



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

**ROBÉRIO MIRES DE FREITAS**

**EFICIÊNCIA NA APLICAÇÃO DO PERIFÍTON HETEROTRÓFICO EM  
DIFERENTES SUBSTRATOS ARTIFICIAIS E NATURAIS NO DESEMPENHO  
ZOOTÉCNICO DE TILÁPIAS DO NILO**

**FORTALEZA**

**2021**

ROBÉRIO MIRES DE FREITAS

EFICIÊNCIA NA APLICAÇÃO DO PERIFÍTON HETEROTRÓFICO EM DIFERENTES  
SUBSTRATOS ARTIFICIAIS E NATURAIS NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE  
TILÁPIAS DO NILO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientadora: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Coorientadora: Dra. Jéssica Lucinda Saldanha da Silva.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- F938e Freitas, Robério Mires de.  
Eficiência na aplicação do perifíton heterotrófico em diferentes substratos artificiais e naturais no desempenho zootécnico de tilápias do Nilo / Robério Mires de Freitas. – 2021.  
57 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.  
Coorientação: Profa. Dra. Jéssica Lucinda Saldanha da Silva.
1. Perifíton. 2. Meio suporte. 3. Cultivo baseado em biofilme. I. Título.
- CDD 639.2
-

ROBÉRIO MIRES DE FREITAS

EFICIÊNCIA NA APLICAÇÃO DO PERIFÍTON HETEROTRÓFICO EM DIFERENTES  
SUBSTRATOS ARTIFICIAIS E NATURAIS NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE  
TILÁPIAS DO NILO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Oscarina Viana de Sousa (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Rosa Helena Rebouças  
Universidade Federal Rural do Delta do Parnaíba (UFDPAR)

A todos que bravamente persistiram nos seus  
sonhos e metas em tempos tão adversos.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

A Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de aperfeiçoamento acadêmico.

A minha orientadora Profa. Dra Oscarina Viana de Sousa, pela orientação, ensinamento e confiança.

A Dra Jéssica Lucinda Saldanha da Silva, pelo o auxílio nas discussões, dicas e execução do trabalho.

A Raquel Cavalcante Soares, pelo apoio em todas as fases de execução e pela amizade.

Ao João Paulo da Silva Siqueira, pelo auxílio na execução do trabalho e principalmente pelo companheirismo, conversas e incentivo que foram determinantes para concretização das etapas da pesquisa.

A Fátima Cristiane Teles de Carvalho, pelo incentivo e apoio técnico ao decorrer das fases de execução da pesquisa.

Aos membros do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado, que direta ou indiretamente colaboraram com a pesquisa.

Aos amigos, Alexandra, Vladila, Larissa, Daniel, Gabriel, Ivis, Jhones e João Pedro que facilitaram a jornada acadêmica proporcionando bons momentos de descontrações, aprendizagem e por sempre estarem ao meu lado contribuindo direta ou indiretamente para a conclusão da pesquisa.

E por fim, aos meus pais por todo apoio e incentivo.

“Os benefícios da ciência não são para os cientistas, e sim para a humanidade.”

Louis Pasteur

## RESUMO

As tilápias apresentam características e atributos que as torna uma espécie ideal para o cultivo em sistemas intensivos. Esse padrão de cultivo normalmente gera um questionamento quanto a sustentabilidade ambiental. Alternativas vem sendo buscadas visando mitigar problemas ambientais como a manipulação das comunidades naturais dos sistemas aquáticos como o biofilme perifítico. Basicamente, as comunidades microbianas podem se beneficiar das altas cargas de nutrientes promovendo a melhoria da qualidade de água e melhorando o desempenho do cultivo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o processo de colonização e estabilidade do biofilme perifítico em condição *indoor* e em diferentes tipos de substratos submersos, analisando a influência destes na manutenção da qualidade de água, desempenho zootécnico e resistência de juvenis de *Oreochromis niloticus* frente ao patógeno *Pseudomonas aeruginosa*. A pesquisa foi realizada no Instituto de Ciências do Mar – Labomar. Foi avaliado o desempenho do biofilme perifítico formado por um consórcio bacteriano constituído por *Rhizobium rosettiformans*; *Pseudomonas* sp; *Enterobacter* sp; *Burkholderia* sp no cultivo de tilápias do Nilo. Para tanto, o desenvolvimento do biofilme ocorreu em distintos materiais como substratos, sendo empregado em diferentes tratamentos (T1 redes flexíveis de plástico; T2 placas de PVC; T3 fibra natural de juta e T4 controle ausência de substratos). A colonização da comunidade microbiana foi modificada pelo tipo de material usado como substrato, sendo observado diferenças na quantificação bacteriana e componentes do zooperifíton. A presença do biofilme nos ambientes de cultivo proporcionou um melhor crescimento para os peixes e resistência a *Pseudomonas aeruginosa* quando comparado com o tratamento controle, mas os resultados não diferiram entre os tratamentos com diferentes substratos. Não foi visto influência do biofilme nos parâmetros de qualidade de água.

**Palavras-chaves:** Perifíton. Meio suporte. Cultivo baseado em biofilme.

## ABSTRACT

Tilapia have characteristics and attributes that make them an ideal species for cultivation in intensive systems. This cultivation pattern usually raises questions about environmental sustainability. Alternatives have been sought to mitigate environmental problems such as the manipulation of natural communities in aquatic systems such as periphytic biofilm. Basically, microbial communities can benefit from high nutrient loads by promoting improved water quality and improving cultivation performance. The present study aimed to evaluate the colonization process and stability of the periphytic biofilm in indoor conditions and in different types of submerged substrates, analyzing their influence on the maintenance of water quality, zootechnical performance and resistance of juveniles of *Oreochromis niloticus* against the pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. The research was carried out Instituto de Ciências do Mar – Labomar, where was evaluated the performance of the periphytic biofilm formed by a bacterial consortium consisting of *Rhizobium rosettiformans*; *Pseudomonas* sp; *Enterobacter* sp; *Burkholderia* sp in the culture of Nile tilapia. For this, the development of biofilm occurred in different materials as substrates, being used in different treatments (T1 flexible plastic nets; T2 PVC plates; T3 natural jute fiber and T4 control absence of substrates). The colonization of the microbial community was modified by the type of material used as a substrate, with differences in the bacterial quantification and components of the zooperifiton. The presence of biofilm in the cultivation environments provided better growth for fish and resistance to *Pseudomonas aeruginosa* when compared to the control treatment, but the results did not differ between treatments with different substrates. No influence of biofilm on water quality parameters was seen.

**Keywords:** Periphyton. Half support. Biofilm based cultivation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Principais fatores bióticos e abióticos que podem determinar a dinâmica o estabelecimento do biofilme perifítico nos ecossistemas aquáticos.....	15
Quadro 01 – Principais substratos naturais e artificiais utilizados para a colonização da biomassa perifítica em sistemas de cultivos.....	19
Quadro 02 – Parâmetros avaliados na caracterização da qualidade de água dos distintos tratamentos ao decorrer da fase experimental.....	19
Figura 02 – Morfologia do biofilme perifítico desenvolvido em diferentes substratos visualizados sob microscópio óptico.....	33
Figura 03 – Materiais empregados como substratos para o desenvolvimento do biofilme perifítico amostrados ao fim do cultivo.....	34
Figura 04 – Caracterização quantitativa da comunidade bacteriana desenvolvida em sistemas de cultivos com substratos para a colonização microbiana e da água ao decorrer do cultivo.....	35
Figura 05 – Comparação do acúmulo de biomassa bacteriana nos diferentes tratamentos de cultivo baseados em biofilme e tratamento controle.....	36
Figura 06 – Similaridade dos resultados de ganho de peso de juvenis de tilápias do Nilo cultivados em diferentes tratamentos com e sem biofilme perifítico e diferentes substratos.....	41
Figura 07 – Correlação de Pearson do peso médio e os resultados da contagem padrão e placa dos distintos tratamentos de cultivo.....	42
Figura 08 – Correlação de Pearson do comprimento médio e os resultados da contagem padrão em placas dos distintos tratamentos.....	43
Quadro 03 – Sinais clínicos que indicam infecção por nos peixes dos distintos tratamentos de cultivo.....	44
Figura 09 – Sinais clínicos observados nos peixes infectados por <i>P.aeruginosa</i> .....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Quantificação da comunidade bacteriana desenvolvida em sistemas de cultivos com substratos para a colonização microbiana e da água.....	35
Tabela 02 – Valores médios dos parâmetros de qualidade de água avaliados ao longo do cultivo dos quatro tratamentos.....	37
Tabela 03 – Valores médios dos parâmetros zootécnicos de juvenis de tilápia do Nilo avaliados ao longo do cultivo dos quatro tratamentos.....	38

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>37</b>
<b>2.1</b>	<b>Referencial Teórico.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.1</b>	<i>Aquicultura mundial e os desafios do processo de intensificação nos sistemas de cultivo.....</i>	<b>13</b>
<b>2.1.2</b>	<i>Perifíton e os principais fatores que influenciam o crescimento da comunidade.....</i>	<b>14</b>
<b>2.1.3</b>	<i>Influência do biofilme perifítico no cultivo de tilápias.....</i>	<b>24</b>
<b>2.1.4</b>	<i>Domesticação do biofilme perifítico.....</i>	<b>25</b>
<b>2.2</b>	<b>Material e Métodos.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2.1</b>	<i>Delineamento experimental.....</i>	<b>27</b>
<b>2.2.2</b>	<i>Preparação do inóculo bacteriano.....</i>	<b>28</b>
<b>2.2.3</b>	<i>Experimento in vivo.....</i>	<b>29</b>
<b>2.2.4</b>	<i>Caracterização do biofilme perifítico.....</i>	<b>29</b>
<b>2.2.4.1</b>	<i>Acompanhamento do fitoperifíton e zooperifíton.....</i>	<b>29</b>
<b>2.2.4.2</b>	<i>Acompanhamento da comunidade bacteriana.....</i>	<b>29</b>
<b>2.2.5</b>	<i>Parâmetros de qualidade de água.....</i>	<b>30</b>
<b>2.2.6</b>	<i>Desempenho zootécnico das tilápias do Nilo.....</i>	<b>30</b>
<b>2.2.7</b>	<i>Teste desafio por imersão.....</i>	<b>31</b>
<b>2.2.8</b>	<i>Análises estatística.....</i>	<b>31</b>
<b>2.3</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>31</b>
<b>2.3.1</b>	<i>Caracterização do biofilme perifítico (Acompanhamento do fitoperifíton e zooperifíton).....</i>	<b>32</b>
<b>2.3.2</b>	<i>Caracterização do biofilme perifítico (Acompanhamento da comunidade bacteriana).....</i>	<b>34</b>
<b>2.3.3</b>	<i>Parâmetros de qualidade de água.....</i>	<b>36</b>
<b>2.3.4</b>	<i>Desempenho zootécnico das tilápias do Nilo.....</i>	<b>38</b>
<b>2.3.5</b>	<i>Teste desafio por imersão.....</i>	<b>43</b>
<b>3</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>

<b>APÊNDICE A – PERFIL ENZIMÁTICO, ANTAGONISMO FRENTE A PSEUDOMONAS AERUGINOSA E FORMAÇÃO DE BIOFILME DAS BACTERIAS QUE COMPUSERAM O CONSÓRCIO INICIADOR DO BIOFILME PERIFITICO (ADAPTADO DE DA SILVA, 2018).....</b>	<b>56</b>
---	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos mais importantes setores de produção de alimentos. Apesar de não apresentar altas taxas de crescimento a nível mundial desde a década de 1990, ainda continua sendo o setor desta categoria que mais cresce, com taxa anual de 4,5% entre os anos de 2011 a 2018, como mostram os últimos dados referente a aquicultura mundial (FAO, 2020).

Dentre as atividades desenvolvidas na aquicultura, um setor que vem recebendo destaque é a piscicultura. No ano de 2017, cerca da metade da produção mundial aquícola foi referente ao cultivo de peixes, havendo uma grande expansão principalmente dos cultivos em ambientes de água doce (EL-SAYED, 2020). Esses autores ainda apontam como uma das principais espécies cultivadas, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Atualmente o cultivo desta espécie encontra-se em expansão em todo o mundo, no entanto, fatores como a escassez de água doce e a competição por este recurso com outras atividades, como a agricultura dentre algumas atividades urbanas, faz com que os cultivos mudem gradativamente dos tradicionais sistemas semi-intensivos para os intensivos (FAO, 2020). Essa mudança no sistema de produção da tilapicultura faz com que haja uma maior entrada de resíduos orgânicos nos cultivos, resultante de insumos de ração não consumida e excretas dos animais que se decompõem em amônia (SCHULTER; VIEIRA-FILHO, 2017).

Neste contexto, uma medida promissora para a mitigação desses problemas seria a utilização das comunidades naturais dos sistemas aquáticos, que poderiam beneficiar-se das altas cargas de nutrientes promovendo a melhoria da qualidade de água e melhorando o desempenho do cultivo, além de serem convertidos em massa corporal pelos organismos cultivados (DE-MORAIS *et al.*, 2020).

Com base nisso, várias tecnologias mais sustentáveis vêm ganhando importância quanto a sua aplicação em atividades aquícolas, dentre estas pode-se destacar a aquicultura baseada em biofilme perifítico (REN *et al.*, 2019).

O biofilme perifítico ou comunidade perifítica é constituído por um espontâneo e complexo microecossistema composto por uma matriz mucopolissacarídica com um agregado de microrganismos heterotróficos e autotróficos tais como: bactérias, fungos, microalgas, protozoários, componentes do zooplâncton dentre outros invertebrados que podem viver aderidos a substratos submersos (AZIM *et al.*, 2005; SABATER *et al.*, 2007). Desempenha um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos e conseqüentemente nos ambientes de cultivo no que se refere a bioprodutividade, através da remoção de substâncias tóxicas, nutrientes e metais dos corpos hídricos (WU, 2017; GARCIA *et al.*, 2016).

Contudo, a aplicação do biofilme nos sistemas de aquicultura ainda não foi analisada em todas as suas dimensões (DE-MORAIS *et al.*, 2020). Havendo a necessidade do entendimento entre as relações da comunidade e meio, podendo ser avaliado através da observação das respostas da comunidade a diferentes perturbações ambientais e averiguando a sua capacidade de recuperação (FREITAS, 2018). Assim sendo, essas etapas são necessárias para o aprimoramento do conhecimento prático acerca dessa comunidade, que levaria a um melhor aproveitamento das funções ecológicas no ambiente de piscicultura que são dependentes de fatores como: composição taxonômica da comunidade, luz e o tipo de substrato para colonização (ABWAO *et al.*, 2014).

Isto posto, há necessidade de pesquisas que avaliem os efeitos da oferta de diferentes condições ambientais sobre o estabelecimento e dinâmica do biofilme perifítico em ambientes de piscicultura, identificando as possíveis interferências indiretas sobre a manutenção da qualidade de água e desempenho zootécnico.

Considerando essas condições, e partindo de um consórcio bacteriano selecionado para iniciar a formação do biofilme, permitindo uma composição base em todos os tratamentos avaliados, a hipótese a ser testada neste trabalho é que a dinâmica sucessional do biofilme perifítico, assim como as condições ofertadas por esta comunidade ao meio de cultivo, sofrerá modificações dependentes do tipo de material utilizado como substratos para o estabelecimento da comunidade microbiana.

Portanto, o objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o processo de colonização e estabilidade do biofilme perifítico em condição *indoor* e em diferentes tipos de substratos submersos, analisando a influência destes na manutenção da qualidade de água, desempenho zootécnico e resistência de juvenis de *Oreochromis niloticus* frente ao patógeno *Pseudomonas aeruginosa*. E especificamente:

- 1) Avaliar o processo de colonização e estabilidade do consórcio bacteriano iniciador do biofilme perifítico e demais componentes;
- 2) Identificar o melhor tipo de substrato para a acumulação da biomassa perifítica;
- 3) Comparar os parâmetros zootécnicos de *O. niloticus* de distintos sistemas de cultivo;
- 4) Analisar os parâmetros de qualidade de água dos distintos sistemas de cultivo;
- 5) Verificar a resistência dos peixes cultivados em sistemas com diferentes substratos a *P. aeruginosa*;
- 6) Correlacionar os principais parâmetros zootécnicos com a bioacumulação da comunidade bacteriana do biofilme perifítico.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Referencial Teórico

#### *2.1.1 Aquicultura mundial e os desafios do processo de intensificação nos sistemas de cultivo*

A aquicultura é uma atividade que consiste no cultivo em sistemas controlados ou semicontrolados de espécies aquáticas ou que tenham parte do seu ciclo de vida em meio aquático (SCHULTER; VIEIRA-FILHO, 2017). Evidencia-se como uma atividade sustentável e que gera impactos positivos no setor social e econômico através da geração de empregos, renda, redução da pobreza e fome (SIQUEIRA, 2018). Ainda segundo o autor, destaca-se através da sua rápida expansão graças a inserção no final do século XX de novas técnicas de produção acessíveis, que permitiu uma tendência de alta produção para as décadas seguintes.

Com crescimento evidente e rápido desde a década de 1970, a aquicultura inicialmente respondia por menos de 4% do pescado consumido no mundo, no entanto a partir do ano de 2015 superou a pesca como origem de pescado para o consumo humano, chegando a representar 53% de toda a produção mundial (HAMILTON, 2020).

Em 2018, a produção global foi de 114,5 milhões de toneladas superando o produzido nos anos anteriores. Desse total, cerca de 54,3 milhões de toneladas foi referente ao cultivo de peixes, caracterizando-se como o grupo mais cultivado com 7,3 milhões de toneladas produzido em mariculturas e aquicultura costeira e 47 milhões na aquicultura continental (FAO, 2020). Para esse grupo de organismos, segundo o último levantamento da FAO, a espécie mais cultivada mundialmente foi a Carpa Capim (*Ctenopharyngodon idellus*), seguido pela Carpa Prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Esse crescimento é resultado principalmente da expansão dos cultivos intensivos de peixes, seja em viveiros escavados, tanques, *raceways*, gaiolas flutuantes, sistemas de recirculação e aquaponia (EL-SAYED, 2020). Ainda segundo o autor, dentre os grupos citados, os indivíduos do gênero *Oreochromis* apresentam destaque no cultivo intensivo devido sua rusticidade, o que permite tolerar altas densidades, assim como uma grande variedade de condições ambientais, podendo ser resistentes a estresse, doenças e manuseio quando comparadas com outras espécies de interesse econômico.

A principal vantagem da intensificação da produção é a capacidade de produzir mais em uma área reduzida e com menor volume de água disponível, além da alta eficiência,

previsibilidade e capacidade produtiva (NUNES, 2019). No entanto, outros fatores como: altos investimentos iniciais, plantas livres de enfermidades, ração de alta qualidade nutricional, podem dificultar o processo de intensificação (EL-SAYED, 2020). Associado a isso, a decorrente limitação de áreas interiores, acompanhado pela competição com atividades agrícolas e industriais, dentre outros requisitos urbanos; a escassez de recursos hídricos continentais, principalmente nas regiões semiáridas e as mudanças climáticas, configura-se como fatores que podem limitar a expansão da atividade (FAO, 2020).

Ainda associado a esse processo, podem surgir problemas ambientais relacionados ao acúmulo de nutrientes que geram preocupações quanto a sustentabilidade desses empreendimentos (STRAIN, 2005). Li e Boyd (2016) enfatizam que com os sistemas intensificados há uma maior acumulação de compostos nitrogenados, que leva a deterioração na qualidade da água, sendo o maior fator que limita a produtividade e intensificação da atividade.

Em vista disso, um processo de intensificação não planejado do empreendimento pode ser questionado no que se refere a sustentabilidade dos cultivos. Conforme ressaltam Anand *et al.* (2019), à medida que os cultivos intensivos expandem-se, surgem desafios como o aumento dos custos na alimentação dos organismos, surtos de doenças e questões relacionadas a sustentabilidade ambiental. Desse modo, surge a necessidade da adoção de estratégias de cultivos e técnicas que visam a manutenção da qualidade de água e a redução da ocorrência de patógenos nos ambientes de cultivos (FERREIRA, 2014).

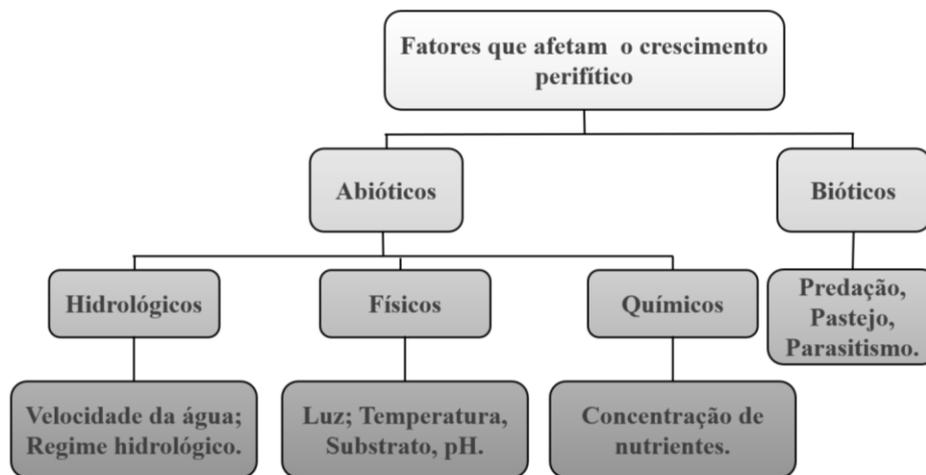
### ***2.1.2 Perifíton e os principais fatores que influenciam o crescimento da comunidade***

O biofilme perifítico é definido como uma complexa comunidade de microrganismos constituída por bactérias, fungos, protozoários, microalgas, zooplâncton dentre outros invertebrados que vivem associados a uma matriz orgânica e aderidos a substratos submersos (AZIM *et al.*, 2005; GATUNE; VANREUSEL; DE TORCH, 2017).

Se destaca como um importante componente dos ecossistemas aquáticos desempenhando diversas funções ecológicas, que são essenciais para esses ambientes, por meio da influência da produção primária, cadeias alimentares e reciclagem de nutrientes e matéria (MOHAPATRA *et al.*, 2016). Devido a isso, os estudos com essa comunidade facilitam a compreensão de vários processos naturais desde aqueles relacionados a produtividade até investigações sobre a interação entre os níveis tróficos (SAIKIA; DAS, 2009).

No entanto, o estabelecimento da comunidade depende de uma série de fatores que determinam a dinâmica e o crescimento dos seus componentes no biofilme, e conseqüentemente a sua função (VAN DAM *et al.*, 2002). Wu (2017) em seu livro que aborda as funções e aplicações do perifíton na remediação ambiental, define e categoriza os principais fatores que podem influenciar o seu crescimento. De acordo com esse autor, os fatores são divididos em dois grupos, os abióticos que podem ser químicos (concentração de nutrientes), físicos (temperatura, pH, substrato e luz) e hidrológicos (velocidade da água e regime hidrológico) e os bióticos como: predação, pastejo e parasitismo (Figura 01).

Figura 01 – Principais fatores bióticos e abióticos que podem determinar a dinâmica o estabelecimento do biofilme perifítico nos ecossistemas aquáticos.



Fonte: Adaptado Wu, 2017.

### 2.1.2.1 Concentração de nutrientes

Um importante caminho para a compreensão da relação entre a concentração de nutrientes e o biofilme perifítico, seriam os estudos que abordam a influência da adição de nutrientes no meio (WU, 2017). Dessa forma, trabalhos como o de Xu, Morris e Samocha (2016) enquadra-se nessa afirmação. Esses autores demonstraram que a manipulação da concentração de carbono e nitrogênio em ambientes de cultivo, pode afetar diretamente a taxa de crescimento do biofilme, devido a ocorrência de diferentes vias de utilização desses nutrientes como substratos pelos microrganismos.

Essas informações estão de acordo com os resultados observados por Ren *et al.* (2019), em um estudo que avaliou os efeitos da taxa de carbono e nitrogênio na capacidade de

bactérias constituintes do biofilme em melhorar a qualidade da água, através da metodologia de bioflocos aplicado no cultivo de *L. vannamei*. Esses autores destacaram que o crescimento e função de diversos grupos bacterianos do biofilme, sofre influência direta da concentração desses nutrientes no ambiente, como no aumento da abundância de bactérias heterotróficas mediante ao aumento da concentração de nutrientes.

Isso também é observado por Wei, Wang e Liao (2020), em um estudo que avaliou a influência da adição de diferentes fontes de carbono em ambientes de cultivo. Esses autores notaram que a concentração de carbono afetou não somente a estrutura e composição microbiana como também a função exercida pelo biofilme, onde observaram que de acordo com a fonte de carbono utilizada, amido, glicerol ou glicose a atividade antagonista do biofilme frente a patógenos alternava. No entanto, estudos como o de Jiang *et al.* (2020) verificaram que adição de fontes de carbono como amido, pode alternar a riqueza de espécies do biofilme, mas não a diversidade que seria um fator preponderante na facilitação da decomposição de poluentes químicos do meio e conseqüentemente, na melhoria da qualidade de água.

Nesse contexto, a adição de nutrientes poderá influenciar a estrutura do biofilme de forma direta, isso irá depender da concentração e o tipo de componente químico. Por exemplo, fontes de nutrientes simples de assimilação requerem menos tempo de decomposição, refletindo diretamente no tempo de resposta de determinados grupos de microrganismos, que por sua vez, podem ter um incremento na sua abundância (WEI; WANG; LIAO, 2020). Diante disso, com o aumento da ocorrência de alguns grupos no biofilme, pode haver o impedimento do estabelecimento de outros de forma indireta a concentração de nutrientes. Por exemplo, uma maior demanda química de oxigênio resultante das altas taxas de respiração por grupos preestabelecidos do biofilme, devido fácil e rápida assimilação dos nutrientes disponíveis, pode limitar o crescimento e estabelecimento de outros (JIANG *et al.*, 2020).

#### 2.1.2.2 Temperatura

Wu (2017), sugere que a temperatura da água interfere no crescimento e estabelecimento do biofilme perifítico, no que se refere as mudanças na taxa do metabolismo dos constituintes da comunidade. As mudanças na temperatura do meio, têm relação direta em processos como: respiração, fotossíntese e atividade enzimática que determinará a formação do biofilme e eficiência na utilização de substratos (nutrientes).

Isso está de acordo com os resultados observados em estudos aplicados em ambientes de cultivo. Levy *et al.* (2017) em um estudo que avaliou a eficiência de biofiltros

baseados em biofilme perifítico, observaram uma relação direta entre o aumento na taxa de crescimento específico (TCE) da comunidade perifítica para cada 1 °C de aumento na temperatura da água. Também houve mudanças na TCE com variação da composição da comunidade de acordo com a estação.

Consequentemente, com a alteração da composição do biofilme exposto a uma variação de temperatura, a função exercida pela comunidade também poderá variar. Cole *et al.* (2019) avaliando os efeitos da adição de substratos em ambientes de cultivo na composição bacteriana e concentrações de nutrientes, encontraram uma maior abundância na comunidade bacteriana no verão, que coincidiu com os menores valores na concentração de nitrogênio. Segundo esses autores, isso ocorreu devido uma melhor performance do grupo de bactérias nitrificantes, principalmente estirpes do gênero *Bacillus* que foram favorecidas com temperaturas ideais entre 25 °C a 35 C°, nessa estação.

#### 2.1.2.3 pH

Há poucos estudos que avaliam o real impacto do pH sobre a dinâmica e função da comunidade perifítica. No entanto, Wu (2017) afirma que a diminuição do pH pode estar relacionada a redução da riqueza de espécies no biofilme, ao passo que pode aumentar a abundância de determinados grupos, como alguns representantes de algas perifíticas. Segundo o autor, organismos da família Zygnematacea são frequentemente descritos sendo favorecidos com a diminuição do pH do meio.

O pH pode facilitar na absorção de íons metálicos pelos organismos aquáticos, através do aumento da solubilidade desses componentes. Foi verificada uma relação inversa entre o pH e a capacidade de absorção de arsênio pelo biofilme perifítico em corpos hídricos contaminados (LOPEZ; FUNK; BUCHWALTER, 2017). O mesmo comportamento foi verificado para algumas espécies de algas (BIODEG; SIBI, 2014), demonstrando que baixos valores de pH podem aumentar a capacidade de depuração desses organismos.

#### 2.1.2.4 Substrato

O substrato oferece um espaço físico para o estabelecimento do biofilme perifítico, no entanto a abundância e composição da comunidade pode ser determinada de acordo com o tipo utilizado, devido suas propriedades químicas e físicas (WU, 2017). Eles ainda podem enquadrar-se em dois grupos: substratos naturais e artificiais (MOSCHINI, 1999), que

determinam a composição e o período do desenvolvimento da comunidade (BICUDO; MENEZES, 2006).

Dessa forma, nos estudos que investigam a interação entre o biofilme perifítico e o meio, o substrato utilizado pode determinar o desenvolvimento dos microrganismos de diversas formas, influenciando desde a produtividade primária, colonização, sucessão dos organismos constituintes a eficiência da remoção de compostos poluentes (CAO *et al.*, 2019). Todavia, a grande diversidade de substratos pode facilitar os estudos e a aplicação do perifíton, quanto a escolha do que melhor adequa-se a pesquisa ou o layout do cultivo (RICHARD *et al.*, 2009).

Para os estudos realizados em ambientes de cultivo, pode-se notar a utilização de uma maior diversidade de substratos artificiais aplicados a culturas de diversas espécies do que os naturais (Quadro 01). Geralmente a composição dos substratos artificiais tem pouca interferência sobre a comunidade, dessa forma, minimizando as diferenças da composição dos organismos e possibilitando uma melhor formação das fases de crescimento e estabelecimento (GORDILLO-GUERRA; GUEVARA; REINOSO-FLÓREZ, 2020).

No entanto, alguns autores apontam a necessidade da realização de estudos futuros que investiguem a utilização e capacidade de retenção de biomassa perifítica em substratos biodegradáveis (naturais), devido a inconsistência dos atuais resultados referente a presença e abundância de determinados grupos de microrganismos no biofilme neste tipo de substrato (RICHARD *et al.*, 2009).

Quadro 01 – Principais substratos naturais e artificiais utilizados para a colonização da biomassa periférica em sistemas de cultivos.

Substrato	Tipo	Autor	Espécie cultivada
Aquamats®*	Artificial	Russo, 2008	<i>Litopenaeus vannamei</i> , <i>Farfantepenaeus paulensis</i>
		Santana-Kumar <i>et al.</i> , 2017	<i>Litopenaeus vannamei</i>
		Ballester <i>et al.</i> , 2007	<i>Farfantepenaeus paulensis</i>
Fibra de Vidro	Artificial	Richard <i>et al.</i> , 2009	***
Placas de PVC	Artificial	Cavalcante <i>et al.</i> , 2017	<i>Oreochromis niloticus</i>
		Audelo-Naranjo <i>et al.</i> , 2012	<i>Litopenaeus vannamei</i>
		Khatoon <i>et al.</i> , 2007	<i>Penaeus monodon</i>
		Milstein; Peretz; Harpaz, 2008	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i>
Rede de Jardim ≥ 5mm (malha)	Artificial	Gómez-Ramírez <i>et al.</i> , 2019	***
		Richard <i>et al.</i> , 2009	***
		Milstein; Peretz; Harpaz, 2008	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i>
Rede Polietileno ≤ 3mm (malha)	Artificial	Guttman <i>et al.</i> , 2018	<i>Mugil cephalus</i>
		Levy <i>et al.</i> , 2017	<i>Mugil cephalus</i>
		Richard <i>et al.</i> , 2009	***
		Milstein; Peretz; Harpaz, 2008	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i>
		Schweitzer <i>et al.</i> , 2013	<i>Litopenaeus vannamei</i>
		Neves, 2009	<i>Litopenaeus vannamei</i> , <i>Mugil platanus</i>
Tecido	Artificial	Gómez-Ramírez <i>et al.</i> , 2019	***
Telha de Cerâmica	Artificial	Khatoon <i>et al.</i> , 2007	<i>Penaeus monodon</i>
The Water Cleanser™*	Artificial	Audelo-Naranjo; Votolina; Romero-Beltrán, 2012	<i>Litopenaeus vannamei</i>
<i>Barringtonia</i> sp	Natural	Azim <i>et al.</i> , 2002 b	Peixe**
Bambu	Natural	Anand <i>et al.</i> , 2019	<i>Penaeus monodon</i>
		Cole <i>et al.</i> , 2019	<i>Cherax cainii</i>
		Chikorela; Chirwa; Mzengereza, 2019	<i>Tilapia rentali</i>
		Biswas <i>et al.</i> , 2017	<i>Mugil cephalus</i>
		Kumar <i>et al.</i> , 2015	<i>Penaeus monodon</i>
		Anand <i>et al.</i> , 2013	<i>Penaeus monodon</i>

“Continua”

## “Conclusão”

Quadro 01 – Principais substratos naturais e artificiais utilizados para a colonização da biomassa perifítica em sistemas de cultivos.

Substrato	Tipo	Autor	Espécie cultivada
Bambu	Natural	Audelo-Naranjo <i>et al.</i> , 2010	<i>Litopenaeus vannamei</i>
		Asaduzzaman <i>et al.</i> , 2009	<i>Aristichthys nobilis</i> , <i>Ctenophoraryngodon idella</i>
		Khatoon <i>et al.</i> , 2007	<i>Penaeus monodon</i>
		Mridula <i>et al.</i> , 2003	<i>Labeo fimbriatus</i>
		Azim <i>et al.</i> , 2002 a	<i>Labeo rohita</i> , <i>Catla catla</i> , <i>Labeo calbasu</i>
Esponja vegetal ( <i>Luffa aegyptiaca</i> )	Natural	Khatoon <i>et al.</i> , 2007	<i>Penaeus monodon</i>
Folha de Palmeira ( <i>Phoenix dactylifera</i> )	Natural	Milstein; Peretz; Harpaz, 2008	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i>
Madeira	Natural	Gómez-Ramírez <i>et al.</i> , 2019	***
		Richard <i>et al.</i> , 2009	***

Fonte: Próprio autor.

Legenda: \*Substratos artificiais comerciais; \*\* Espécie cultivada não informada pelos autores; \*\*\* Ausência de animais na pesquisa.

#### 2.1.2.5 Luz

O fator luminosidade irá determinar a dinâmica da comunidade perifítica através da influência na temperatura e crescimento dos organismos constituintes, regulando principalmente os componentes autotróficos e definindo significativamente a concentração de clorofila- $\alpha$  nos ambientes aquáticos (WU, 2017). Dessa forma, o fluxo luminoso pode modificar a produção primária, fixação de carbono, ciclagem de nutrientes e o desempenho na melhoria da qualidade de água pelos organismos fotoautotróficos (MOHAPATRA *et al.*, 2016; FRANCO, 2013).

Diante disso, estudos são executados nos ambientes de cultivo, com o objetivo de investigar os efeitos da variação da luminosidade sobre a dinâmica das comunidades microbianas e/ou desempenho das espécies cultivadas.

Trabalhos como Fleckenstein *et al.* (2019) que averiguaram o efeito da iluminação suplementar com LED na qualidade de água e performance do *L. vannamei* em sistemas de cultivos *indoor*. Esses autores constataram que os ambientes expostos a uma maior luminosidade tiveram melhores resultados devido ao crescimento dos organismos fotossintéticos, quando comparado aos ambientes com baixos níveis de iluminação. Esses

achados apontam a importância da exposição de sistemas de cultivos à luz, devido ao aumento da abundância de organismos autotróficos nesses ambientes, possibilitando benefícios como a melhoria da qualidade de água, desempenho zootécnico e o aumento da resistência das espécies cultivadas frente a diversos patógenos (GE *et al.*, 2017).

No entanto, o crescimento do fitoplâncton também pode causar eventuais problemas durante a fase de cultivo. Flutuações diárias na qualidade de água dos sistemas podem ser relacionadas ao crescimento desses, e nos empreendimentos dependentes da produtividade primária, pode ocorrer a acumulação de compostos nitrogenados em dias nublados. Em tanques de cultivo de *L. vannamei* com tecnologia de bioflocos foi verificado um aumento significativo da melhoria da qualidade de água em ambientes com baixos níveis de luminosidade (REN *et al.*, 2019). Segundo os autores, a condição de luz e taxa de nutrientes permitiram o estabelecimento de bactérias heterotróficas pertencentes ao ciclo do nitrogênio que foram eficientes na oxidação de amônia e nitrito dos sistemas de cultivo.

Segundo os autores supracitados, essa condição de luz e taxa de nutrientes ofertadas, permitiram o estabelecimento de bactérias heterotróficas pertencentes ao ciclo do nitrogênio que foram eficientes na oxidação de amônia e nitrito dos sistemas de cultivo.

Esses resultados estão de acordo com o observado por Jiang *et al.* (2020) em um estudo que buscou entender a influência da adição de diferentes taxas de carbono e luminosidade sobre a composição e função estabelecida pela comunidade microbiana de um sistema de bioflocos no cultivo de *L. vannamei*. Segundo os resultados observados, apesar da diferença na concentração de clorofila- $\alpha$ , quando as taxas de nutrientes eram mantidas, não havia diferença na eficiência de remoção de compostos nitrogenados sobre as distintas condições de luz.

Franco (2013) em um estudo que observou a interação entre os componentes autotróficos e heterotróficos da comunidade perifítica, buscando entender o efeito da disponibilidade de luz e nutrientes sobre a estequiometria na cadeia alimentar aquática, consegue explicar as duas situações observadas nos resultados dos trabalhos mencionados. Segundo esse autor, quando a concentração de nutrientes é mantida a variação da luminosidade interferirá na interação entre os organismos da comunidade, intervindo na ocupação do nicho ecológico pelos grupos de microrganismos. Desse modo, o autor explica que em um ambiente onde haja uma alta incidência luminosa, é possível observar uma interação de competição entre os componentes autotróficos e heterotróficos do biofilme perifítico, onde os autotróficos teriam vantagens sobre os heterotróficos devido as condições propícias do meio. No entanto, em um ambiente com uma menor incidência luminosa, a interação ecológica observada seria o

comensalismo, onde os heterotróficos teriam vantagens sobre a presença dos autotróficos sem que esses prejudicassem os últimos.

Ou seja, em um ambiente com baixa incidência luminosa os componentes autotróficos teriam uma deficiência na capacidade de assimilar o carbono produzido, devido a diminuição do fator luz, e esse carbono excedente, que não foi utilizado para a produção de biomassa pelos autotróficos, seria utilizado pelos componentes heterotróficos, os quais teriam um incremento na sua abundância e facilitando o seu estabelecimento nesse tipo de condições ambientais (FRANCO, 2013).

Diante do exposto, de acordo com a composição e função estabelecida pela comunidade de microrganismos presente nos sistemas de cultivo, a variação da intensidade luminosa pode proporcionar diferentes efeitos sobre a qualidade de água e parâmetros zootécnicos e imunológicos nas espécies cultivadas, através da oferta de condições ideais ao estabelecimento e incremento na abundância de grupos específicos de microrganismos (MARTINEZ-PORCHAS *et al.*, 2020).

Essas informações são relevantes quando considerados os sistemas de cultivos que utilizam materiais de cobertura em viveiros para a proteção contra aves ou na manutenção da temperatura, esse tipo de estrutura pode interferir na entrada de luz natural nos sistemas impactando de forma negativa a abundância dos microrganismos fotossintetizantes.

#### *2.1.2.6 Velocidade da água e regime hidrológico*

O fluxo e o regime hidrológico irão afetar naturalmente o biofilme perifítico de diversas formas, podendo prejudicar o desenvolvimento da estrutura da comunidade, disponibilidade de nutrientes e substratos disponíveis (WU, 2017). Podendo ainda remover completamente a comunidade perifítica do substrato, afetando negativamente o acúmulo de biomassa e recomeçando a sucessão dos microrganismos, dessa forma modificando a composição e função do biofilme perifítico (CHEN *et al.*, 2018).

Diante dessas informações, estudos aplicados nos ambientes de cultivo têm atentando-se à intensidade do fluxo gerado pela aeração sobre a função exercida pelo perifíton.

De-Morais *et al.* (2020) observaram que apesar da possibilidade da ocorrência de rupturas no biofilme por altas intensidades de aeração, não foi encontrada diferenças nos resultados entre fluxos variados. Por outro lado, a baixa taxa de aeração foi apontada como um problema no processo de oxidação dos compostos nitrogenados, sendo observado uma menor eficiência na remoção desses nutrientes nos sistemas sem aeração.

Han *et al.* (2018) e Li *et al.* (2020) também observaram que, independente da dinâmica hídrica do meio, o que determina a eficiência do biofilme perifítico é o tipo de substrato colonizado. Os fluxos de água mais intensos reduziram a espessura do perifíton, mas a diversidade bacteriana aumentou, devido a interação com o substrato que proporcionou um nicho ideal para o crescimento e estabilização desses componentes.

#### 2.1.2.7 Predação e pastejo

A ação de estressores sobre o biofilme perifítico é quantitativa e qualitativa modificando a sua biomassa e afetando sua distribuição espacial e temporal através do desaparecimento de algumas espécies da comunidade. Várias espécies de crustáceos, insetos, moluscos, peixes herbívoros e anfíbios em diferentes fases larvais utilizam o biofilme perifítico como fonte alimentar e essas informações têm servido como base para estimar a produtividade e biomassa perifítica há muito tempo (WU, 2017)

Na aquicultura, há uma vasta literatura demonstrando a importância da presença dessa comunidade como fonte de alimento vivo no cultivo de várias espécies de vertebrados e invertebrados como: Tilápia (*Oreochromis niloticus*; *Tilapia rendalli*) (HAQUE *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2016; CHIKORELA; CHIRWA; MZENGEREZA, 2019), Tainha (*Liza aurata*; *Mugil cephalus*) (RICHARD *et al.*, 2010; BISWAS *et al.*, 2017), Carpa (*Labeo fimbriatus*) (MRIDULA *et al.*, 2003), Camarão gigante (*Macrobrachium rosenbergii*) (ASADUZZAMAN *et al.*, 2010), Camarão tigre (*Penaeus monodon*) (ANAND *et al.*, 2013; ANAND *et al.*, 2019), Camarão do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) (AUDELO-NARANJO; VOLTOLINA; ROMERO-BELTRÁN, 2010; SCHVEITZER *et al.*, 2013), Camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) (BALLESTER *et al.*, 2007; RUSSO, 2008).

Assim como no ambiente natural, o perifíton serve como uma importante fonte de energia para os consumidores primários nos ambientes de cultivo (SAIKA; DAS, 2009). Além disso, de acordo com as condições abióticas do meio, sua contribuição na transferência de energia na cadeia trófica pode ser aumentada. Condições como temperatura mais elevada e menor disponibilidade de recursos para as espécies cultivadas também podem intensificar o efeito do pastejo sobre o biofilme perifítico (VAN DAM *et al.*, 2002; WU, 2017).

#### 2.1.2.8 Parasitismo

Apesar dos poucos estudos que avaliam os efeitos do parasitismo sobre o biofilme perifítico, principalmente aos micro-invertebrados que constituem o zooperifíton. Sabe-se que a relação parasita/hospedeiro pode resultar em alterações na densidade, sobrevivência e taxa de crescimento (reprodução) no hospedeiro (WU, 2017).

Nesse sentido, Wolska e Mazurkiewicz-Zapalowicz (2013) em um estudo que buscou determinar a ocorrência de parasitismo em assembleias de perifíton, demonstrou uma rica interação entre esses componentes, resultante de um alto nível de adaptabilidade por parte dos parasitas por conseguir desenvolver-se em várias fases do ciclo desses animais. Além disso, há registros na literatura que relatam sobre predadores servirem como vetores de parasitas que acometem o perifíton, principalmente na comunidade de algas perifíticas (BERNOT; LAMBERTI, 2008), demonstrando o quão dinâmica e complexa a interação entre esses componentes caracteriza-se.

### ***2.1.3 Influência do biofilme perifítico no cultivo de tilápias***

Com o aumento da atividade, juntamente com o processo de intensificação dos empreendimentos, a tilapicultura vem mostrando estabilidade no mercado nacional e internacional, com uma das espécies (*O. niloticus*) mais cultivadas atualmente (WANG; LU, 2016; EL-SAYED, 2020). Concomitante a isso, pode ser observado uma demasiada exposição dos organismos cultivados a diversos fatores de estresses e surtos de doenças (PIAMSOMBOON *et al.*, 2020), além dos problemas relacionados com os impactos negativos no meio ambiente (BRONNMANN; ASCHE, 2017).

Desta forma, é necessário que seja priorizado a utilização de práticas que validem a sustentabilidade da produção, ao passo que eventuais problemas relacionados com o crescimento da atividade sejam minimizados. Assim sendo, diversos trabalhos vêm apontando a promoção da presença do biofilme perifítico nos ambientes de cultivos, como uma estratégia promissora na melhoria dos parâmetros limnológicos e desempenho dos organismos cultivados.

As melhorias exercidas pelo biofilme perifítico nos cultivos de tilápias podem ser refletidas na economia da produção. Foi observado por Sakr *et al.* (2015) uma redução no custo por quilograma de peixe produzido e melhores resultados nos parâmetros zootécnicos em sistemas com a presença de substratos para a colonização da comunidade perifítica, mesmo sendo ofertada uma ração de menor qualidade nutricional.

Isso também é constatado por David; Pinho e Garcia (2018), segundo estes autores a adoção de práticas como uso das comunidades microbianas naturais nos cultivos de tilápias,

pode tornar a atividade mais viável economicamente enquanto reduz os impactos ambientais, deste modo tornando a produção mais sustentável.

Esse bom desempenho pode ser explicado devido ao biofilme perifítico servir como uma importante fonte de energia e alimento para todos os níveis tróficos, além de ser um componente significativo na transferência de nutrientes entre a água e o sedimento, uma vez que a comunidade de microrganismos pode absorver do meio e disponibilizar para os demais níveis tróficos nutrientes como C, N e P. Adicionalmente, a melhoria da qualidade da água está baseada na capacidade do biofilme microbiano de remover esse nutrientes (N e P) e metais pesados do meio, além da degradação da matéria orgânica através da biodegradação e biomineralização (WU, 2017).

Outros trabalhos também relatam vantagens na ampliação de área com estruturas submersas para acumulação de biomassa perifítica no cultivo de tilápias Asaduzzaman *et al.* (2010); Asaduzzaman *et al.* (2009); García, Clemencia e Carrasco (2011); Duque *et al.* (2013); Penariol (2015).

Os resultados já apresentados sustentam a importância da integração da biomassa microbiana na tilapicultura. Como é enfatizado por Marioni *et al.* (2020) a presença da microbiota nos sistemas de produção forma a base de um ecossistema, onde as espécies cultivadas representam o nível trófico mais alto e os microrganismos servem como biofiltro melhorando e gerenciando a qualidade da água, ao mesmo tempo que serve como base para o fluxo de energia entre os níveis tróficos.

#### ***2.1.4 Domesticação do biofilme perifítico***

Diversos estudos vêm demonstrando a importância da integração de comunidades microbianas nos sistemas de cultivos, como na aplicação de substratos para o desenvolvimento de biofilme perifítico. As funções ecológicas exercidas por estes microrganismos podem incrementar a produção em diversos sentidos, no entanto, trabalhos recentes levantam um questionamento referente a presença de potenciais patógenos na constituição do biofilme perifítico, que possivelmente podem representar um risco para as espécies cultivadas.

Dentre esses trabalhos, Cai e Arias (2017) avaliando a capacidade de patógenos bacterianos comuns de peixe gato (*Ictalurus punctatus*) como: *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella ictaluri*, *E. tarda* e *E. piscicida* de aderirem-se a superfícies comumente encontradas em instalações aquícolas, demonstraram a eficiência desses patógenos bacterianos na colonização e na formação de biofilmes nos substratos avaliados. Dados como esses, trazem

implicações para práticas de biossegurança para pisciculturas e podem servir como base em estudos que avaliam os efeitos da aplicação de técnicas para remediação, visto a capacidade desses microrganismos na colonização nesses ambientes.

Além dos microrganismos potencialmente perigosos para as espécies cultivadas, patógenos humanos podem ser encontrados nos ambientes de cultivos e também nos organismos cultivados (MIZAN; JAHID; HA, 2015). Grupos bacterianos como os integrantes dos gêneros: *Aeromonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* e espécies como *Escherichia coli*, são facilmente encontradas em ambientes marinhos e conseqüentemente em mariculturas, e apresentam diversos mecanismos que favorecem sua sobrevivência nesse tipo de ambiente, como a capacidade de agregação a superfícies bióticas e abióticas. (BRETTAR *et al.*, 2007). Sendo assim, Ksoll *et al.* (2007) afirmam que, de acordo com as condições intrínsecas do meio, o biofilme perifítico pode abrigar não só altas densidades de *E. coli* e *Enterococcus* como também outros organismos como *Salmonella* e *Campylobacter*.

Potenciais grupos patogênicos também foram isolados em cultivos de juvenis de tilápia do Nilo por Da Silva *et al.* (2016), esses autores isolaram e identificaram grupos bacterianos presentes em sistemas de cultivos baseado em tecnologia de bioflocos e perifíton. De acordo com os resultados desse estudo, do tratamento onde havia a presença de substratos para a colonização do biofilme perifítico, foram isolados representantes dos gêneros *Pseudomonas* e *Micrococcus*.

Diante do risco da presença e adensamento de microrganismos com potencial patogênico para animais cultivados e seres humanos nas comunidades microbianas formadoras do biofilme perifítico espontâneo nos ambientes de cultivos, a técnica de domesticação dos componentes perifíticos vem demonstrando ser eficiente na determinação do biofilme maduro, tanto na composição da comunidade microbiana como na função exercida nos sistemas de cultivos. Essa técnica consiste na caracterização prévia da comunidade e seleção de microrganismos para formação de um inóculo inicial capaz de desempenhar o papel de colonizadores primários se agregando aos substratos e conduzindo o adensamento da biomassa perifítica condições ideais (DIRINGER *et al.*, 2010).

Outras pesquisas apresentam as vantagens da aplicação dessa técnica em ambientes aquícolas.

Da Silva (2018), em um trabalho que verificou o desempenho zootécnico de tilápias do Nilo cultivadas em sistema com biofilme perifítico formado a partir de grupos bacterianos (heterotróficos) benéficos as espécies cultivadas, constatou que o inóculo bacteriano utilizado para a formação do biofilme perifítico mostrou-se uma fonte suplementar eficiente na

alimentação dos organismos cultivados, assim como induziu o fortalecimento do sistema imunológico e a manutenção na qualidade de água nos sistemas avaliados. Apesar da alta diversidade de microrganismos que compõem o biofilme perifítico, o trabalho teve como objetivo a seleção de grupos bacterianos com funções conhecidas, que pudessem incrementar o cultivo, como bactérias pertencentes ao ciclo do nitrogênio (manutenção da qualidade de água) e bactérias com perfil probiótico (incremento no desempenho zootécnico e imunológico).

Outros grupos do perifíton também podem ser alvo do processo de domesticação como no trabalho de Gómez-Ramírez *et al.* (2019), onde foi avaliada a capacidade de formação de biofilme por microalgas bentônicas (*Navicula incerta* e *Navicula* sp) em diferentes tipos de substratos (madeira, tecido e rede plástica). Segundo os dados obtidos, o tratamento formado por *Navicula incerta* demonstrou os maiores valores na produção de biomassa perifítica em tecido quando comparados com os demais. Apesar desses resultados, os autores concluíram que o melhor substrato para a formação do biofilme induzido seria a rede plástica, devido a estabilidade do biofilme neste e a facilidade da aplicação e remoção, além de que este tratamento apresentou os melhores perfis bioquímicos, mostrando dessa forma que além da composição do inóculo inicial o meio também influencia a dinâmica e função do biofilme induzido.

Além do mais, o inóculo de microrganismos inicial juntamente com as condições ambientais pode ser determinante na formação da comunidade, podendo ela ser autotrófica, heterotrófica ou mixotrófica (PORCHAS *et al.*, 2020; GOMÉZ-RAMÍREZ *et al.*, 2019). Dessa forma, surge a necessidade da execução de trabalhos que avaliem de que modo estressores ambientais, como diferentes tipos substratos e condições de luz atuam sobre a formação e função exercidas pelos biofilmes perifíticos formados a partir de inóculos de microrganismos pré-selecionados.

## **2.2 Material e Métodos**

### ***2.2.1 Delineamento experimental***

O estudo ocorreu no Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizado na cidade de Fortaleza, CE, Brasil.

A pesquisa consistiu na avaliação da melhoria da qualidade de água, no incremento do desempenho zootécnico e na resistência de tilápias do Nilo a *Pseudomonas aeruginosa*, promovido pela presença do biofilme perifítico induzido, este sendo iniciado baseado em um

consórcio bacteriano constituído por *Rhizobium rosettiformans*; *Pseudomonas* sp; *Enterobacter* sp; *Burkholderia* sp pertencentes a bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) UFC, isoladas de um biofilme perifítico procedente de um cultivo de tilápias do Nilo em ambiente de água doce e que apresentavam perfil enzimático e de produção exopolissacarídeos ideal para aplicação como probióticos no cultivo de organismos aquáticos (DA SILVA, 2018).

Para tanto, foram testados diferentes tipos de substratos para a colonização do biofilme, permitindo assim, a possibilidade da ocorrência de distintos perfis de colonização durante seu desenvolvimento, a fim de indicar o melhor substrato para retenção da biomassa perifítica.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, empregando quatro tratamentos em condições *indoor* com cinco repetições, totalizando 20 tanques de 5L. Os tratamentos foram avaliados de acordo com o tipo de substrato (meio suporte) empregado, sendo estes contrapostos a um sistema controle caracterizado pela ausência de estruturas para a colonização do biofilme e sem a indução do consórcio bacteriano empregado nos demais tratamentos. Os tratamentos foram caracterizados da seguinte forma: redes flexíveis de plástico (T1), do tipo recomendado por Milstein, Peretz e Harpaz (2008); placas de PVC (T2), do tipo utilizada por Cavalcante (2017); redes de fibra de juta (fibra natural) (T3) e tratamento controle (T4). Todos estes substratos foram cortados em tiras conforme sugerem Levy *et al.* (2017), totalizando uma área de 30 cm<sup>2</sup> cada, pendurados em uma densidade de 10 tiras por tanque, cobrindo 104,5% da área de superfície da água.

Antes da estocagem dos peixes, o biofilme foi iniciado em todos os tratamentos com substratos para obter uma biomassa adequada para o uso no cultivo de tilápias de acordo com as recomendações de Martínez-Córdova *et al.* (2017), com modificações.

### **2.2.2 Preparação do inóculo bacteriano**

As células bacterianas componentes do consórcio iniciador do biofilme foram renovadas em ágar TSA a 35°C por 24h. Após esse período foram ajustadas à escala de MacFarland 0,5. Foram feitas leituras em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 626nm. O inóculo foi considerado ajustado quando as leituras de turbidez (absorbância) se apresentaram no intervalo entre 0,08 a 0,100nm (concentração de 1,5x10<sup>8</sup> UFC/mL). Logo em seguida, alíquotas do inóculo ajustado, foram dissolvidas em 400 mL de caldo TSB (Trypticase Soy Broth) e incubados a uma temperatura de 35 °C por 24 h. Após este

período, transferiu-se 40mL da suspensão bacteriana para um tubo tipo *falcon* estéril para posterior centrifugação, afim de obter um agregado bacteriano (*pellet*). Após remover o sobrenadante, o mesmo tubo foi preenchido com mais 40mL da suspensão bacteriana e repetiu-se esta etapa até todo o volume da suspensão ser centrifugada. Em seguida, o *pellet* bacteriano resultante da etapa de centrifugação foi ressuspensão adicionando solução salina 0,85% para obter um concentrado bacteriano.

### ***2.2.3 Experimento in vivo***

O consórcio bacteriano foi inoculado nos tanques contendo os substratos e mantidos em uma temperatura entorno de 28°C, pH de 7,3 e oxigênio dissolvido de 6,3 mg/L com aeração constante.

Alevinos de tilápia do Nilo, com peso inicial médio de 2,5g foram adicionados ao sistema de cultivo (n=5 por tratamento), foram alimentados 3 vezes ao dia, nos horários de 10, 13 e 16h com ração comercial durante 30 dias. A taxa de arraçoamento iniciou com 10% da biomassa, sendo diminuída de acordo com o aumento de peso dos peixes.

### ***2.2.4 Caracterização do biofilme perifítico***

Os componentes do biofilme foram coletados e amostrados pontualmente ao decorrer do cultivo, nos dias 0, 15 e 30. A cada coleta foi retirada uma tira dos tanques, os substratos removidos foram substituídos imediatamente por novos, no entanto apenas os adicionados no início do estudo foram amostrados ao decorrer do experimento.

#### ***2.2.4.1 Acompanhamento do fitoperifíton e zooperifíton***

Para a observação de possíveis microalgas presentes no biofilme, bem como protozoários e microinvertebrados, as amostras foram raspadas de uma área de 4 cm<sup>2</sup> de cada tipo de substrato. O material raspado posteriormente foi suspenso em 2mL de água e analisado sob microscópio óptico (ASADUZZAMAN *et al.*, 2010).

#### ***2.2.4.2 Acompanhamento da comunidade bacteriana***

Em cada amostragem foi recortada e/ou raspada uma área de 30 cm<sup>2</sup> das tiras de substratos para os tratamentos que receberam o inóculo iniciador do biofilme e coletadas amostras de água para o tratamento controle. A partir desse material preparou-se um *pool* por tratamento. As amostras foram homogeneizadas em solução salina 0,85% na proporção de 1:9 (amostra:diluyente) a partir disso, foram preparadas diluições seriadas (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>). Foi empregada a técnica de plaqueamento em profundidade (*Pour Plate*), utilizando como meio de cultura o *Plate Count Agar* (PCA), o qual foi vertido sobre uma alíquota de 1mL correspondente a cada diluição das amostras em placa de Petri duplicadas. As placas foram incubadas em uma estufa a uma temperatura de 35°C por 48h. Os resultados foram obtidos por Contagem Padrão em Placas (CPP) e expressos em unidade formadora de colônia (UFC) por cm<sup>2</sup> (tratamentos com substratos) e mL (tratamento controle).

### 2.2.5 Parâmetros de qualidade de água

Uma vez na semana, coletou-se amostras de água de cada tratamento para a determinação dos seguintes indicadores físico-químicos de qualidade água: pH, oxigênio dissolvido [OD], temperatura, alcalinidade, dureza, nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito, nitrato e fósforo reativo. As amostras foram tratadas de acordo com o quadro 02

Quadro 02 – Parâmetro avaliados na caracterização da qualidade de água dos distintos tratamentos ao decorrer da fase experimental.

PARÂMETRO	UNIDADE	Métodos/Equipamentos
pH	-	Phmetro
[OD]	mg L <sup>-1</sup>	Oxímetro
Temperatura	°C	Termômetro
Alcalinidade	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	Titulométrico
Dureza	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	Titulométrico
NAT	mg L <sup>-1</sup>	Indofenol
Nitrito	mg L <sup>-1</sup>	Griess-Islova
Nitrato	mg L <sup>-1</sup>	Método de redução de cádmio
Fósforo reativo	mg L <sup>-1</sup>	Colorimétrico

Fonte: Elaborado pelo autor.

### 2.2.6 Desempenho zootécnico das tilápias do Nilo

Realizou-se biometrias semanais para a obtenção das variáveis de crescimento de acordo com Brito *et al.* (2019): sobrevivência (S %) =  $100 \times (\text{n}^\circ \text{ inicial de peixes} - \text{n}^\circ \text{ final de peixes})$ ; peso final (PF g); ganho de peso (GP) = peso final – peso inicial; comprimento final (cm); ganho de comprimento (GC) = comprimento final – comprimento inicial; taxa de crescimento específico (TCE %) =  $[(\ln \text{ pf} - \ln \text{ pi}) \times 100]$  e conversão alimentar aparente (CCA) = (quantidade de ração consumida/ ganho de biomassa).

### **2.2.7 Teste desafio por imersão**

Ao fim do período do cultivo, os peixes de cada tratamento foram submetidos a um teste desafio com a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 por imersão para avaliação da influência do biofilme nos sistemas de cultivo sobre a resistência à infecção ao patógeno. Foi avaliado a possibilidade da obtenção da concentração letal média (LC50) utilizando um inóculo com a concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL do patógeno em um período de 72h. Para isso os peixes (n=5) de cada tratamento foram expostos a um tanque de 20L que recebeu um inóculo com volume de solução contendo o patógeno, e foram alimentados com ração comercial. Ao final do período de exposição, os peixes foram avaliados quanto aos possíveis sinais clínicos através de exames visuais externos na boca, olhos, opérculos, brânquias, tegumento e nadadeiras e registradas mortalidades.

### **2.2.8 Análises estatística**

Os dados da quantificação bacteriana, assim como de qualidade de água e parâmetros zootécnicos dos diferentes tratamentos, foram avaliados quanto a sua normalidade utilizando o teste Shapiro-Wilk considerando-se o valor de significância de 0,05. Após a determinação do comportamento dos dados (paramétricos ou não paramétricos) executou-se os testes correspondentes a cada distribuição, sendo eles: análise de variância (ANOVA) ou Kruskal-Wallis, respectivamente.

Após a execução desses, os dados que apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) foram identificados utilizando o teste de Tukey para dados normais ou o Pairwise Wilcoxon teste para dados anormais. Todas as análises foram executadas utilizando-se o *software* livre R na versão 3.6.0.

## **2.3 Resultados e discussão**

### ***2.3.1 Caracterização do biofilme perifítico (Acompanhamento do fitoperifíton e zooperifíton)***

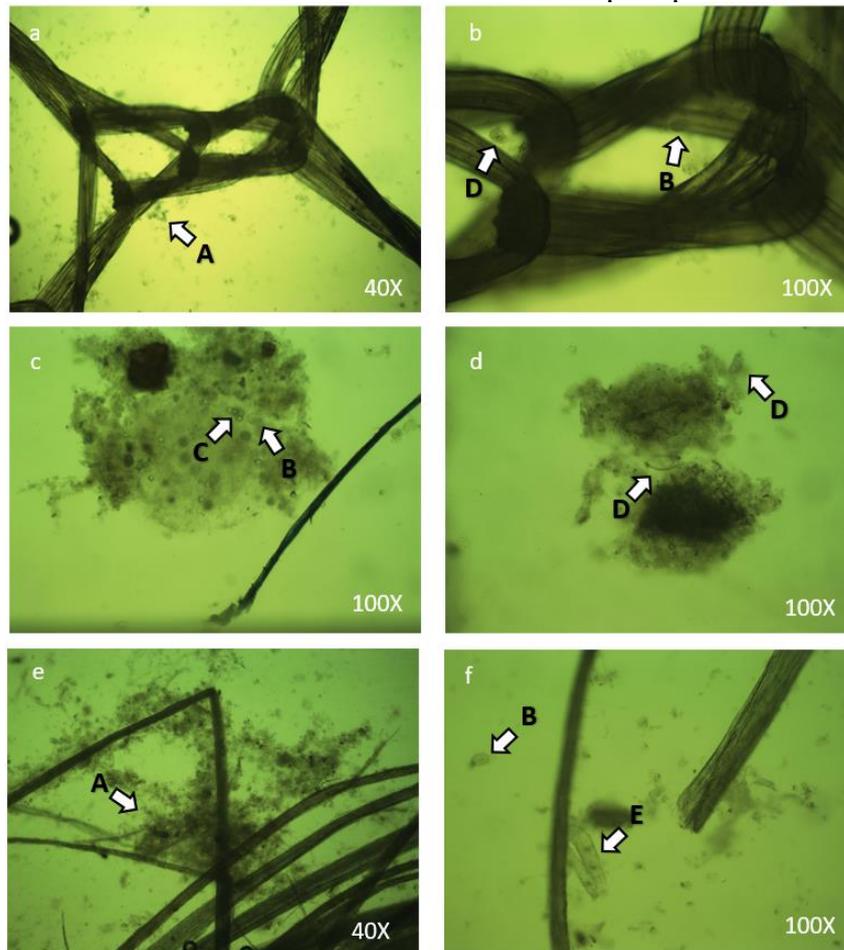
Houve o desenvolvimento do biofilme perifítico em todos os tratamentos que receberam o inóculo e no decorrer do cultivo a sua estrutura foi observada ao microscópio óptico. O biofilme foi composto por protozoários e microinvertebrados, não havendo a visualização de componentes fotoautotróficos como microalgas compondo a comunidade microbiana, sugerindo o desenvolvimento de um biofilme heterotrófico para todos os tratamentos, e devido à ausência de biomassa fotoautotrófica também se pode propor que o consórcio bacteriano inoculado no ambiente de cultivo atuou como base da comunidade- sendo o primeiro elo na transferência de energia.

Devido as condições que foram impostas aos tratamentos sendo constituído um ambiente *indoor*, este caracterizado como um estressor para o fitoperifíton devido à ausência de luz natural, o estabelecimento de microalgas foi dificultado.

Esses achados estão de acordo com pesquisas recentes em ambientes de cultivo de organismos aquáticos com cobertura ou estruturas que interfiram com a incidência direta de luz natural (sistema *indoor*) (REN *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2020), esses estudos demonstraram menor teor de clorofila- $\alpha$  em comparação com ambientes expostos a luz natural (*outdoor*).

O tipo de material utilizado como substrato para a bioacumulação do biofilme se mostrou também como um importante fator para a manutenção de alguns grupos presentes na comunidade e na morfologia do biofilme. Conforme é observado na figura 02, os tratamentos T1 (rede) e T2 (PVC) mostraram uma composição semelhante, onde foram encontrados protozoários com formato circular achatado e com a presença de cílios protuberantes, rotíferos do gênero *Lepidella* e cistos de grupos de zooperifíton não identificados. Já no tratamento T3 (Juta) foi possível visualizar outros grupos como rotíferos do gênero *Philodina* e grupos de protozoários de dimensões variadas além dos já mencionados.

Figura 02 – Morfologia do biofilme perifítico desenvolvido em diferentes substratos visualizados sob microscópio óptico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: a. Tratamento T1 (Rede P.), aumento de 40X; b. Tratamento T1 (Rede P.), aumento de 100X; c. Tratamento T2 (PVC), aumento de 100X; d. Tratamento T2 (PVC), aumento de 100X; e. Tratamento T3 (Juta), aumento de 40X; f. Tratamento T3 (Juta), aumento de 100X; A. Agregado microbiano (biofilme); B. protozoa; C. cisto zooperifíton; D. *Lepadella* sp; E. *Philodina* sp.

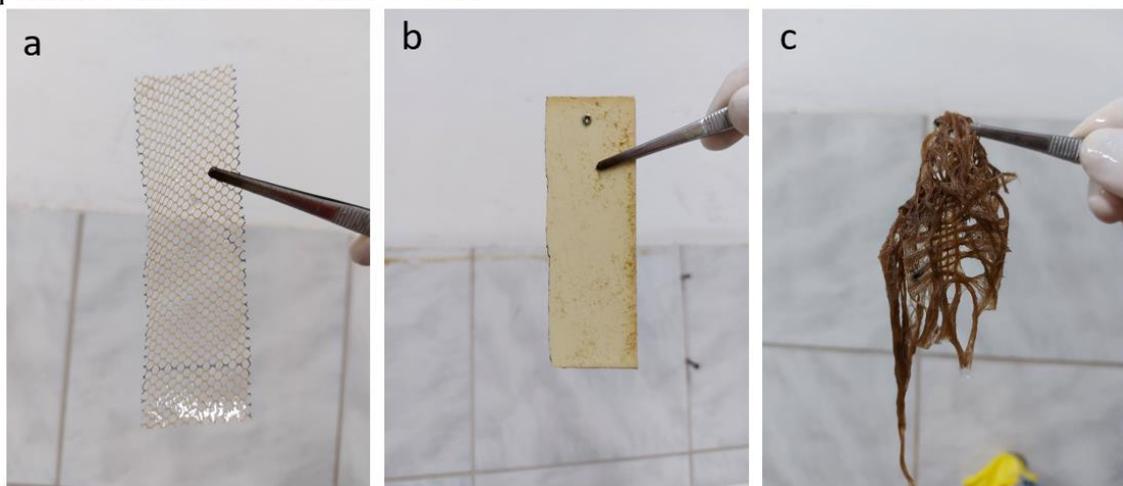
Esse resultado está de acordo com as informações encontradas na literatura, a acumulação do biofilme perifítico está diretamente relacionada com o substrato empregado para o seu desenvolvimento, podendo este determinar a dinâmica dos microrganismos componentes de diversas formas, influenciando diretamente na colonização da comunidade e por sua vez no processo de sucessão ecológica, sendo ainda os substratos artificiais conhecidos por interferirem minimamente na dinâmica da comunidade e assim possibilitando uma formação de fases de crescimento e estabelecimento dos microrganismos sem muita interferência (GORDILLO-GUERRA; GUEVARA; REINOSO-FLÓREZ, 2020; Wu 2017).

No que se refere a morfologia do biofilme, foi observado que o tratamento T3 (fibra de juta como substrato imerso) apresentou uma bioacumulação mais espessa visualizado como

uma grossa camada de agregado microbiano e mais estruturada em comparação com a rede de plástico em T1. A rede também foi menos eficiente na bioacumulação do que as placas de PVC usadas no tratamento T2.

Outra questão observada foi o tempo de vida útil dos materiais utilizados. Na forma como foi aplicada nos ambientes de cultivo, em tiras, a fibra de juta teve menor tempo de permanência, sendo observado perdas de área (meio físico) para a agregação microbiana (FIGURA 03) e se acumulando no fundo do tanque após 30 dias de cultivo. Apesar da eficiência em promover o adensamento da comunidade perifítica, essa pouca estabilidade ao longo do tempo de cultivo é um fator negativo que deve ser considerado quanto da escolha do material de suporte para a agregação do biofilme.

Figura 03 – Materiais empregados como substratos para o desenvolvimento do biofilme perifítico amostrados ao final do cultivo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: a. Substrato artificial rede de plástico; b. Substrato artificial placa de PVC; c. Substrato natural fibra de juta.

### ***2.3.2 Caracterização do biofilme perifítico (Acompanhamento da comunidade bacteriana)***

Pontualmente, no decorrer do cultivo a comunidade bacteriana foi acompanhada através da quantificação por CPP. Os resultados da contagem das colônias bacterianas estão apresentados na tabela 01.

Tabela 01 – Quantificação da comunidade bacteriana desenvolvida nos distintos materiais utilizados como substratos para a colonização microbiana e tratamento controle (amostras de água).

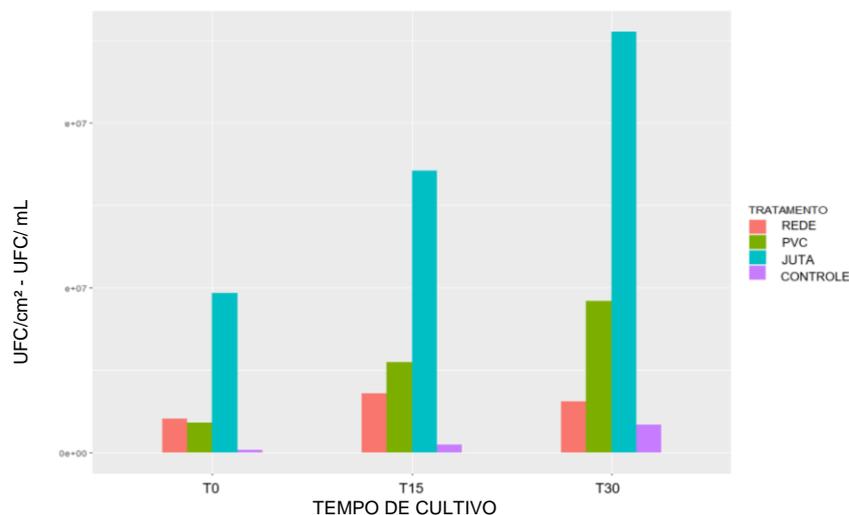
	<b>REDE P.</b>	<b>PVC</b>	<b>JUTA</b>	<b>CONTROLE</b>
	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>TEMPO</b>	UFC/cm <sup>2</sup>	UFC/cm <sup>2</sup>	UFC/cm <sup>2</sup>	UFC/mL
<b>D0</b>	2,06 x 10 <sup>6</sup>	1,83 x 10 <sup>6</sup>	9,68 x 10 <sup>6</sup>	1,64 x 10 <sup>5</sup>
<b>D15</b>	3,6 x 10 <sup>6</sup>	5,5 x 10 <sup>6</sup>	1,71 x 10 <sup>7</sup>	4,95 x 10 <sup>5</sup>
<b>D30</b>	3,1 x 10 <sup>6</sup>	9,2 x 10 <sup>6</sup>	2,55 x 10 <sup>7</sup>	1,7 x 10 <sup>6</sup>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: D0. Tempo inicial (0 dias); D15. 15 dias; D30. 30 dias.

Os resultados obtidos nos mostram uma variação do tamanho da comunidade bacteriana presente no biofilme nos distintos materiais utilizados como substratos e na água do tratamento controle ao longo das amostragens. Como pode ser visualizado na figura 04, em todos os tratamentos houve uma tendência de acumulação de biomassa bacteriana ao longo do cultivo, exceto pelo tratamento T1 (Rede), que na última amostragem apresenta uma queda na quantificação.

Figura 04 – Caracterização quantitativa da comunidade bacteriana desenvolvida em sistemas de cultivos com substratos para a colonização microbiana e da água no tratamento controle ao decorrer do cultivo.



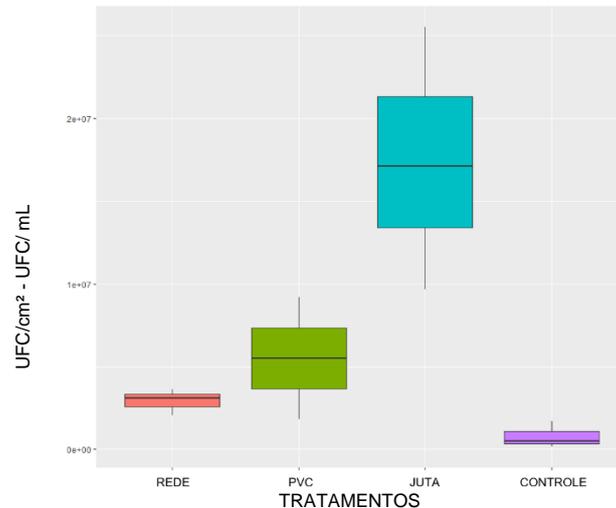
Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: T0. Tempo inicial (0 dias); T15. 15 dias; T30. 30 dias.

Quando os resultados dos diferentes tratamentos que receberam o inóculo iniciador são contrapostos, é possível observar que o T3 (Juta) de forma geral mostrou a maior bioacumulação bacteriana, sendo significativamente maior ( $P < 0,05$ ) do que os demais. Os

suportes com materiais sintéticos, apesar da aparente variação na densidade bacteriana heterotrófica não demonstraram diferenças ( $P < 0,05$ ) entre si, ficando bem próximos do tratamento controle (FIGURA 05).

Figura 05 – Comparação do acúmulo de biomassa bacteriana nos diferentes tratamentos de cultivo baseado em biofilme e tratamento controle.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Assim como visto para os outros componentes do perifíton, pode-se verificar que a comunidade bacteriana também foi fortemente influenciada pelo tipo de material utilizado para o desenvolvimento microbiano. Esses resultados eram esperados se consideramos que os componentes do biofilme são intimamente relacionados, podendo responder da mesma forma aos fatores ambientais. Adicionalmente, considerando a estrutura em feixes das redes de juta, o tratamento 3 forneceu mais área disponível para agregação bacteriana (WU, 2017; GUIMARÃES, 2014).

O comportamento do biofilme, indica que o inóculo bacteriano inicial induziu a formação e composição pioneira. Segundo Gubelit; Grossart (2020) os componentes bacterianos iniciadores na formação de comunidades microbianas podem determinar os estágios sucessionais seguintes e assim regular índices biológicos da comunidade como diversidade e abundância de indivíduos componentes.

### 2.3.3 Parâmetros de qualidade de água

Os dados dos parâmetros de qualidade de água dos tratamentos de cultivo estão apresentados na tabela 02.

Tabela 02 – Valores médios dos parâmetros de qualidade de água avaliados ao longo do cultivo dos quatro tratamentos.

PARÂMETRO	REDE P.	PVC	JUTA	CONTROLE	P-VALUE
	T1	T2	T3	T4	
	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO	
NAT	6,96±4,02	4,64±3,35	5,95±3,50	5,62±3,46	>0,05
NH3	0,3±0,19	0,22±0,17	0,25±0,13	0,29±0,16	>0,05
NO <sub>2</sub>	0,09±0,06	2,19±2,71	0,69±0,83	0,25±0,3	>0,05
NO <sub>3</sub>	0,85±1,61	2,57±4,12	1,52±2,60	1,11±2,11	>0,05
FÓSFORO R.	0,25±0,19	0,29±0,22	0,30±0,21	0,33±0,23	>0,05
ALCALINIDADE	95,11±17,21	83,88±13,52	91,58±14,96	89,76±14,48	>0,05
DUREZA	125,53±11,14	132,41±14,45	129,44±14,06	126,81±12,66	>0,05
OD	7,12±0,52	6,87±0,34	6,91±0,33	7,26±0,66	>0,05
TEMPERATURA	27,9±0,38	27,9±0,48	27,94±0,59	28,08±0,44	>0,05
PH	7,71±0,21	7,71±0,24	7,72±0,24	7,79±0,26	>0,05

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: NAT – Nitrogênio Amoniacal Total (mg L<sup>-1</sup>); NH<sub>3</sub> – Amônia (mg L<sup>-1</sup>); NO<sub>2</sub> – Nitrito (mg L<sup>-1</sup>); NO<sub>3</sub> – Nitrato (mg L<sup>-1</sup>); Fósforo R. – Fósforo Reativo (mg L<sup>-1</sup>); Alcalinidade – Alcalinidade Total (mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>); Dureza – Dureza Total (mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>); OD – Concentração de Oxigênio Dissolvido (mg L<sup>-1</sup>); Temperatura – Temperatura (°C); pH – Potencial Hidrogeniônico.

Biofilmes perifíticos são apontados como uma forma efetiva na remoção de compostos nitrogenados entre outros, desempenhando um importante papel na manutenção da qualidade de água (ANAND *et al.*, 2019; COLE *et al.*, 2019; SHABBIR *et al.*, 2017). Essa comunidade microbiana também é empregada como biofiltros, atuando desde a remoção de hidrocarbonetos de petróleo (CARVALHO, 2018) a corantes industriais (SHABBIR *et al.*, 2017) na biorremediação de corpos hídricos.

Apesar dessas informações, no presente trabalho mesmo havendo a ocorrência do desenvolvimento do biofilme nos tratamentos que receberam o inóculo iniciador, nos parâmetros avaliados para qualidade de água não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Os resultados obtidos variaram dentro da faixa indicada para o cultivo de peixes em água doce, exceto pelo NAT, que em geral, entre os tratamentos foi registrada concentrações consideradas perigosas para o desenvolvimento e sobrevivência para os animais cultivados (MOHAMMADI *et al.*, 2021), mesmo não havendo mortalidade.

De modo geral, se pode sugerir que não foi observado influência do biofilme e dos diferentes substratos empregados sobre a manutenção dos parâmetros de qualidade de água analisados. Alguns fatores podem ser vistos como determinantes sobre a ação do perifíton no processo de biorremediação de corpos hídricos, Wu (2017) aponta que a composição biológica e bioquímica irá determinar a função do biofilme no meio, estas por sua vez dependem de uma série de outros fatores que determinarão o processo de estabelecimento e colonização, assim modelando indiretamente o efeito do perifíton sobre o meio circundante. Martinez-Porchas *et al.* (2020) corroboram com estas informações ao sugerirem que fatores como a fonte de água, relação carbono/nitrogênio, substrato, iluminação e o próprio inóculo microbiano utilizado na iniciação de biofilmes podem indiretamente determinar quais funções serão exercidas pelo biofilme microbiano.

Considerando neste trabalho que os diferentes tratamentos receberam o mesmo inóculo bacteriano como iniciador do biofilme e foram submetidos a condição *indoor*, efetivando a formação de um biofilme heterotrófico com pouca ou nenhuma interferência de microrganismos fotoautotróficos, possivelmente a composição final encontrada no biofilme não exerceu ou minimamente interferiu nos parâmetros avaliados para qualidade de água.

### 2.3.4 Desempenho zootécnico das tilápias do Nilo

Tabela 03 – Valores médios dos parâmetros zootécnicos de juvenis de tilápia do Nilo avaliados ao longo do cultivo dos quatro tratamentos.

PARÂMETRO ZOOTÉCNICO	REDE P.	PVC	JUTA	CONTROLE
	T1	T2	T3	T4
	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO	MEDIÇÃO
<b>PFM (g)</b>	10,02±1,3 <sup>a</sup>	9,51±1,36 <sup>a</sup>	9,86±2,05 <sup>a</sup>	4,95±0,05 <sup>b</sup>
<b>CFM (mm)</b>	89,37±5,39 <sup>a</sup>	86,86±4,75 <sup>a</sup>	90,50±3,78 <sup>a</sup>	72,8±0,07 <sup>b</sup>
<b>GP (g)</b>	7,45±1,48 <sup>a</sup>	6,96±1,42 <sup>a</sup>	7,19±1,76 <sup>a</sup>	2,74±0,60 <sup>b</sup>
<b>GC (mm)</b>	21,98±2,66 <sup>ac</sup>	18,44±2,77 <sup>ab</sup>	22,28±3,43 <sup>c</sup>	11,2±2,080 <sup>b</sup>
<b>TCE (%)</b>	0,045±0,01 <sup>a</sup>	0,043±0,01 <sup>a</sup>	0,044±0,01 <sup>a</sup>	0,025±0,00 <sup>b</sup>
<b>CAA</b>	1,02±0,15 <sup>a</sup>	1,0±0,17 <sup>a</sup>	1,02±0,18 <sup>a</sup>	0,62±0,10 <sup>b</sup>
<b>SOBREVIVÊNCIA</b>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: PFM – Peso Final Médio; CFM – Comprimento Final Médio; GP – Ganho de Peso; GC – Ganho de Comprimento; TCE – Taxa de Crescimento Específico; CAA – Conversão Alimentar Aparente. Valores dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes em  $P < 0,05$ .

Parâmetros como o GP e GC foram consideravelmente superiores ao tratamento controle, apresentando valores de PFM e CFM significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). A TCE e a CAA também diferiram entre os tratamentos, sendo os maiores valores visualizados nos ambientes com a presença do biofilme. A sobrevivência se manteve igual para todos os tratamentos conforme o observado na tabela 03.

A visualização desses resultados pode estar diretamente relacionada a função probiótica exercida pelo consórcio iniciador do biofilme. Esses microrganismos apresentam uma série de modos de ação que podem conferir melhoria direta no desempenho dos animais cultivados, averiguado através de fatores que incluem o crescimento e a taxa de conversão alimentar (KESARCODI-WATSON *et al.*, 2008). Microrganismos probióticos podem atuar na remoção de compostos nitrogenados do ambiente de cultivo à produção de enzimas digestivas que quebram uma variedade de nutrientes (proteínas, lipídios e carboidratos) e na competição por sítios de adesão no trato gastrointestinal, esses modos de ação facilitam o processo de digestão e absorção do alimento, melhorando o ganho de peso e o crescimento e promovendo um melhor aproveitamento de rações comerciais ofertadas (TSAI; CHI; LIU, 2019; WANG *et al.*, 2019).

O uso de bactérias com função probiótica vem mostrando resultados positivos na performance no cultivo de várias espécies de interesse para aquicultura. Estudos como o de Kim *et al.* (2021) que aplicaram cepas com perfil probiótico isoladas de ambientes aquáticos e conseguiram melhorar significativamente o desempenho de crescimento do *L. vannamei*, assim como Thurlow *et al.* (2019) em um estudo que avaliou o uso da cepa *Bacillus velezensis* AP193 na melhoria no cultivo do bagre no canal do canal (*Ictalurus punctatus*) e concluíram que a AP193 é uma candidata viável no cultivo dessa espécie por promover uma melhor performance de crescimento nos peixes, além de atuar na melhoria de alguns parâmetros de qualidade de água incluindo a remoção de compostos nitrogenados tóxicos em pequenas quantidades.

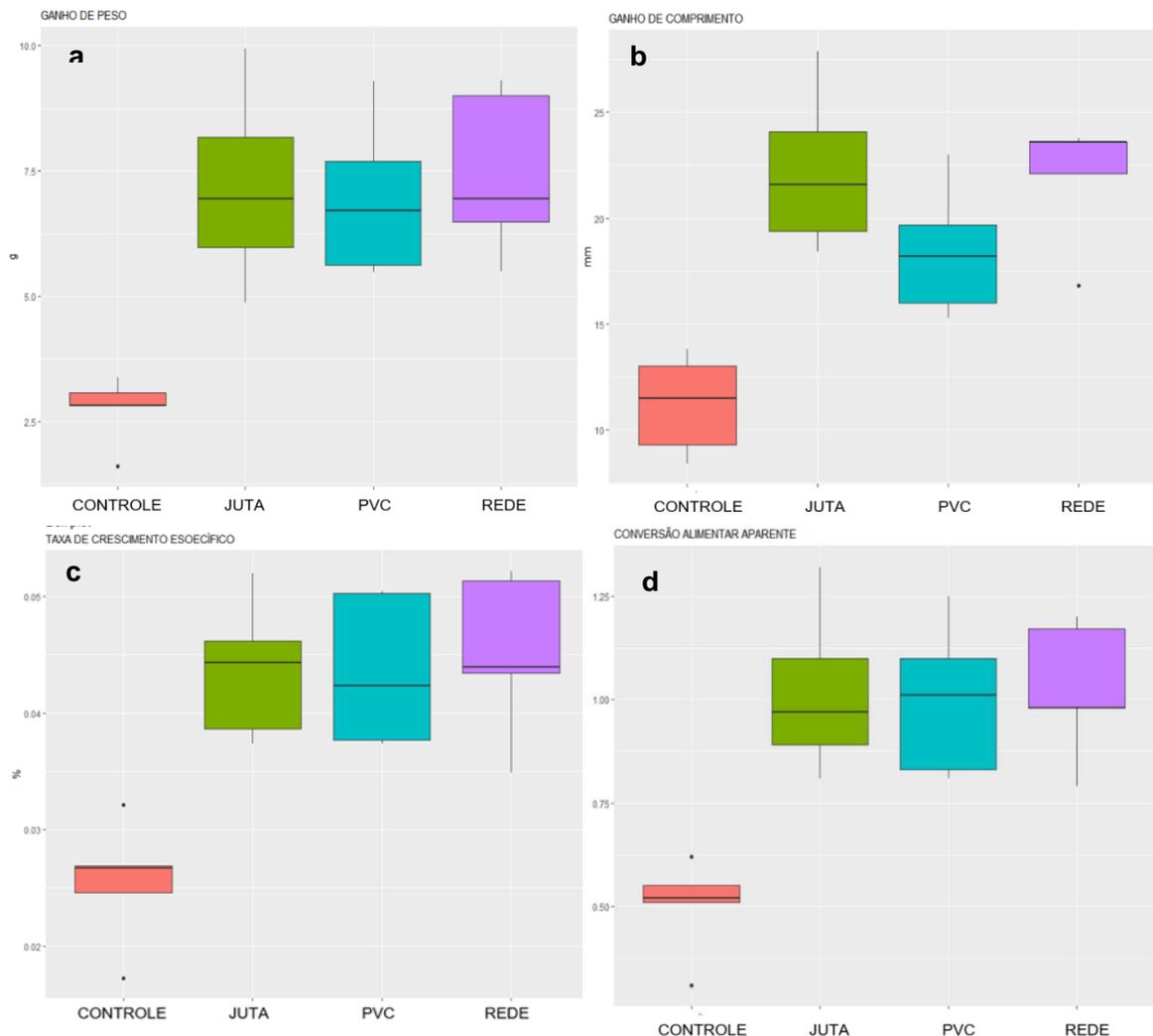
Quanto a utilização de diferentes materiais como substratos, não foi observado influência do tipo de material utilizado para o desenvolvimento e crescimento dos animais cultivados, conforme se pode notar a similaridade dos resultados obtidos nos diferentes tratamentos (TABELA 03). De acordo com os resultados, o peso médio final, comprimento médio final, ganho de peso, ganho de comprimento, TCE e CAA não diferiram entre os

tratamentos com distintos substratos, com exceção do ganho de comprimento no tratamento T3 (Juta) que diferiu do T2 (PVC).

Muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos promovendo a presença do biofilme principalmente com a adição de substratos submersos em ambientes de cultivo de diversas espécies de interesse econômico para aquicultura (RODRIGUES *et al.*, 2019; LEVY *et al.*, 2017). Anand *et al.* (2019) mostraram que a adição de substratos submersos para o desenvolvimento de biofilme espontâneo em sistemas *outdoor* no cultivo de camarão (*Penaeus monodon*) melhorou tanto o desempenho de crescimento como auxiliou na manutenção da qualidade de água ao decorrer do cultivo. Chikorela *et al.* (2019) partindo de condições semelhantes, também mostraram incremento nos parâmetros zootécnicos de *Tilapia rendalli* com adição de substratos submersos. Esses estudos associam o incremento observado na produção à presença do biofilme, ao passo que outros não constata tal influência, mesmo promovendo um ambiente propício ao desenvolvimento da comunidade microbiana. Trabalhos como o de Rodrigues *et al.* (2019) que avaliaram sistemas de cultivo baseados em biofilmes espontâneos em condições ambientais *outdoor* e concluíram que a presença do biofilme e a adição de diferentes tipos de materiais como substratos não afetaram o desempenho de tilápias do Nilo no cultivo integrado com camarão da Amazônia (*Macrobrachium amazonicum*). Asaduzzaman *et al.* (2009) que também não observaram efeitos significativos com a promoção do perifíton espontâneo no ambiente de cultivo sobre os parâmetros de crescimento de tilápia do Nilo.

A ambiguidade dos resultados na literatura precisa de uma análise mais aprofundada para entendimento das especificidades de cada caso. No geral, nossos resultados não indicaram que os diferentes materiais usados como substratos afetaram os parâmetros zootécnicos conforme é observado na figura 06, mas os peixes na presença do perifíton apresentaram os melhores resultados avaliados, mostrando o melhor rendimento no crescimento, sugerindo uma influência positiva do biofilme aos parâmetros acompanhados para avaliação do desempenho do cultivo.

Figura 06 – Similaridade dos resultados dos parâmetros zootécnicos de juvenis de tilápia do Nilo cultivados em diferentes tratamentos com e sem biofilme perifítico e diferentes substratos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: a. Ganho de peso; b. Ganho de comprimento; c. Taxa de crescimento específico; d. Conversão alimentar aparente.

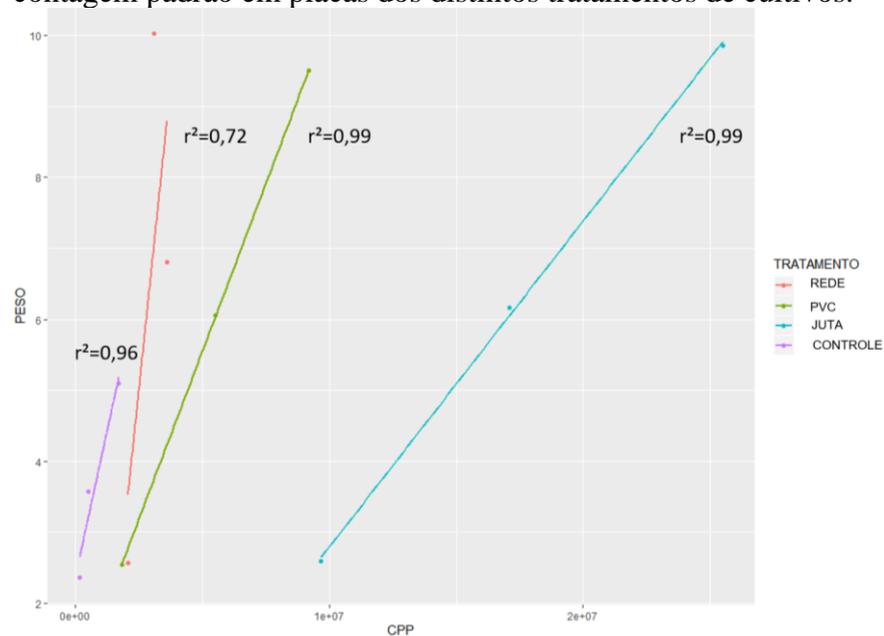
A presença de componentes bacterianos usualmente empregados na aquicultura com ação probiótica são apontados compondo espontaneamente a comunidade microbiana em ambientes de cultivo. A ocorrência desses microrganismos pode contribuir com o fortalecimento do sistema imunológico dos animais cultivados, melhorando a resposta imune do trato gastrointestinal, auxiliando na regulamentação de genes e proteínas, assim como na produção de enzimas digestivas conferindo melhores resultados na produção (WANG *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2016).

Para que o biofilme perifítico possa interferir de forma positiva conferindo vantagens diretas sobre as espécies cultivadas, a composição microbiana componente precisa ser levada em consideração e a biomassa perifítica possuir quantidade suficiente para o pastejo

pelos animais cultivados (DE MORAIS *et al.*, 2020). No nosso trabalho, se pode propor que as bactérias presentes no inóculo iniciador exerceram uma função probiótica, conferindo um maior ganho de peso e de comprimento para os animais cultivados nos sistemas com o biofilme. O inóculo iniciador aplicado neste estudo, ainda demonstrou ser eficiente como base da comunidade microbiana, havendo uma diversidade de grupos taxonômicos compondo o biofilme e consequente produção de biomassa, permitindo o pastejo.

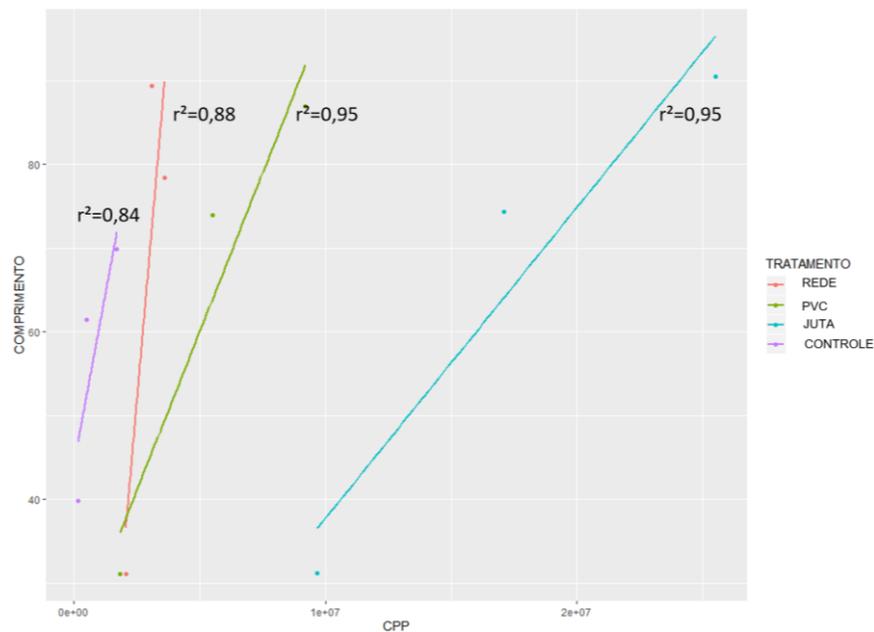
A importância da composição do biofilme neste estudo fica mais evidente quando os dados dos parâmetros zootécnicos são relacionados com a quantificação da comunidade bacteriana do biofilme perifítico, como é observado nas figuras 07 e 08.

Figura 07 – Correlação de Pearson do peso médio e os resultados da contagem padrão em placas dos distintos tratamentos de cultivos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 08 – Correlação de Pearson dos resultados de comprimento médio e os resultados da contagem padrão em placas dos distintos tratamentos de cultivos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Todos os tratamentos mostraram uma correlação positiva peso:cpp e comprimento:cpp, porém no que diz respeito a relação do melhor desempenho zootécnico com a quantificação bacteriana só foi observado nos tratamentos com biofilme, estes mostraram uma relação muito semelhante  $r^2=0,99$  para peso e  $r^2=0,95$  para comprimento, exceto pelo tratamento T1 (Rede) onde visualmente a tendência de crescimento foi diferente, demonstrando uma menor relação ( $r^2=0,72$  peso;  $r^2=0,88$  comprimento) quando comparado com os demais. Apesar desses resultados, como já discutido anteriormente, os parâmetros zootécnicos analisados se mantiveram semelhantes na presença do biofilme perifítico, mesmo diferindo na quantificação bacteriana, uma vez que o tratamento T3 (Juta) demonstrou um maior resultado para CPP do que os demais, dessa forma reforçando a importância da composição do biofilme, podendo sugerir que todos os tratamentos baseados em perifíton alcançaram uma acumulação de biomassa bacteriana mínima para a visualização dos efeitos positivos sobre os parâmetros de crescimento ou que a composição bacteriana foi mais determinante do que a quantidade para os parâmetros zootécnicos analisados.

### 2.3.5 Teste desafio por imersão

Após o fim do cultivo os peixes passaram por teste desafio por imersão com *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e os sinais clínicos externos quando presentes foram registrados e estão apresentados no quadro 03.

Quadro 03 – Sinais clínicos que indicam infecção por *Pseudomonas aeruginosa* nos peixes dos distintos tratamentos de cultivo.

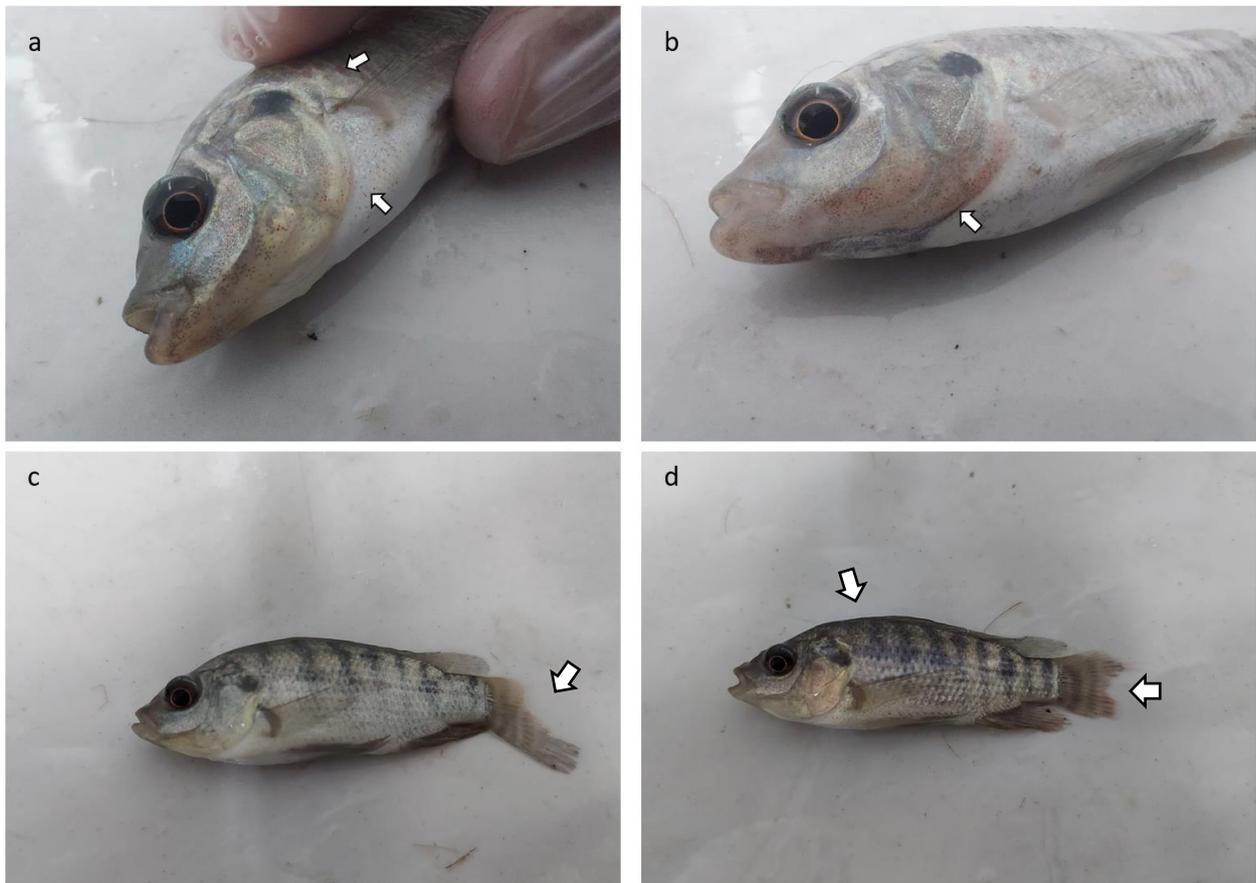
	<b>REDE P.</b>	<b>PVC</b>	<b>JUTA</b>	<b>CONTROLE</b>
	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Sinais clínicos	Observação	Observação	Observação	Observação
Boca	*	*	*	*
Olhos	*	*	*	*
Opérculos	*	Hemorragia peteual	Hemorragia peteual	Hemorragia peteual
Brânquias	*	*	*	*
Tegumento	Coloração escura	Hemorragia peteual	Hemorragia peteual	Hemorragia peteual; Coloração escura
Nadadeiras	Erodidas (caudal)	Erodidas (caudal)	Levemente erodidas (caudal e peitoral)	Levemente erodidas (caudal)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: \*Ausência de sinais.

A bactéria *P. aeruginosa* é relacionada como patógeno em espécies de peixes de água doce e marinhos causando prejuízos econômico em várias partes do mundo (OSMAN *et al.*, 2021). Os principais sinais clínicos por infecção em tilápias são coloração escura no corpo, descolamento de escamas, lesões nodulares, abscesso nos olhos, formação de granulomas, hemorragia peteual, além de inflamações em órgãos internos como fígado, baço, rim e bexiga natatória (EL-SAYED, 2020). Em nosso experimento, após a exposição à bactéria, foi verificado apenas a erosão caudal, coloração escura e pequenas erupções no tegumento (hemorragia peteual) nos animais (FIGURA 09). Esses sinais foram registrados associados à infecção, sendo efeitos diretos (hemorragia peteual) ou indiretos (erosão caudal) e não foram observadas mudanças no comportamento dos animais.

Figura 09 – Sinais clínicos observados nos peixes infectados por *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: a. Erupções no tegumento (hemorragia petequiral); b. Erupções no tegumento (hemorragia petequiral); c. Erosão na nadadeira caudal; d. Erosão na nadadeira caudal e coloração escura.

Diferente dos sinais clínicos observados no nosso estudo, Thomas *et al.* (2014) relataram mortalidades de 35,6% em 72h e de 40% em 96h de *Oreochromis mossambicus* por imersão com *P. aeruginosa*, sendo as guelras os principais órgãos externos acometidos. Trabalhos como de Soto-Rodriguez *et al.* (2013) também associaram o registro no cultivo de *O. mossambicus* de indícios como letargia, natação irregular, olhos vermelhos ou opacos dos animais à infecção por bactérias do gênero *Pseudomonas*. Eissa *et al.* 2010 também atribuiu esses sinais clínicos em tilápias do Nilo infectadas por esse grupo, além de verificar indução de mortalidade de 97% na produção, atribuídos a potenciais fatores de virulências do patógeno como compostos citotóxicos e hemolíticos.

No presente trabalho a CL50 não foi registrada no período avaliado e não se observou mortalidades em massa entre os tratamentos. No entanto, no segundo dia de exposição foi verificado uma morte de um dos exemplares do grupo controle, o exemplar em questão não mostrou sinais clínicos externos relacionados ao patógeno, mas com a ausência de autópsia não foi descartada a ocorrência de infecção.

De forma geral, não houve registro de mortes nos tratamentos onde havia a presença do biofilme perifítico. Esses dados podem estar relacionados aos diferentes modos de ação que o biofilme pode apresentar nos ambientes de cultivo. Além do incremento no desempenho zootécnico, esses microrganismos podem estimular o sistema imunológico ativando mecanismos de defesas frente a diversas ameaças reconhecidas para os organismos aquáticos, atuando como um fator que tende a minimizar o efeito de potenciais patógenos aos animais cultivados (WANG *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2017).

### 3 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, os tratamentos na presença do biofilme perifítico demonstraram os melhores resultados na performance do cultivo de tilápia do Nilo e na resistência ao patógeno *Pseudomonas aeruginosa*, indicando atividade probiótica das cepas iniciadoras do biofilme. O tipo de material utilizado como substrato se mostrou um provável fator que determinou a bioacumulação da comunidade microbiana, sendo a fibra natural de juta, o material que apresentou a maior quantificação bacteriana e mais diversidade dos componentes do zooperifíton. Apesar da influência dos substratos na comunidade microbiana, não foi observado influência nos parâmetros de qualidade de água.

## REFERÊNCIAS

- ABWAO, J. O. *et al.* The potential of periphyton based aquaculture for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) production: a review. **International Journal of Fisheries and Aquatic**, v. 2, n. 1, p. 147-152, 2014.
- ANAND, P. S. S. *et al.* Effect of dietary supplementation of periphyton on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 392–395, p. 59–68, 2013.
- ANAND, P. S. S. *et al.* Substrate based black tiger shrimp, *Penaeus monodon* culture: Stocking density, aeration and their effect on growth performance, water quality and periphyton development. **Aquaculture**, v. 507, n. October 2018, p. 411–418, 2019.
- ASADUZZAMAN, M. *et al.* Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems. **Aquaculture**, v. 287, n. 3–4, p. 371–380, 2009.
- ASADUZZAMAN, M. *et al.* Effects of carbohydrate source for maintaining a high C:N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems. **Aquaculture**, v. 301, n. 1–4, p. 37–46, 2010.
- AUDELO-NARANJO, J. M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; VOLTOLINA, D. Nitrogen budget in intensive cultures of *Litopenaeus vannamei* in mesocosms, with zero water exchange and artificial substrates. **Revista de biología marina y oceanografía**, v. 45, n. 3, p. 519–524, 2010.
- AUDELO-NARANJO, J. M.; VOLTOLINA, D.; ROMERO-BELTRÁN, E. Cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) sin recambio de agua y sin adición de alimento formulado: Un sistema amigable con el ambiente. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 2, p. 441–447, 2012.
- AZIM, M. E. *et al.* A comparison of fertilization, feeding and three periphyton substrates for increasing fish production in freshwater pond aquaculture in Bangladesh. **Aquaculture**, v. 212, n. 1–4, p. 227–243, 2002a.
- AZIM, M. E. *et al.* The effects of artificial substrates on freshwater pond productivity and water quality and the implications for periphyton-based aquaculture. **Aquatic Living Resources**, v. 15, n. 4, p. 231–241, 2002b.
- AZIM, M. E. *et al.*, **Periphyton ecology, exploitation and management**. CABI Publishing, Oxfordshire, UK. 2005.
- BALLESTER, E. L. C. *et al.* Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. **Aquaculture**, v. 269, n. 1–4, p. 355–362, 2007.

BERNOT, R. J.; LAMBERTI, G. A. Indirect effects of a parasite on a benthic community: An experiment with trematodes, snails and periphyton. **Freshwater Biology**, v. 53, n. 2, p. 322–329, 2008.

BICUDO, C. E. M; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. São Carlos: Rima, 2006.

BIODEG, J. B.; SIBI, G. Biosorption of arsenic by living and dried Biomass of fresh water microalgae - potentials and equilibrium studies. **Journal of Bioremediation & Biodegradation**, v. 05, n. 06, 2014.

BISWAS, G. *et al.* Influence of feeding, periphyton and compost application on the performances of striped grey mullet (*Mugil cephalus* L.) fingerlings in fertilized brackishwater ponds. **Aquaculture**, v. 481, n. May, p. 64–71, 2017.

BRETTAR, I.; HOFLE, M. Human pathogens in the marine environment - an ecological perspective. **CIESM Workshop Monographs No.31**, v. 31, p. 59–68, 2007.

BRITO, J. M. DE *et al.* Desempenho zootécnico de juvenis de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com cepas probióticas e submetidos a desafio sanitário. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1–9, 2019.

BRONNMANN, J.; ASCHE, F. Sustainable seafood from aquaculture and wild fisheries: insights from a discrete choice experiment in germany. **Ecological Economics**, v. 142, p. 113–119, 2017.

CAI, W.; ARIAS, C. R. Biofilm formation on aquaculture substrates by selected bacterial fish pathogens. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 29, n. 2, p. 95–104, 2017.

CAO, Y. *et al.* Responses of periphyton on non-plant substrates to different macrophytes under various nitrogen concentrations: a mesocosm study. **Aquatic Botany**, v. 154, n. June 2018, p. 53–59, 2019.

CAVALCANTE, D. D. H. *et al.* Cultivo de juvenis de tilápia do nilo, *oreochromis niloticus* em sistemas convencional, bioflocos e biofítton sob restrição alimentar. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 39, n. 3, p. 223–228, 2017.

CHEN, S. *et al.* Water quality in simulated eutrophic shallow lakes in the presence of periphyton under different flow conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 5, p. 4584–4595, 2018.

CHIKORELA, G.; CHIRWA, E. R.; MZENGEREZA, K. Optimal stocking density of *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1896) for increased growth in a periphyton based aquaculture system. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 2019.

COLE, A. J. *et al.* Effects of pond age and a commercial substrate (the water cleanser™) on natural productivity, bacterial abundance, nutrient concentrations, and growth and survival of marron (*Cherax cainii* Austin, 2002) in semi-intensive pond culture. **Aquaculture**, v. 502, p. 242–249, 2019.

DA SILVA, J. L. S. **Domesticação do perifíton no cultivo de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2018. 155 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

DA SILVA, J. L. S. *et al.* Diversidade da microbiota aquática em cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando bioflocos ou perifíton: fatores de virulência e formação de biofilme. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 38, n. 3, p. 233–241, 2016.

DAVID, L. H. C.; PINHO, S. M.; GARCIA, F. Improving the sustainability of tilapia cage farming in Brazil: an emergy approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 201, p. 1012–1018, 2018.

DE-MORAIS, A. P. M. *et al.* Effect of aeration intensity on the biofilm nitrification process during the production of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in biofloc and clear water systems. **Aquaculture**, v. 514, n. September 2019, 2020.

DIRINGER, B. Periphyton Domestication Offers Feed In Shrimp Culture. **Most**, n. February, p. 60–62, 2010.

DUQUE, S. E. M. *et al.* Efectos del perifíton sobre los parámetros fisicoquímicos del agua en estanques con policultivo de tilapia *Oreochromis niloticus* y *Bocachico Prochilodus magdalenae*. **Revista Lasallista de Investigación**, v. 9, n. 1, p. 41–52, 2013.

EISSA, N. M. E. *et al.* Characterization of pseudomonas species isolated from tilapia “*Oreochromis niloticus*” in qaroun and wadi-El-Rayan lakes, Egypt. **Global Veterinaria**, v. 5, n. 2, p. 116–121, 2010.

EL-SAYED, A.-F. M. **Tilapia culture**. 2. ed. Egypt: Academic Press, 2020.

FAO -Food and Agricultural Organization. **The State of world fisheries and aquaculture-SOFIA**. Roma: FAO, 2020.

FERREIRA, D. A. **Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* com tecnologia de bioflocos em diferentes salinidades e níveis de luminosidade natural**. 2014. 88 p. Tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

FLECKENSTEIN, L. J. *et al.* Effects of supplemental LED lighting on water quality and Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) performance in intensive recirculating systems. **Aquaculture**, v. 504, n. August 2018, p. 219–226, 2019.

FRANCO, D. E. **Efeito da disponibilidade de luz e nutrientes sobre as restrições estequiométricas em uma cadeia alimentar aquática**. 2013. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

FREITAS, R. M. **Avaliação espacial e temporal da comunidade perifítica em distintos sistemas de cultivo em aquicultura**. 2018. 66 p. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Acaraú, 2018.

GARCIA, F. *et al.* The potential of periphyton-based cage culture of Nile tilapia in a Brazilian reservoir. **Aquaculture**, v. 464, p. 229–235, 2016.

GARCIA, V. A.; CLEMENCIA, S.; CARRASCO, P. Evaluación del policultivo de *Bocachico prochilodus magdalenae* y tilapa *oreochromis niloticus* utilizando superficies fijadoras de perifiton. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 58, n. II, p. 71–83, 2011.

GATUNE, C.; VANREUSEL, A.; DE TROCH, M. Sunlight and sediment improve the environment of a litter biofilm-based shrimp culture system. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 9, n. 1, p. 73–85, 2017.

GE, H. *et al.* Cultivation of green algae *Platymonas helgolandica* in rearing water enhances the growth performance and resistance of *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio parahaemolyticus* infection. **Aquaculture International**, v. 25, n. 3, p. 1279–1290, 2017.

GÓMEZ-RAMÍREZ, A. L. *et al.* Biofilm-forming capacity of two benthic microalgae, *Navicula incerta* and *Navicula* sp., on three substrates (Naviculales: Naviculaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 67, n. 3, p. 599–607, 2019.

GORDILLO-GUERRA, J. G.; GUEVARA, G.; REINOSO-FLÓREZ, G. A practical device for evaluating periphyton colonization dynamics in tropical shallow wetlands. **Limnologica**, v. 81, n. December 2019, p. 125755, 2020.

GUBELIT, Y. I.; GROSSART, H. P. New methods, new concepts: what can be applied to freshwater periphyton? **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.

GUIMARÃES, B.M.G. **Estudo de características físico-químicas de fibras têxteis vegetais de espécies de Malvaceae**. 2014. 169 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Têxtil e Moda, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

GUTTMAN, L. *et al.* Combinations of *Ulva* and periphyton as biofilters for both ammonia and nitrate in mariculture fishpond effluents. **Algal Research**, v. 34, n. December 2017, p. 235–243, 2018.

HAMILTON, S. E. **Mangroves and aquaculture a five decade remote sensing analysis of Ecuador's estuarine environments**. v. 33. EUA: Springer, 2020.

HAN, W. *et al.*, Rheological properties of gluten and gluten-starch model doughs containing wheat bran dietary fibre. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 12, p. 2650–2656, 2018.

HAQUE, M. R. *et al.* Evaluation of production performance and profitability of hybrid red tilapia and genetically improved farmed tilapia (GIFT) strains in the carbon/nitrogen controlled periphyton-based (C/N- CP) on-farm prawn culture system in Bangladesh. **Aquaculture Reports**, v. 4, p. 101–111, 2016.

JIANG, W. *et al.* Light and carbon sources addition alter microbial community in biofloc-based *Litopenaeus vannamei* culture systems. **Aquaculture**, v. 515, n. July 2019, 2020.

KESARCODI-WATSON, A. *et al.* Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. **Aquaculture**, v. 274, n. 1, p. 1–14, 2008.

KHATOON, H. *et al.* Formation of periphyton biofilm and subsequent biofouling on different substrates in nutrient enriched brackishwater shrimp ponds. **Aquaculture**, v. 273, n. 4, p. 470–477, 2007.

KIM, S. *et al.* Evaluation of *Bacillus albus* SMG-1 and *B. safensis* SMG-2 isolated from Saemangeum lake as probiotics for aquaculture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture Reports**, v. 20, n. April, p. 100743, 2021.

KSOLL, W. B. *et al.* Presence and sources of fecal coliform bacteria in epilithic periphyton communities of Lake superior. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 12, p. 3771–3778, 2007.

KUMAR, S. *et al.* Effect of periphyton on microbial dynamics, immune responses and growth performance in black tiger shrimp *Penaeus monodon* fabricius, 1798. **Indian Journal of Fisheries**, v. 62, n. 3, p. 67–74, 2015.

LEVY, A. *et al.* Marine periphyton biofilters in mariculture effluents: nutrient uptake and biomass development. **Aquaculture**, v. 473, p. 513–520, 2017.

LI, Q. *et al.* Response of submerged macrophytes and periphyton biofilm to water flow in eutrophic environment: plant structural, physicochemical and microbial properties. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, 2020.

LI, Y.; BOYD, C. E. Laboratory tests of bacterial amendments for accelerating oxidation rates of ammonia, nitrite and organic matter in aquaculture pond water. **Aquaculture**, v. 460, p. 45–58, 2016.

LOPEZ, A. R.; FUNK, D. H.; BUCHWALTER, D. B. Arsenic (V) bioconcentration kinetics in freshwater macroinvertebrates and periphyton is influenced by pH. **Environmental Pollution**, v. 224, p. 82–88, 2017.

MARIONI, D.; KASSAN, N. A.; IKHWANUDDIN, M. Review of attached and suspended biomass applications integrated to recirculating aquaculture systems. **IOP Conference Series: earth and environmental science**, v. 416, n. 1, 2020.

MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R. *et al.* Bacterial diversity studied by next-generation sequencing in a mature phototrophic *Navicula* sp based biofilm promoted into a shrimp culture system. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 5, p. 2047–2054, 2017.

MARTINEZ-PORCHAS, M. *et al.* Effect of supplementing heterotrophic and photoautotrophic biofloc, on the production response, physiological condition and post-harvest quality of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Reports**, v. 16, p. 100257, 2020.

MIZAN, M. F. R.; JAHID, I. K.; HA, S. DO. Microbial biofilms in seafood: a food-hygiene challenge. **Food Microbiology**, v. 49, p. 41–55, 2015.

MILSTEIN, A.; PERETZ, Y.; HARPAZ, S. Comparison of periphyton grown on different substrates as food for organic tilapia culture. **Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh**, v. 60, n. 4, p. 243–252, 2008.

MOHAMAD, N. *et al.* Screening of Lactic Acid Bacteria isolated from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) as potential probiotics. **Aquaculture Reports**, v. 18, n. October 2019, 2020.

MOHAPATRA, B. C. *et al.* Growth of periphyton on different plastic materials in freshwater medium. **Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research**, v. 7, n. 4, p. 228–234, 2016.

MOSCHINI, C.V. Importância, estrutura e dinâmica da comunidade perifítica nos ecossistemas aquáticos continentais. In: POMPEO, M. L. M. **Perspectivas na limnologia do Brasil**: São Luís: União, 1999. p.01-11.

MRIDULA, R. M. *et al.* Water quality, biofilm production and growth of fringe-lipped carp (*Labeo fimbriatus*) in tanks provided with two solid substrates. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 3, p. 263–267, 2003.

NEVES, L. F. M. **Influência do cultivo de tainhas (*Mugil platanus*) e camarões (*Litopenaeus vannamei*) sobre o desenvolvimento de comunidades perifíticas em substrato artificial, no extremo sul do Brasil (Rio Grande, RS)**. 2009. 62 p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

NUNES, A. J. P. A intensificação no cultivo de camarões: uma tendência inevitável para melhorar a eficiência produtiva e econômica. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 175, p. 49-61, 2019.

OSMAN, K. M. *et al.* Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as an aquatic vector for *Pseudomonas* species of medical importance: antibiotic resistance association with biofilm formation, quorum sensing and virulence. **Aquaculture**, v. 532, n. October 2020, 2021.

PENARIOL, I. **Parâmetros bióticos e abióticos em tanques de piscicultura tratados com macrófita aquática e perifíton**. 2015. 88 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

PIAMSOMBOON, P. *et al.* Streptococcosis in freshwater farmed seabass *Lateolabrax niloticus* and its virulence in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 523, n. March, p. 735-739, 2020.

REN, W. *et al.*, Effects of C/N ratio and light on ammonia nitrogen uptake in *Litopenaeus vannamei* culture tanks. **Aquaculture**, v. 498, p. 123–131, 2019.

RICHARD, M. *et al.* Submersion time, depth, substrate type and sampling method as variation sources of marine periphyton. **Aquaculture**, v. 295, n. 3–4, p. 209–217, 2009.

RICHARD, M. *et al.* Influence of periphyton substrates and rearing density on *Liza aurata* growth and production in marine nursery ponds. **Aquaculture**, v. 310, n. 1–2, p. 106–111,

2010.

RODRIGUES, C. G. *et al.* Integrated culture of Nile tilapia and Amazon river prawn in stagnant ponds, using nutrient-rich water and substrates. **Aquaculture**, v. 503, n. June 2018, p. 111–117, 2019.

RUSSO, A.D.P.G. **Produtividade primária do biofilme em cultivos dos camarões marinhos *Farfantepenaeus paulensis* e *Litopenaeus vannamei***. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Fundação Universidade do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2008.

SABATER, S. *et al.* Monitoring the effect of chemicals on biological communities the biofilm as an interface. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1425–1434, 2007.

SAIKIA, S. K.; DAS, D. N. Potentiality of periphyton-based aquaculture technology in rice-fish environment. **Journal of Scientific Research**, v. 1, n. 3, p. 624–634, 2009.

SAKR, E. M. *et al.* Evaluation of periphyton as a food source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles fed reduced protein levels in cages. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 27, n. 1, p. 50–60, 2015.

SANTHANA KUMAR, V. *et al.* Effect of periphyton (aquamat) on water quality, nitrogen budget, microbial ecology, and growth parameters of *Litopenaeus vannamei* in a semi-intensive culture system. **Aquaculture**, v. 479, p. 240–249, 2017.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R., 2017. Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Texto para discussão/Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada-Brasília. Ipea, Rio de Janeiro.

SCHVEITZER, R. *et al.* Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**, v. 54, p. 93–103, 2013.

SHABBIR, S. *et al.* Periphyton biofilms: a novel and natural biological system for the effective removal of sulphonated azo dye methyl orange by synergistic mechanism. **Chemosphere**, v. 167, p. 236–246, 2017.

SIQUEIRA, T. V. Aquicultura : a nova fronteira para aumentar a produção mundial de forma sustentável. **BNDS**, v. 25, n. 49, p. 119–170, 2018.

SOTO-RODRIGUEZ, S. A. *et al.* Identification and virulence of *Aeromonas dhakensis*, *Pseudomonas mosselii* and *Microbacterium paraoxydans* isolated from Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultivated in Mexico. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 3, p. 654–662, 2013.

STRAIN, P.M. Eutrophication impacts of marine finfish aquaculture. **Canadian Science Advisory Secretariat**. 41p, 2005.

TIERNEY, T. W.; FLECKENSTEIN, L. J.; RAY, A. J. The effects of density and artificial

substrate on intensive shrimp *Litopenaeus vannamei* nursery production. **Aquacultural Engineering**, v. 89, n. October 2019, 2020.

THOMAS, J. *et al.* Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and treatment using lime oil nanoemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 116, p. 372–377, 2014.

THURLOW, C. M. *et al.* *Bacillus velezensis* AP193 exerts probiotic effects in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and reduces aquaculture pond eutrophication. **Aquaculture**, v. 503, n. November 2017, p. 347–356, 2019.

TSAI, C. Y.; CHI, C. C.; LIU, C. H. The growth and apparent digestibility of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, are increased with the probiotic, *Bacillus subtilis*. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 5, p. 1475–1481, 2019.

VAN DAM, A. A. *et al.* The potential of fish production based on periphyton. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 12, n. 1, p. 1–31, 2002.

WANG, M.; LU, M. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 8, p. 2363–2374, 2016.

WANG, A. *et al.* Use of probiotics in aquaculture of China review of the past decade. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, n. December 2018, p. 734–755, 2019.

WEI, Y. FANG; WANG, A. LI; LIAO, S. AN. Effect of different carbon sources on microbial community structure and composition of ex-situ biofloc formation. **Aquaculture**, v. 515, n. March 2018, 2020.

WOLSKA, M.; MAZURKIEWICZ-ZAPAŁOWICZ, K. Parasites of zooplankton and periphyton assemblages in the littoral zone of lakes in Drawa National Park, Poland. **Acta Mycologica**, v. 48, n. 1, p. 51–59, 2013.

WU, Y. **Periphyton**: functions and application in environmental remediation. China: Elsevier, 2017.

XU, W. J.; MORRIS, T. C.; SAMOCHA, T. M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. **Aquaculture**, v. 453, p. 169–175, 2016.

**APÊNDICE A – PERFIL ENZIMÁTICO, ANTAGONISMO FRENTE A  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA E FORMAÇÃO DE BIOFILME DAS BACTÉRIAS  
QUE COMPUSERAM O CONSÓRCIO INICIADOR DO BIOFILME PERIFÍTICO  
(ADAPTADO DE DA SILVA, 2018).**

Perfil enzimático/Antagonismo	Consórcio			
	<i>Rhizobium rosettiformans</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Burkholderia sp</i>
TMC	***	**	**	*
AVC	-	+	+	+
PROT	-	+	+	+
AMI	-	-	+	-
LIP	-	+	+	+
FOSF	-	+	+	+
GEL	-	-	-	+
CEL	-	-	-	-
βHEMOLISE (Carneiro) Antagonismo frente a <i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	+	-	+	+

\*\*\* Forte agregação; \*\* Média agregação; \* Fraca agregação; - Ausente; + Positivo; TMC. Teste de aderência a microplaca; AVC. Ágar vermelho congo; PROT. Protease; AMI. Amilase; LIP; Lipase; FOSF. Fosfolipase; GEL. Gelatinase; CEL. Celulase.