdução

No Brasil existem amplas possibilidades de se produzir alimentos protéicos de baixo custo, aproveitando as alternativas climáticas e seus vastos e variados ambientes aquáticos nas diversas regiões do país. A região sul, apesar de contar com condições climáticas menos favoráveis devido às baixas temperaturas no inverno, apresenta uma boa performance em termos de desenvolvimento da aqüicultura, sendo superior a outras regiões do país (Rocha 2000).

Atualmente, tem aumentado o interesse em se produzir organismos cultivados de maneira sustentável, evitando-se maiores impactos ao meio ambiente. A necessidade de se produzir alimento para consumo humano, proporciona um incentivo para o desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de cultivo na aqüicultura, visando não só expandir a quantidade produzida, mas também buscando proporcionar o aproveitamento racional dos recursos naturais (Gomes 2000).

A utilização de microorganismos tem sido apontada como uma maneira de se estabelecer sistemas de cultivo mais produtivos e com menor impacto ambiental (Moriarty 1987, Lee & O’Byrne

2002). Moss (2002) afirma que sistemas intensivos de produção de camarões marinhos dependem de uma saudável e diversificada comunidade microbiana para incrementar o crescimento, sobrevivência e manter aceitável a qualidade de água. Salieta-se que algumas espécies de camarões como o *L. vannamei* são detritívoros e podem reciclar grandes parcelas do que é produzido no ambiente de cultivo.

O uso de microorganismos na aquicultura deve se basear em conceitos ecológicos que permitam uma melhor compreensão e manuseio dos fluxos de matéria e energia nos sistemas de cultivo. Por exemplo, Pomeroy (1974) e Azam *et al.* (1983) documentaram a importância dos microorganismos na transferência de matéria e energia, através da cadeia alimentar microbiana em ambientes oceânicos. Novos conceitos propostos por estes autores, mostram que a fração dissolvida da matéria orgânica torna-se disponível aos níveis tróficos superiores das cadeias alimentares através de sua absorção pelas bactérias, e o consumo destas pelos organismos do protozooplâncton. Desta forma, os microorganismos podem representar uma importante fonte alimentar para organismos maiores.

Também nos sistemas de cultivo de organismos aquáticos os microorganismos podem servir de alimento direto para espécies cultivadas, ou para pequenos animais que alimentam tais espécies (Moriarty 1997). Bactérias são pobres em ácidos graxos de cadeia longa (PUFA), porém são importante fonte de outros nutrientes essenciais específicos como vitaminas do complexo B. Por outro lado, microorganismos eucarióticos (protozoários) contém esteróis, e grande parcela destes são convertidas em colesterol ou em outras formas características de lipídeos (Phillips 1984).

Os microorganismos fornecem também vitaminas, o que pode reduzir ou eliminar a necessidade de suplementar estes elementos nas rações comerciais (Horowitz & Horowitz 2002). O conteúdo protéico dos microorganismos é similar aos encontrados em muitos alimentos formulados. De acordo com Stolp (1988) a matéria seca de microorganismos eucariontes é composta por 50% de proteínas, 10% de lipídeos, 10-20% de RNA e 3-4% de DNA.

Para Umesh *et al.* (1999), substratos biodegradáveis como bagaço de cana-de-açúcar possuem grande potencial para a colonização microbiana quando comparado com outros substratos menos degradáveis como bambu ou plásticos.

Apesar de alguns autores confirmarem a eficácia de substratos vegetais como bambus, bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo e alfafa entre outros, utilizados para colonização por microorganismos com o objetivo de enriquecer as dietas dos organismos cultivados na aquicultura (Umesh *et al.* 1999; Ramesh *et al.* 1999), não se tem o conhecimento da sucessão e composição microbiana envolvidas neste processo. Esta informação é imprescindível para se incrementar a dieta alimentar de organismos cultivados, podendo-se, com isto, reduzir os custos de produção.

Este estudo de caso trata da caracterização da sucessão de microorganismos e suas características quali-quantitativas induzidas a partir de dois diferentes substratos (bagaço de cana de açúcar e feno de alfafa), e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* introduzidos no meio de cultivo.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e de Microorganismos Marinhos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), entre os meses de maio e setembro do ano de 2006.

## Delineamento e unidades experimentais

Este estudo de caso constituiu-se de 4 tratamentos com 1 repetição: 1) Bagaço de cana-de-açúcar, 2) Bagaço de cana-de-açúcar com a adição de leveduras *S. cerevisiae*, 3) Feno de alfafa e 4) Feno de alfafa com a adição de leveduras *S. cerevisiae*.

Para a execução deste estudo, foram selecionados 2 substratos com diferentes relações C:N, onde a alfafa com seus 14:1 (Silva *et al.* 2005), e o bagaço de cana-de-açúcar com seus 119:1 (Creswell, 1993). E seguiu-se a metodologia proposta por Martinez-Cordova (2002) para a formação de indutores da produtividade natural em viveiros de cultivo, com algumas adaptações.

As unidades experimentais consistiram de 4 recipientes com capacidade para 20 L contendo: 400 g de substrato vegetal (feno de alfafa ou bagaço e cana-de-açúcar), 80 g de melaço de cana-de-açúcar, 25 mL de óleo de fígado de bacalhau, 8 g de fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) resfriado (apenas em 2 dos tratamentos como descrito acima), 25g de ácido ascórbico, 200mL de água estuarina com salinidade 20 coletada na barra da Lagoa dos Patos – RS para servir como inóculo de microorganismos, 2 L de água marinha filtrada (filtro cunco de 1µm) com salinidade 30 e diluída com água destilada para igualar sua salinidade com a do inóculo (20).

Após a homogeneização de todos os ingredientes, estes permaneceram sob aeração contínua e sob condições normais de luz e temperatura, por um período de 16 (dezesesseis) dias contados a partir do dia 0 (zero).

Para uma melhor homogeneização do material, realizou-se a remontagem, isto é, a movimentação mecânica diária da coluna de água do recipiente, auxiliando a uniformidade na distribuição da população de leveduras e microorganismos por todo substrato vegetal, conforme sugerido por Aquarone *et al.* (1983). Medidas de temperatura foram coletadas nos dias 5 e 11 após o início do experimento.

## Coleta das Amostras

Amostras de 50 ml do líquido do meio de cultivo foram coletadas a cada 24 horas nos primeiros 6 (seis) dias, considerando o primeiro dia de cultivo como sendo dia 0 (zero). Depois disso foram realizadas amostragens ainda no dia 11 (onze), e no dia 16 (dezesesseis), exceto nos tratamentos (bc e bcl) devido ao não aparecimento de flagelados a partir do sexto dia de cultivo.

Os mesmos critérios foram seguidos para a homogeneização da fração líquida do composto antes da coleta amostral. O material coletado foi fixado em solução de formol neutralizado a 4%, e depositado em frasco âmbar (100ml) para posterior análise.

### **Temperatura**

Durante o experimento foram realizadas 2 amostragens de temperatura. As amostragens de temperatura foram realizadas nos dias 5 e 11 respectivamente, apontaram o valor de 42°C em ambas as coletas.

### **Quantificação de bactérias**

Alíquotas de 0,5 ml de amostra foram diluídas de acordo com a densidade de bactérias de cada tratamento. Estas diluições variaram de 50 a 5000 vezes durante todo o experimento. As amostras foram coradas com solução de fluorocromo laranja de Acridina (A.O.) 0,1% por 15 minutos (HOBBIE, 1977), e filtrada em filtro de membrana de policarbonato (Nuclepore 0,2 µm de poro), previamente escurecido com Irgalan black.

O filtro foi montado entre lâmina e lamínula, e posteriormente levado ao microscópio de epifluorescência Axioplan (Zeiss), equipado com uma câmera monochrome WAT – 902H, lâmpada HBO 50 watts e conjunto de filtros de luz com n° de catálogo 487709, com faixa de excitação para luz azul (BP 450 – 490; FT 510; LP 520) e magnificação final de 1000x.

Imagens dos microorganismos foram capturadas, e a contagem das células bacterianas foi realizada com o auxílio do programa UTHSCSA Image Tool, desenvolvido na University of Texas Health Science Center, San Antonio – Texas/USA e disponível na internet na página <http://maxrad6.uthscsa.edu>.

### Determinação do biovolume e biomassa das bactérias

O biovolume das bactérias foi calculado a partir de medidas de comprimento e largura das células (Massana *et al.* 1997).

$$V = \pi/4 \cdot L^2 \cdot [C - (L/3)]$$

Onde: V=Volume; L=Largura; C=Comprimento

A biomassa bacteriana foi calculada pela conversão do biovolume celular em carbono bacteriano utilizando o fator de conversão proposto por Riemann *et al.* (1990).

$$\text{Biomassa}_{(\text{g C bact./mL})} = A \times B \times FC$$

Onde: A=Abundância bact. (cel./mL); B=Biovolume bact. ( $\mu\text{m}^3$ ) e  $FC=0,35 \cdot 10^{-12}$

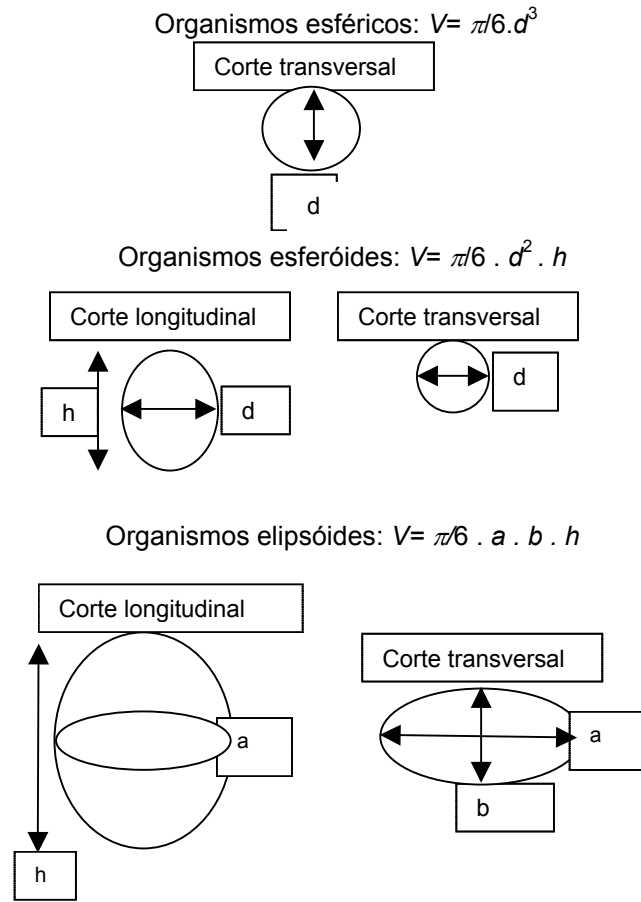
### Quantificação de leveduras, flagelados e nematódeos

Para quantificar outros microorganismos, alíquotas de 1 mL da fração líquida do meio de cultivo foram diluídas em água marinha filtrada em proporções específicas para cada amostra. Estas diluições variaram de 5 a 800 vezes, de acordo com as condições de turbidez e concentração de microorganismos presentes nas amostragens.

As amostras foram coradas com solução de lugol a 2% e colocadas em câmaras de sedimentação (UTERMÖHL) de 2,1 mL (Thronsen, 1978), e os organismos contados utilizando microscópio óptico invertido Axiovert 135 (Zeiss) com magnificação de 400x.

### Determinação do biovolume para flagelados

Para determinar o biovolume do protozooplâncton, foram consideradas formas geométricas aproximadas (Figura 1), e aplicadas equações matemáticas para o cálculo de biovolume de microalgas (Hillebrand *et al.* 1999).



Onde: (a) Eixo apical; (b) Eixo trans-apical; (d) Diâmetro; (h) Altura.

Figura 1: Fórmulas utilizadas para determinação do biovolume de flagelados

## Resultados

A figura 2 sumariza os resultados referentes à abundância de leveduras *S. cerevisiae*, durante o período experimental nos tratamentos (al) e (bcl).

Nota-se que no tratamento com bagaço de cana de açúcar (bcl) a queda no número de leveduras foi muito mais acentuada. O valor máximo para a abundância de leveduras neste tratamento foi de  $7,91 \cdot 10^6$  org/mL, e ocorreu após 24 horas do início do experimento, o valor mínimo deu-se no dia 4, com  $8,68 \cdot 10^2$  org/mL. No tratamento (al) o valor máximo, de  $1,54 \cdot 10^7$  org/mL, ocorreu no dia 2, caindo sucessivamente até o dia 6 para  $1,38 \cdot 10^5$  org/mL.

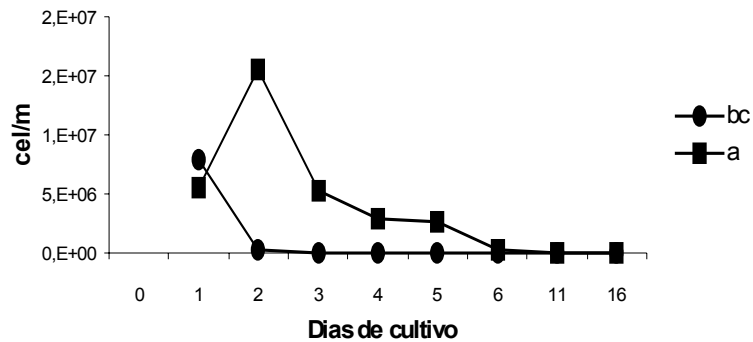


Figura 2: Abundância de leveduras livres nos tratamentos com alfafa e bagaço de cana.

No que diz respeito à abundância de bactérias livres, a figura 3 mostra que os tratamentos à base de alfafa (a e al) apresentaram maiores abundâncias bacteriana com valores máximos no dia 3 de  $5,31 \cdot 10^9$  e  $7,76 \cdot 10^9$  org./mL respectivamente. Os valores mínimos para estes tratamentos foram encontrados no dia 16, sendo  $2,58 \cdot 10^8$  para (a) e  $1,18 \cdot 10^8$  para (al), respectivamente.

Nos tratamentos à base de bagaço de cana-de-açúcar, os valores máximos foram encontrados 24 horas após o início do experimento para (bc) e (bcl), estes foram de  $1,88 \cdot 10^8$  e  $1,48 \cdot 10^8$  org./mL respectivamente. Os valores mínimos foram de  $1,01 \cdot 10^7$  org./mL para (bc) e  $2,88 \cdot 10^7$  org./mL para (bcl) no dia 6.

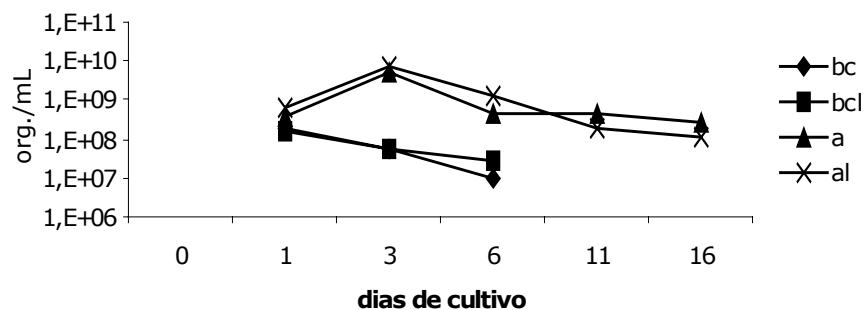


Figura 3: Abundância de bactérias livres

A figura 4 mostra a abundância das bactérias aderidas a partículas. Os substratos à base de alfafa apresentaram como valores mínimos  $1,37 \cdot 10^7$  org./mL para (a) e  $1,65 \cdot 10^7$  org./mL para (al), ambos no dia 1. O valor máximo de abundância para (a) foi de  $3,23 \cdot 10^{10}$  org./mL no dia 11, e  $2,66 \cdot 10^{10}$  org./mL para (al) no dia 16.

Nos tratamentos com substratos à base de bagaço de cana-de-açúcar, os valores mínimos foram medidos no dia 3 de  $3,21 \cdot 10^6$  org./mL para (bc), e de  $4,86 \cdot 10^6$  org./mL para (bcl). O valor máximo de abundância destas células para (bc) foi de  $1,29 \cdot 10^8$  org./mL, e para (bcl) foi  $1,11 \cdot 10^8$  org./mL ambos no dia 6.



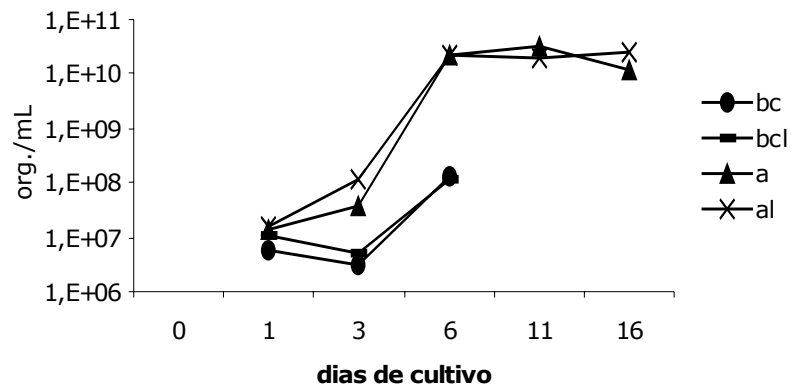


Figura 4: Abundância de bactérias aderidas

Na figura 5 observa-se o biovolume das bactérias livres onde o tratamento (a) mostrou valor máximo de  $6,74\mu\text{m}^3$  após 24 horas do início do experimento, o valor mínimo para este tratamento foi de  $0,63\mu\text{m}^3$  no dia 16 de cultivo. O tratamento (al) obteve seu valor máximo de  $3,46\mu\text{m}^3$  no dia 3, e seu valor mínimo de  $0,28\mu\text{m}^3$  no dia 16 de cultivo.

Nos tratamentos à base de bagaço de cana-de-açúcar o biovolume de  $5,21\mu\text{m}^3$  foi o valor máximo observado no dia 3 para (bc), caindo para valores mínimos de  $0,89\mu\text{m}^3$  no dia 6. No tratamento (bcl) o valor máximo de biovolume bacteriano foi de  $2,55\mu\text{m}^3$ , 24 horas após o início do experimento, e o valor mínimo foi de  $0,39\mu\text{m}^3$  no dia 6.

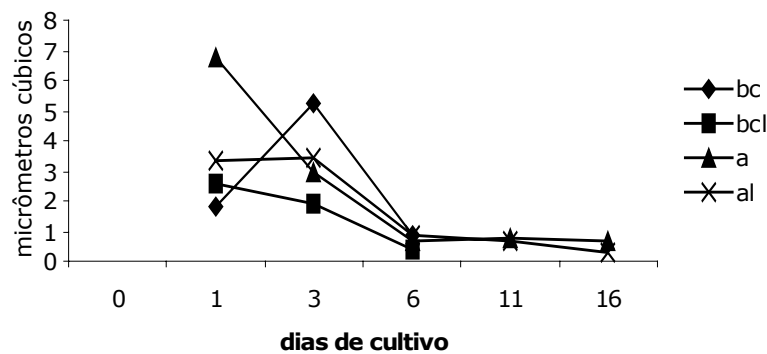


Figura 5: Biovolume de bactérias livres

Diferenças relacionadas ao biovolume das bactérias aderidas entre os tratamentos estão evidenciadas na figura 6, certa semelhança foi notada entre (bc) e (bcl) onde valores mínimos de biovolume bacteriano foram observados 24 horas após o início do cultivo, sendo  $0,14$  e  $0,28\mu\text{m}^3$  respectivamente. Os valores máximos foram alcançados em ambos os tratamentos no dia 6, sendo  $1,75\mu\text{m}^3$  para (bc) e  $2,96\mu\text{m}^3$  para (bcl).

Os tratamentos a base de alfafa apresentaram valores mínimos de biovolume no dia 3, sendo  $0,06\mu\text{m}^3$  para (a) e  $0,24\mu\text{m}^3$  para (al). Os valores máximos foram de  $3,82\mu\text{m}^3$  para (al) e de  $2,42\mu\text{m}^3$  para (a) ambos no dia 11.

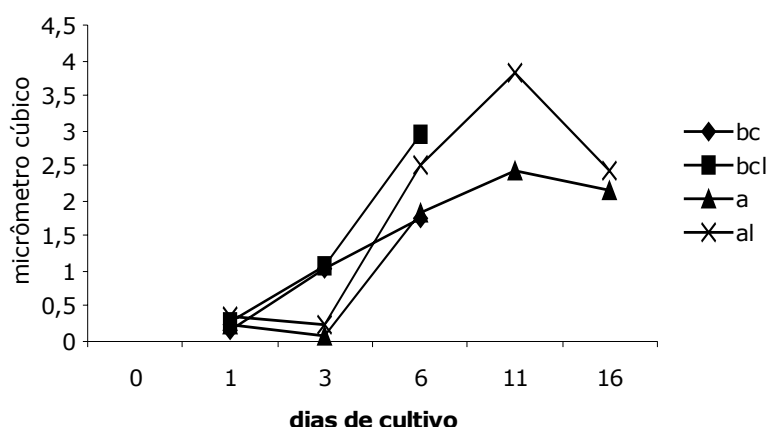


Figura 6: Biovolume de bactérias aderidas

Analisando a figura 7, observa-se que os tratamentos à base de alfafa, apresentaram os maiores valores de biomassa bacteriana por volume do meio de cultivo, mostrando valores mínimos de 22,4  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (a) e 20,7  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (al) após 24 horas do início do experimento. Valores máximos de biomassa bacteriana para estes tratamentos foram de 88,5  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (a) e 74,5  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (al) ambos no dia 11.

Os tratamentos com bagaço de cana-de-açúcar apresentaram valores mínimos de biomassa bacteriana no dia 3, de 13,7  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (bc) e 14,1  $\mu\text{g C bact./mL}$  para (bcl), com valores máximos apontados no dia 6 para ambos os tratamentos, sendo 29,2 e 32,2  $\mu\text{g C bact./mL}$  respectivamente.

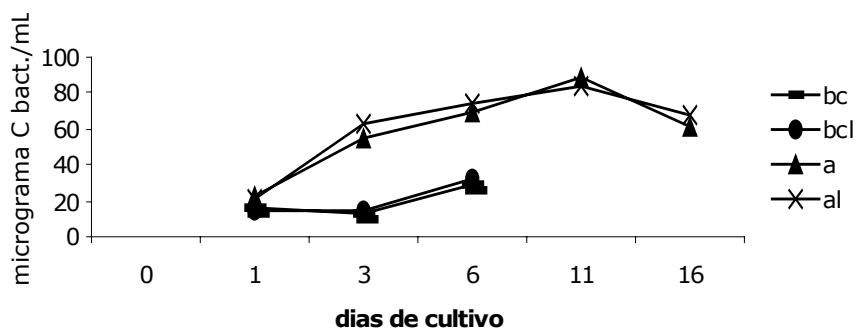


Figura 7: Biomassa bacteriana total

Com relação aos flagelados, na figura 8 observa-se que os tratamentos que continham bagaço de cana-de-açúcar após 24 horas de cultivo, apresentaram valores mínimos de abundância de  $3,88 \cdot 10^6$  org/mL para (bc) e  $3,98 \cdot 10^6$  org/mL para (bcl). O valor máximo de abundância para (bcl) foi de  $3,80 \cdot 10^8$  org/mL no dia 3, e de  $3,83 \cdot 10^7$  org/mL para (bc) no dia 4.

Nos tratamentos à base de alfafa, as contagens apontaram o aparecimento de flagelados após 48 horas do início do experimento, apresentando valores de abundância de  $2,10 \cdot 10^8$  org/mL para (a), e  $1,12 \cdot 10^8$  org/mL para (al) neste período. No tratamento (al) o valor máximo de abundância de flagelados foi de  $6,41 \cdot 10^8$  org/mL encontrado no dia 4, e no tratamento (a) este valor foi de  $6,50 \cdot 10^8$  org/mL apontado no dia 5. Valores mínimos para estes tratamentos foram apontados no

décimo sexto dia em ambos os tratamentos, sendo  $7,76 \cdot 10^6$  org/mL para (al) e  $1,10 \cdot 10^7$  org/mL para (a).

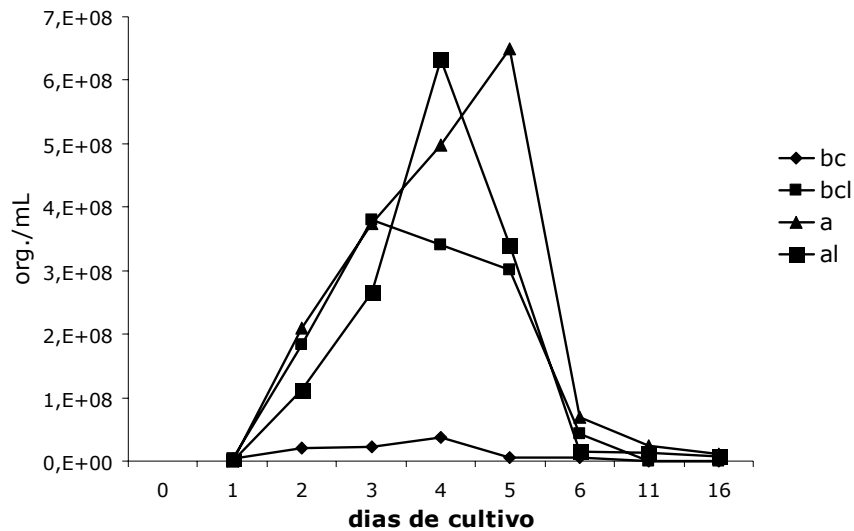


Figura 8: Abundância de flagelados

A figura 9 retrata o biovolume dos flagelados, sendo que nos tratamentos (a e al) os valores mínimos foram de  $600,7$  e  $435,3 \mu\text{m}^3$  respectivamente, ambos verificados no dia 2. Os valores máximos de biovolume para estes tratamentos foram de  $2941,5 \mu\text{m}^3$  para (a) no dia 11, e de  $1621,9 \mu\text{m}^3$  para (al) no dia 6.

No tratamento (bc) o valor mínimo de biovolume dos flagelados foi de  $825,3 \mu\text{m}^3$  ocorrendo no dia 2, no tratamento (bcl) este valor foi de  $574,6 \mu\text{m}^3$  apontado no dia 6. Os valores máximos foram de  $1234,2 \mu\text{m}^3$  para (bc) no dia 6, e para (bcl) este valor foi de  $973,6 \mu\text{m}^3$  apontado no dia 4.

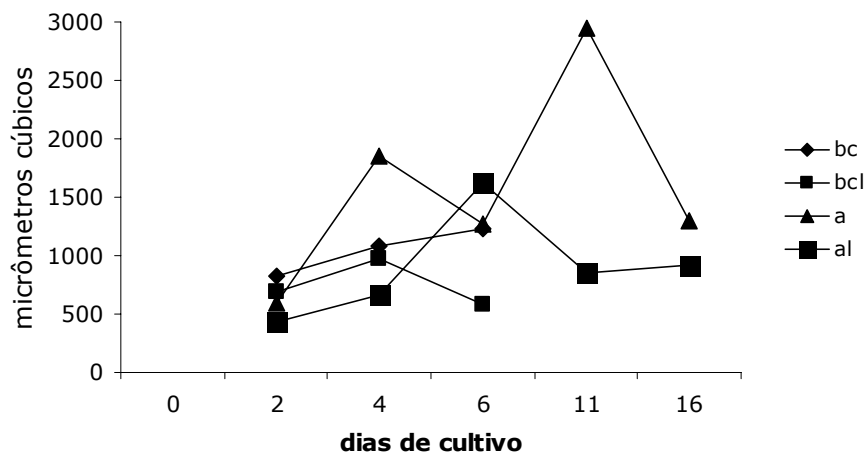


Figura 9: Biovolume de flagelados

Na figura 10 verifica-se o aparecimento de nematódeos apenas nos tratamentos que tiveram a alfafa como substrato. No tratamento (a) o valor mínimo na abundância de nematódeos foi de  $2,84 \cdot 10^4$  org/mL no dia 4, no tratamento (al) observou-se a menor abundância destes organismos no dia 5 apontando  $3,65 \cdot 10^4$  org/mL.

Valores máximos de abundância de nematódeos foram encontrados no décimo primeiro dia para (a) com  $1,48 \cdot 10^6$  org/mL, e no décimo sexto dia para (al) com  $1,06 \cdot 10^7$  org/mL. Nos tratamentos (bc) e (bcl) nematódeos não foram encontrados durante o período de amostragens.

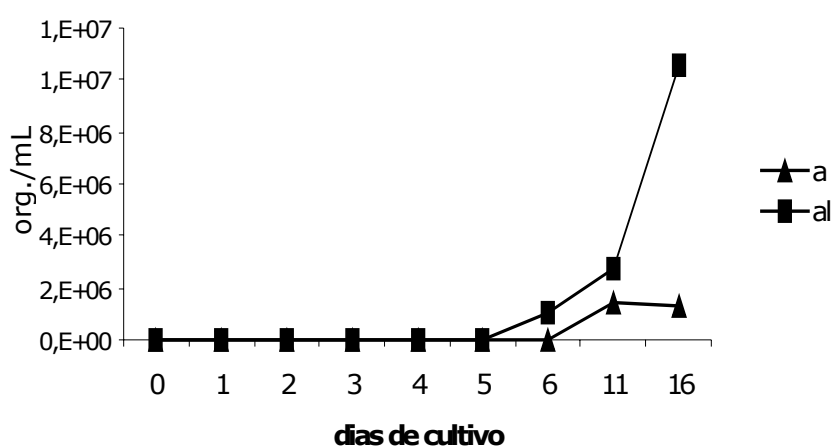


Figura 10: Abundância de nematódeos

## Discussão

A razão C:N pode ser um indicador do potencial de decomposição da matéria orgânica a ser degradada, sendo que, uma das variáveis que influencia a taxa e o grau de decomposição de materiais biodegradáveis, é a disponibilidade de nutrientes minerais e, especialmente de nutrientes nitrogenados, visto que os microorganismos possuem alta exigência de nitrogênio (Park 1976). Na decomposição da matéria orgânica os microorganismos utilizam o carbono como fonte de energia, e o nitrogênio para compor a estrutura celular através da síntese protéica (Azam *et al.* 1983, Billen 1984, Day *et al.* 1989, Jones 1995, Schlegel 1995, Avnimelech 1999).

A presença de um substrato exerce dois efeitos sobre a população microbiana: (a) rápido incremento na abundância de organismos fisiologicamente hábeis à degradação deste substrato e (b) aumento na concentração de enzimas específicas em cada célula bacteriana (Floodgate, 1976).

Neste estudo, verificou-se que nos tratamentos à base de alfafa, o número de células bacterianas foi superior em duas ordens de grandeza quando comparadas com os tratamentos à base de bagaço de cana-de-açúcar. Provavelmente isto esteja relacionado à razão C:N dos substratos, uma vez que a alfafa com sua baixa razão de 15 C:N (Silva *et al.* 2005), possivelmente disponibilizou maiores quantidades de N para estes microorganismos.

Esta maior abundância de bactérias livres e aderidas nos tratamentos à base de alfafa, parece ter repercutido em toda a cadeia alimentar que se estabeleceu, uma vez que estes tratamentos apresentaram também as maiores abundâncias de flagelados e nematódeos.

Entretanto, a tendência de queda na abundância de bactérias livres em todos os tratamentos no decorrer do experimento indica que existiu uma forte pressão de predação provavelmente exercida pelos flagelados, como também indicado pela relação existente entre o aumento do número destes protozoários e a redução do biovolume das bactérias livres.

Por outro lado, a estabilização na abundância de bactérias aderidas nos tratamentos (a e al) a partir do sexto dia, e a redução do biovolume destas bactérias a partir do dia 11, concomitante ao incremento de nematódeos neste mesmo período, sugere a existência de uma predação preferencial dos nematódeos sobre as bactérias aderidas, mostrando uma diferenciação no consumo da matéria microbiana produzida, com maior predação de bactérias livres por flagelados e bactérias aderidas sendo preferencialmente predadas por nematódeos. Isto se dá provavelmente em função da relação direta de tamanho existente entre presa e predador (Odum 1988, Kirchman 2000).

Deve-se ainda ressaltar que nos tratamentos à base de bagaço de cana-de-açúcar, que apresentaram menor abundância de bactérias livres, a população de flagelados parece ter se beneficiado da adição da levedura *S. cerevisiae*, como indicado pelos valores de abundância destes flagelados no tratamento bcl quando comparados com o tratamento bc.

Estes dados mostraram que a *S. cerevisiae* provavelmente serviu como alimento alternativo para os flagelados em condições onde a disponibilidade de bactérias livres encontrava-se reduzida.

Nos tratamentos à base de alfafa, não foi identificado o mesmo efeito com a adição de leveduras sobre a concentração de flagelados, tornando possível afirmar que os altos valores na abundância de bactérias livres foram suficientes para garantir o crescimento destes protozoários. Corrobora com este fato, a queda comparativamente mais abrupta na concentração de leveduras livres no tratamento bcl, o que sugere a ingestão destas pelos flagelados (Figura 2).

A presença de leveduras no trato intestinal dos nematódeos visualizados a partir do dia 5, indica que este fungo também serviu como alimento aos nematódeos, além das bactérias aderidas à partículas. Com isso considerou-se que estes metazoários tenham colaborado com a queda na abundância das *S. cerevisiae* em al apontada na figura 2.

Por outro lado, as menores abundâncias de bactérias livres e aderidas à partículas, bem como o rápido decréscimo da abundância de *S. cerevisiae* nos tratamentos com bagaço de cana-de-açúcar provavelmente foram responsáveis pela ausência de nematódeos.

De acordo com Wilbur (1988), espécies de um determinado nível trófico são potenciais competidores e predadores, e exercem efeito negativo na dinâmica da população de sua presa. Esse efeito varia conforme o aumento, ou com o decréscimo da população de predadores, e pode estar relacionado com diferenças de tamanho entre presa e predador. A pressão de predação exercida sobre uma população afeta o tamanho dos indivíduos das populações exploradas (Odum 1988).

Algumas comunidades de presas são efetivamente reguladas por seus consumidores, o que é conhecido como controle top-down (Kirchman 2000).

A redução do biovolume das bactérias livres durante o período de estudo mostrou sincronia com o aumento na abundância e biovolume dos flagelados em todos os tratamentos, evidenciando a pressão de predação exercida por estes organismos sobre as bactérias livres. O aumento na abundância de flagelados foi mais evidente nos tratamentos (a e al), confirmando a teoria da alça microbiana proposta por Azam (1983). Esta afirma que os nutrientes absorvidos pelas bactérias ao degradarem a matéria orgânica particulada, ou mesmo, ao absorver os nutrientes quando dissolvidos na coluna d'água, os disponibilizam para seus predadores.

Pomeroy & Wiebe (1988) afirmam que a correlação energética entre as bactérias e os metazoários na cadeia trófica dos detritos é pouco eficiente, devido a insuficiência de biomassa bacteriana para suportar a predação destes metazoários. Os resultados obtidos neste experimento comprovaram que, havendo suficiente biomassa bacteriana, estas células suportam o desenvolvimento dos metazoários, e se, as bactérias estiverem associadas às leveduras *S. cerevisiae*, pode-se obter um incremento nas densidades de nematódeos.

### **Estratégia de produção de microorganismos para o cultivo de diferentes organismos aquáticos**

Os protozoários planctônicos são considerados importantes presas para o zooplâncton e larvas de peixes, e são os mais numerosos componentes da faixa de tamanho ótima para a utilização eficiente do alimento por estes grupos (Stoecker & Capuzzo 1990).

Resultados obtidos por Genodepa *et al.* (2004), comprovaram que existe relação diretamente proporcional entre o estágio de desenvolvimento das larvas do caranguejo *Scylla serrata*, e o tamanho de partícula alimentar.

Dumphy *et al.* (2006) afirmam que em larviculturas de ostras *Ostrea chilensis*, esta espécie apresenta melhor performance quando alimentados com partículas que variam entre 20 $\mu$ m para larvas recém eclodidas e 75 $\mu$ m para adultos.

Estudos realizados por Fernandez-Diaz *et al.* (1994), mostraram claramente que larvas do peixe *Sparus aurata* com até 4,5 mm, ingerem partículas entre 50 e 150  $\mu$ m de diâmetro, larvas entre 4,5 e 6 mm, ingerem partículas entre 151 e 250 $\mu$ m, e larvas com tamanho a partir de 6 mm ingerem partículas maiores que 250 $\mu$ m.

Larvas de ostras são capazes de consumir partículas que variam de 0,2-0,8  $\mu$ m a 20-30  $\mu$ m, em larviculturas, bem como em ambientes aquáticos, moluscos bivalves consomem grande número e variedade de microorganismos (Herwig 2002).

Segundo Berggreen *et al.* (1988), o tamanho de partícula ótimo para alimentação do copépode *Acartia tonsa*, é dependente de seu estágio de desenvolvimento, podendo variar de 7-10 a 14 µm para náuplios 2, de 14 a 70 µm para náuplios 3, e aproximadamente 250 µm para adultos.

Quando determinadas espécies de bactérias são fornecidas em conjunto com o fitoplâncton em larviculturas de camarões, caranguejos e alevinos, as taxas de sobrevivência são incrementadas significativamente devido à preferência dos organismos cultivados aos microorganismos em relação às algas (Maeda 2002).

Segundo Maeda *et al.* (1983), o zooplâncton se faz presente onde populações bacterianas são abundantes, e a transferência de nutrientes provenientes dos microorganismos através do protozooplâncton é consideravelmente alta e de grande importância para a cadeia trófica marinha.

Quando os copépodes *Eurytemora* sp., *Scottolana* sp. ou *Heteropsyllus* sp. são alimentados com detritos ou protozoários, apresentam um aumento significativo com relação à produção de ovos, quando comparados com animais alimentados à base de microalgas (Maeda 1988). Segundo Stoecker & Capuzzo (1990), alguns autores sugerem que flagelados e ciliados associados com detritos, formam uma importante fonte alimentar para o zooplâncton.

Sabe-se que a disponibilidade de matéria produz uma considerável biomassa de organismos pico-nanoplanctônicos (0,2-20µm), e os protozoários fagotróficos são os principais consumidores destas células autotróficas e heterotróficas que se encontram em uma faixa de tamanho inferior a 5µm (Sherr 1986).

Em viveiros de aquicultura, os níveis de oxigênio são controlados principalmente por microalgas e bactérias autotróficas. Em sistemas extensivos, semi-intensivos e alguns intensivos bactérias e outros microorganismos contribuem significativamente, fazendo parte da cadeia trófica e na conversão de matéria orgânica morta em nutrientes disponíveis para os organismos cultiváveis (Paffenhofer & Strickland 1987).

De acordo com os resultados deste estudo, pode-se dizer que microorganismos com diferentes tamanhos podem ser obtidos a partir do gerenciamento do tipo de substrato adicionado e do tempo de crescimento dos microorganismos e cadeias alimentares obtidas. Com base nos resultados deste experimento, sugerem-se estratégias distintas para o cultivo de flagelados e nematódeos, de acordo com a necessidade de microorganismos com diferentes faixas de tamanho.

Na produção de microorganismos entre 10 e 50 µm, para complementar dieta de larvas de peixes e crustáceos recém-eclodidas, sugere-se a utilização de feno de alfafa, não havendo a necessidade de associá-la às leveduras, pois foi comprovada que estas leveduras não exercem influência sobre a abundância destes microorganismos quando a alfafa é utilizada como substrato.

Em regiões produtoras de cana-de-açúcar, pode-se utilizar o rejeito da indústria canavieira. Pois quando associado à *S. cerevisiae*, o bagaço de cana-de-açúcar mostrou ser uma alternativa para a baixa produção bacteriana induzida na degradação deste sub-produto. Onde a *S. cerevisiae* serviu como fonte de alimento aos microorganismos, e deve-se levar em consideração o seu baixo custo, tornando interessante o seu uso.

Os testes mostraram que existe a alternativa de se produzir grandes quantidades de nematódeos com a utilização da técnica estudada. Alguns autores sugerem o fornecimento deste metazoário como dieta alternativa quando fornecido às larvas juvenis de camarões marinhos (Biedenbach *et al.* 1989). A baixa razão C:N da alfafa, aliado à alta temperatura do ambiente gerado pela atividade bacteriana, propiciou à estes organismos um micro-nicho favorável para seu crescimento sob alta densidade. Mensurações efetuadas durante este experimento, mostrou que nematódeos adultos chegaram a atingir comprimento de 1300 $\mu$ m, e como citado anteriormente são importante fonte de lipídeos e proteínas.

Em resumo, os resultados deste trabalho mostram a potencialidade da utilização de substratos orgânicos para a produção de microorganismos de diferentes classes de tamanho.

Também ficou evidente que um maior conhecimento da composição e sucessão de microorganismos é uma importante ferramenta para se gerenciar o uso desta técnica e sua aplicação no cultivo de diferentes organismos aquáticos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B., D BRAY, J LEWIS, M RAFF, K ROBERTS & JD WATSON. 1989. Molecular biology of the cell. New York, Garland Publishing Inc. 1219p.
- ALEXOPOULOS, C.J., CW MIMS & M BLACKWELL. 1996. Introductory mycology. New York, John Wiley & Sons INC. 869p.
- ANDERSON, R.K., PL PARKER & AL LAWRENCE 1987. A  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$  tracer study of the utilization of present feed by a commercial important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system. J World Aqua Soc, 18: 149-155.
- AQUARONE, E., UA LIMA & W BORZANI. 1983. Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. São Paulo, Blucher. 227p.
- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176: 227-235.
- AZAM, F., S HASKELL & R FOREST. 2002. The Microbial Loop in Aquaculture. In: LEE, C-S & P O'BRYEN (eds) Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems. Baton Rouge, The World Aquaculture Society, 87-97.
- AZAM, F., T FENCHEL, JG FIELD, JS GRAY, LA MEYER-REIL & F THINGSTAD. 1983. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Mar Ecol Prog Ser*, 10: 257-263.
- AZIM, E. M., MA WAHAB, AA VAN DAM, MCM BEVERIDGE & MCJ VERDEGEM. 2001. The potential of periphyton-based culture of two Indian major carps, rohu *Labeo rohita* (Hamilton) and gonia *Labeo gonius* (Linnaeus). *Aquacult Res*, 32: 209-216.
- CRESWELL, L.R. Aquaculture desk reference. 1993. Florida, Flaida Aqua Farms Inc. 173p.
- BERGGREN, U., B HANSEN & T KIORBOE. 1988. Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. *Mar Biol*, 99: 341-352.
- BIEDENBACH, J.M., LL SMITH, TK THOMSEN & AL LAWRENCE. 1989. Use of the Nematode *Panagrellus redivivus* as an *Artemia* replacement in a larval penaeid diet. *Journal World Aquaculture Society*, 20: 61-71.
- BILLEN, G. 1984. Heterotrophic utilization and regeneration of nitrogen. In: HOBBIE, J.E.; WILLIAMS, P.J.I. (eds.) Heterotrophic activity in the sea. Plenum press, New York, Chap. 15: 313-355.
- BOLD, C.H., CL ALEXOPOULOS & T DELEVORYAS. 1987. Morphology of plants and fungi. New York, Harper Collins Publishers. 912 p.
- BROCK, T.D & MT MADIGAN. 1991. Biology of microorganisms. New Jersey, Prentice Hall. 874p.
- BUBEL, A & C FITZSIMONS, C. 1989. Microstructure and function of cells: electron micrographs of cell ultrastructure. Chichester, John Wiley & Sons. 271p.
- DAY JR, J.W., CAS HALL, WM KEMP & A YANEZ-ARANCIBIA. 1989 Estuarine Ecology. New York: Wiley, Chap. 7: 257-308p.
- DUMPHY, B.J., JA HALL, AG JEFFS & RMG WELLS. 2006 Selective particle feeding by the Chilean oyster, *Ostrea chilensis*; implications for nursery culture and broodstock conditioning. *Aquaculture* (in press).
- FERNANDEZ-DIAZ, C., E PASCUAL & M YUFERA. 1994. Feeding behavior and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food. *Mar Biol*, 118: 323-328.
- FLOODGATE, G.D. 1975. Decomposition processes in the sea with special reference to man-made waste. In: SYMPOSIUM OF THE BRITISH ECOLOGICAL SOCIETY, 17. Blackwell Scientific Publications 1976. 223-245.
- GENODEPA, J., PC SOUTHGATE & C ZENG. 2004. Diet particle size preference and optimal ration for mud crab, *Scilla serrata*, larvae fed microbound diets. *Aquaculture*, 230: 493-505.
- GOMES, L.A. 2000. The Tao of Aquaculture: cultivating aquatic organisms in concert with their microscopic world. *World Aquaculture*, 31: 20-61.

- HERWIG, R.P. 2002. Role of bacteria in nutrition of bivalve mollusks: intriguing results and research possibilities. In: LEE, C-S & P O'BRYEN (eds) *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. Baton Rouge, The World Aquaculture Society, 31-59.
- HILLEBRAND, H., CD DURSELEN, D KIRSCHTEL, U POLLINGHER & T ZOHARY. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol*, 35: 403-424.
- HOBBI, J.E., RJ DALEY & S JASPER. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 33: 1225-1228.
- HOROWITZ, S. & A HOROWITZ. 2002. Microbial intervention in aquaculture. In: LEE, C-S & P O'BRYEN (eds) *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. Baton Rouge, The World Aquaculture Society, 119-131.
- JONES, J.J. 1995. *Advances in microbial ecology*. New York: Plenum Press. 400p.
- KIRCHMAN, D.L. 2000. *Microbial ecology of the oceans*. New York: Wiley-Liss. Chap.12: 542p.
- MAEDA, M. 2002. Microbial communities and their use in aquaculture. In: LEE, C-S & P O'BRYEN (eds) *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. Baton Rouge, The World Aquaculture Society, 61-78.
- MAEDA, M. 1988. Microorganisms and protozoa as feed in mariculture. *Prog. Oceanog*, 21: 201-206.
- MAEDA, M., WJ LEE & N TAGA. 1983. Distribution of lipopolysaccharide, an indicator of bacterial biomass, in subtropical areas of sea. *Mar Biol*, 76: 257-262.
- MARTINEZ-CORDOVA, L, R. 2002. *Camaronicultura, avances y tendencias*. México, AGT Editor S.A. 167p.
- MARTINEZ-CORDOVA, L, R., A CAMPAÑA-TORRES & MA PORCHAS-CORNEJO. 2002. Promotion and contribution of biota in low water exchange ponds farming blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). *Aquacult Res*, 33: 27-32.
- MASSANA, R., JP GASOL, PK BJORNSEN, N BLACKBURN, A HANSTROM, S HIETANEN, BH HYGUM, J KUPARINEN & C PEDROS-ALIO. 1997. Measurement of bacterial size via image analyses of epifluorescence preparations: description of an inexpensive system and solutions to some of the most common problems. *Scient. Mar*, 61: 397-407.
- MORIARTY, D.J.W. 1987. *Microbial Ecology in Aquaculture*. In: MORIARTY, D.J.W., PULLIN, R.S.V. (eds.) *Detritus and Microbial Ecology in Aquaculture*. Proceedings of the Conference on Detrital Systems for Aquaculture. Italy, 1-4.
- MORIARTY, D.J.W. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151: 333-349.
- MOSS, M.S. 2002. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: LEE, C-S & P O'BRYEN (eds) *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. Baton Rouge, The World Aquaculture Society, 01-18.
- ODUM, E.P. 1988. *Ecologia*. Rio de Janeiro, Guanabara. 434p.
- PAFFENHOFER, G.A. & JDH STRICKLAND. 1970. A note on the feeding of *Calanus helgolandicus* on detritus. *Mar Biol*, 5: 97-99.
- PARK, D. 1976. Carbon and nitrogen levels as factors influencing fungal decomposers In: ANDERSON, J.M. & A. MACFADYEN (eds.) *The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes*. SYMPOSIUM OF THE BRITISH ECOLOGICAL SOCIETY, 17. Oxford. Blackwell Scientific Publications 1976. 41-59.
- PERDOMO, M.C., RE VARGAS J. & G CAMPOS. 2004. Nutritional value of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and its derived products, extract and cell wall, in poultry feeding. *Arch Latinoam Prod Anim*, 12: 65-89.
- PEREIRA, J.J. & WAP BOEGER. 2002. Nematoda In: RIBEIRO-COSTA, C.S. & RM ROCHA (eds.) *Invertebrados; Manual de aulas práticas*. Ribeirão Preto: Holos Editora, Chap. 7: 69-73.
- PHILLIPS, N.W. 1984. Role of different microbes and substrates as potential suppliers of specific, essential nutrients to marine detritivores. *Bull Mar Sc*, 35: 283-298.

- POMEROY, L.R. & WJ WIEBE. 1988. Energetics of microbial food webs. *Hydrobiologia*, 159: 7-18.
- POMEROY, L.R. 1974. The Ocean's food web, a changing paradigm. *BioScience*, 24: 499-504.
- RAMESH, M.R., KM SHANKAR, CV MOHAN & TJ VARGHESE. 1999. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. *Aquacultural Engineering*, 19: 119-131.
- RAVEN, P.H., RF EVERT & H CURTIS. 1976. *Biologia vegetal*. Rio de Janeiro, Guanabara Dois S.A., 724p.
- RIEMANN, B., P NIELSEN, M JEPPESEN, B MARCUSSEN & JA FUHRMAN. 1984. Diel changes in bacterial biomass and growth rates in coastal environments, determined by means of thymidine incorporation into DNA, frequency of dividing cells (FDC), and microautoradiography. *Mar Ecol Prog Ser*, 17: 227-235.
- RIEMANN, B., HM SORENSEN, PK BJORNSEN, SJ HORSTED, LM JENSEN, TG NIELSEN & M SONDERGAARD. 1990. Carbon budgets of the microbial food web in estuarine enclosures. *Mar Ecol Prog Ser*, 65: 159-170.
- ROCHA, I. P. 2000. Agro negócio do camarão cultivado. *Revista da ABCC*, 2: 23-28.
- RUPPERT, E.E. & RD BARNES. 1994. *Invertebrate zoology*. Orlando, Saunders College Publishing. 1056p.
- SHERR, E.B., BF SHERR & GA PAFFENHÖFER. 1986. Phagotrophic Protozoa as Food for Metazoans: a "Missing" Trophic Link in Marine Pelagic Food Webs?. *Mar Microb Food Webs*, 1: 61-80.
- SHLEGEL, H.G. 1995. *General Microbiology*. New York, Cambridge University Press. 655p.
- SILVA, A.A., EM VARANDA & AC PRIMAVESI. 2005. Effect of inherent variation in the mineral concentration of alfalfa cultivars on aphid populations. *Bragantia*, 64: 233-239.
- STOECKER, D.K. & JM CAPUZZO. 1990. Predation on protozoa: its importance to zooplâncton. *J Plankton Res*, 12: 891-908.
- STOLP, H. 1988. *Microbial ecology: organisms, habitats, activities*. Cambridge University Press 308p.
- STORER, T.I. & RL USINGER. 1979. *Zoologia geral*. São Paulo, Nacional. 756p.
- THRONDSSEN, J. 1978. Preservation and storage. In: SOURNIA, A. *Phytoplankton Manual*. Paris, Unesco, Chap. 4: 69-74.
- UMESH, N.R., KM SHANKAR & CV MOHAN. 1999. Enhancing growth of common carp, rohu and Mozambique tilapia through plant substrate: the role of bacterial biofilm. *Aquacult Int*, 7: 251-260.
- WAHAB, M.A., ME AZIM, MH ALI, MCM BEVERIDGE & S KHAN. 1999. The potential of periphyton-based culture of the native major carp calbaush, *Labeo calbasu* (Hamilton). *Aquacult Res*, 30: 409-419.
- WILBUR, H.M. 1988. Interactions between growing predators and growing prey. In: EBENMAN, B., PERSON, L. (ed.) *Size-Structured Populations*. Berlin: Ecology and evolution. Springer-Verlag, Chap. 4: 157-172.
- YAMADA, E.A., & VC SGARBIERI. 2005. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. *J Agricult Food Chem*, 18: 3931-3936.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- ABREU, P.C. et al. New perspectives in the use of microorganisms in shrimp culture: food source, water quality and diseases control. *Anais Aquicultura Brasil '98*. 1998, Recife, 703-709p.
- ALBERTS, B. et al. **Molecular biology of the cell**. Second edition. New York: Garland Publishing Inc., 1989. 1219p.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. Fourth edition. New York: John Wiley & Sons INC., 1996. 869p.
- AZAM, F. et al. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v.10, p.257-263, 1983.
- AZAM, F.; HASKELL, S.; FOREST, R. The Microbial Loop in Aquaculture. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) **Microbial Approaches to Aquatic Production Systems**. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society, 2002, p. 87-97.
- BALCÁZAR, J.L. et al. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary microbiology**, v.114, p.173-186, 2006.
- BARNES, R.D. **Zoologia dos invertebrados**. Quarta edição. São Paulo: Roca, 1990. 1179p.
- BELL, R.T. Estimating production of heterotrophic bacterioplankton via incorporation of tritiated thymidine. In: KEMP, F.K. et al. (Eds.) **Aquatic Microbial Ecology**. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1996. p. 495-503.
- BIEDENBACH, J.,M. et al. Use of the Nematode *Panagrellus redivivus* as an *Artemia* replacement in a larval penaeid diet. **Journ. of the World Aquac. Society**, v. 20, n.2, p.61-71, 1989.
- BOLD, C.H.; ALEXOPOULOS, C.L.; DELEVORYAS, T. **Morphology of plants and fungi**. Fifth edition. New York: Harper Collins Publishers, 1987 912p.
- BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T. **Biology of microorganisms**. Sixth edition. New Jersey: Prentice Hall, 1991. 874p.
- BUBEL, A.; FITZSIMONS, C. **Microstructure and function of cells: electron micrographs of cell ultrastructure**. Chichester: John Wiley & Sons, 1989. 271p.
- DAY JR, J.W. et al. **Estuarine Ecology**. New York: Wiley, 1989. 558p.
- DECAMP, O. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: role of eukaryotic microorganisms. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) **Microbial Approaches to Aquatic Production Systems**. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society, 2002. p. 79-86.
- GATESOUBE, F.J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.180, p.147-165 1999.
- HOBBIE, J.E.; DALEY, R.J.; JASPER, S. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. **Appl. Envir. Microbiol.**, v.33, p.1225-1228, 1977.
- HOROWITZ, S.; HOROWITZ, A. Microbial intervention in aquaculture. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) **Microbial Approaches to Aquatic Production Systems**. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society, 2002. p. 119-131.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. Quinta edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1991, 260p.
- LARSON, U.; HANGSTRM, A. Phytoplankton exudate release as an energy source for the growth of pelagic bacteria. **Marine Biology**, v.52, p.199-206, 1979.
- MAEDA, M. Microbial communities and their use in aquaculture. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) **Microbial Approaches to Aquatic Production Systems**. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society, 2002. p. 61-78.
- MAEDA, M. Microorganisms and protozoa as feed in mariculture. **Prog. Oceanog.**, v.21, p.201-206, 1988.

- MARTINEZ-CORDOVA, L, R.. **Camaronicultura, avances y tendencias**. México: AGT Editor S.A. 2002, 167p.
- MORIARTY, D.J.W.. The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture**, v.151, p.333-349, 1997.
- MOSS. M.S.. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: LEE, C.S.; O'BRIAN, P. (Ed.) **Microbial Approaches to Aquatic Production Systems**. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society, 2002. p. 01-18.
- PERDOMO, M.C.; VARGAS J., R.E.; CAMPOS, G.. Nutritional value of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and its derived products, extract and cell wall, in poultry feeding. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v.12: n.3, p.89-95, 2004.
- PEREIRA,J.J.; BOEGER, W.A.P. Nematoda In: **Invertebrados**; Manual de aulas práticas. Ribeirão Preto: Holos Editora Ltda., 2002. p.69-73.
- POMEROY, L.R. The Ocean's food web, a changing paradigm. **BioScience** v.24, p.499-504, 1974.
- POMEROY, L.R.; WIEBE, W.J. Energetics of microbial food webs. **Hydrobiologia**, v.159, p.7-18, 1988.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Quinta edição. Rio de Janeiro: Editora Koogan, 1996. 728p.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; CURTIS, H. **Biologia vegetal**. Segunda edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Dois S.A., 1976. 724p.
- RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. **Invertebrate zoology**. Sixth edition. Orlando: Sauders College Publishing, 1994. p.1056.
- SHERR, E.B.; SHERR, B.F. Marine Microbes. In: KIRCHMAN, D.L.(Ed.) **Microbial ecology of the oceans**. New York: Wiley-Liss, 2000, p. 351-386.
- SHLEGEL, H.G. **General Microbiology**. Seventh Edition. New York: Cambridge University Press, 1995. 655 p.
- STOECKER, D.K.; CAPUZZO, J.M. Predation on protozoa: its importance to zooplâncton. **Journal of Plankton Research**, v.12, n.5, p.891-908, 1990.
- STOLP, H. **Microbial ecology: organisms, habitats, activities**. Great Britain: Cambridge University Press, 1988. 308p.
- STORER, T.I.; USINGER,R.L. **Zoologia Geral**. Quinta edição. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1979. 756p.
- STROM, S. Bacterivory: Interactions between bacteria and their grazers. In: KIRCHMAN, D.L.(Ed.) **Microbial ecology of the oceans**. New York: Wiley-Liss, 2000, p. 351-386.
- THOMPSON, F.L.; ABREU, P.C.; WASIELESKY, W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture**, v.203, p.263-278, 2002.
- WARWICK, R.M. Meiofauna: Their role in marine detrital systems. In: MORYARTI, D.J.W.; PULLIN, R.S.V. (Eds.) **Detritus and microbial ecology in aquaculture**. (Proceedings of the Conference on Detrital Systems for Aquaculture). Bellagio: ICLARM, 1987. 282-290p.
- WHAL, M. Marine epibioses I. Fouling and antifouling: some basic aspects. **Mar. Ecology: ProgramSeries**, v.58, p.175-189, 1989.
- YAMADA,E.A.; SGARBIERI,V.C. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. **J. Agric. Food Chem.**, Campinas, v.53, n.18, p.3931-3936, 2005.
- ZHUCOVA, N.V.; KHARLAMENKO, V.I. Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. **Aquatic Microbial Ecology**, v.17,n.2, p.153-157, 1999.