



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

FRANCISCO ROBERTO DOS SANTOS LIMA

**QUALIDADE DE ÁGUA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS, COM RESTRIÇÃO DE DIETA COMERCIAL, SUPLEMENTADO
COM METIONINA SINTÉTICA E ÓLEO DE SOJA**

FORTALEZA

2021

FRANCISCO ROBERTO DOS SANTOS LIMA

QUALIDADE DE ÁGUA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA
DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS, COM
RESTRIÇÃO DE DIETA COMERCIAL, SUPLEMENTADO COM METIONINA
SINTÉTICA E ÓLEO DE SOJA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, nível Doutorado, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá.

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)

- L698q Lima, Francisco Roberto dos Santos.
Qualidade de água e desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em sistema de bioflocos, com restrição de dieta comercial, suplementado com metionina sintética e óleo de soja / Francisco Roberto dos Santos Lima. – 2021.
182 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá.
1. Bioflocos. 2. Nutrição. 3. Qualidade de água. 4. Proteína. I. Título.

CDD 639.2

FRANCISCO ROBERTO DOS SANTOS LIMA

QUALIDADE DE ÁGUA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA
DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS, COM
RESTRIÇÃO DE DIETA COMERCIAL, SUPLEMENTADO COM METIONINA
SINTÉTICA E ÓLEO DE SOJA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, nível Doutorado, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Aquicultura.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Professor Dr. Antônio Glaydson Lima Moreira
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Professor Dr. Davi de Holanda Cavalcante
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Professor Dr. José William Alves da Silva
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Professor Dr. Glácio Souza Araújo
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Aos meus pais, esposa e filha.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos concedidas e por me fortalecer nos momentos mais difíceis.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao exímio orientador Prof. Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá, pela contribuição intelectual valiosíssima, compreensão e auxílio em todas as etapas de realização da tese.

Aos meus pais, Raimundo e Elioneide por me guiaram e educaram sempre para o meu melhor. Sempre serei grato por toda dedicação e amor que me foi dado.

A minha esposa Ana Carolina e minha filha Isabella, pela paciência, companheirismo e alegria.

Aos meus irmãos, pela amizade e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Ao meu amigo Davi Cavalcante, pela colaboração em todas as etapas de minha formação.

Aos amigos de LCTA, Hiago Gadelha, Fernando Pablo e Arthur Borges que ajudaram na realização dos experimentos.

Aos amigos Marcos Apoliano, Éder Raulino, Jéssica Lucinda, Lorena Leite, Diana Bezerra e Nayagra Vidal, por compartilharem conhecimentos e risadas.

Ao Prof. Dr. Bartolomeu de Souza, por permitir a realização de análises de algumas variáveis experimentais no LATEP/UFC.

A Cinthia Santos e Diego Vale, pela ajuda nas análises laboratoriais realizadas no LATEP/UFC.

A Profa. Dra. Elzânia Pereira, por viabilizar as avaliações analíticas no Laboratório de Nutrição animal/UFC.

A Amanda Rocha, Caio Hebster, Danilo Fernandes e Felipe Pereira, por disponibilizarem tempo e atenção para ajudarem nas determinações analíticas no Laboratório de Nutrição animal/UFC.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Pesca, pelo conhecimento compartilhado.

Aos professores participantes da banca examinadora pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

RESUMO

O presente estudo monitorou a qualidade da água e o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, cultivados em sistema de bioflocos, com restrição na oferta de dieta comercial, quando se fez a suplementação da ração com DL-metionina sintética e óleo de soja. Para tanto, foram realizados três experimentos consecutivos. No primeiro experimento, o delineamento experimental foi constituído por dois grupos controle: 1 – sem restrição alimentar, sem suplementação com DL-metionina; 2 – com restrição alimentar de 25%, sem suplementação com DL-metionina; e quatro tratamentos experimentais, com restrição alimentar de 25% e suplementação da ração com 0,5; 1,0 e 2,0% de DL-metionina; e suplementação de 1,0% de DL-metionina ao melaço. O ganho em peso corporal dos peixes, mantidos nos tanques com restrição alimentar e suplementação da ração com 1% ou 2% de DL-metionina, não diferiu do observado nos tanques sem restrição alimentar. Concluiu-se que é possível restringir as taxas de arraçamento de juvenis de tilápia, mantidos em tanques BFT de cultivo, em 25%, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação da dieta com, pelo menos, 1% de DL-metionina. No segundo experimento, repetiu-se os grupos controle realizados no primeiro experimento. Nos demais tratamentos, os juvenis de tilápia foram submetidos à restrição na oferta alimentar em 25%, tendo-se suplementado a ração com 0,6%, 1,2% e 2,4% de óleo de soja. Além desses tratamentos, adicionou-se 1,2% de óleo de soja diretamente ao melaço. Os índices de desempenho zootécnico da tilápia foram prejudicados pela menor oferta de da ração. A suplementação da ração de óleo de soja não melhorou o desempenho zootécnico da tilápia. Concluiu-se que a suplementação da ração comercial dos juvenis de tilápia, mantidos em tanques BFT submetidos à restrição na oferta de alimento artificial, com níveis crescentes de óleo de soja, não foi capaz de prevenir a redução significativa no desempenho animal. No último experimento, os peixes foram mantidos em tanques BFT, submetidos ou não taxas restritivas de 25% na oferta de ração comercial, e com diferentes níveis de suplementação de DL- metionina (0% e 1,0%) e/ou óleo de soja (0%; 0,6% e 1,2%) na ração. A qualidade de água foi afetada somente pela quantidade de ração ofertada. A redução na oferta de ração em 25%, sem suplementação com DL-metionina e óleo de soja, prejudicou os índices zootécnicos da tilápia, em relação aos tanques sem restrição. A suplementação combinado de DL-metionina e óleo de soja, às dietas artificiais, melhorou a sobrevivência da tilápia quando submetida à restrição na oferta de ração comercial. Concluiu-se que a suplementação da ração comercial com DL-metionina, em 1,0%, e/ou óleo de soja, em 0,6%, em regime de restrição na oferta de alimento artificial de 25%, previne a queda nos índices de desempenho zootécnico de juvenis

de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT.

Palavras-chave: bioflocos; nutrição; qualidade de água; proteína; lipídios.

ABSTRACT

The present study evaluated water quality and zootechnical performance of Nile tilapia juveniles grown in a biofloc system with commercial diet restriction, supplemented with synthetic methionine and soy oil. For this, three consecutive experiments were carried out. In the first experiment, the experimental design consisted of two control groups (1 - without dietary restriction, without supplementation with methionine; 2 - with dietary restriction of 25%, without supplementation with methionine) and four experimental treatments with dietary restriction of 25% and supplementation 0.5; 1.0 and 2.0% of DL-methionine to the ration, respectively, and supplementation of molasses in 1.0% of DL-methionine. Weight gain of fish reared in tanks with feeding restriction and dietary DL-methionine supplementation at 1% or 2% has not differed ($p>0.05$) from the tanks without feeding restriction. It has been concluded that it is possible to restrict the daily feeding allowances of tilapia juveniles reared in BFT tanks at 25%, with no growth performance impairment, if a minimal dietary DL-methionine supplementation of 1.0% is carried out. In the second experiment, the control groups performed in the first experiment were repeated. In the other treatments, juvenile tilapia, raised in BFT tanks, were restricted in feed supply by 25% and 0.6%, 1.2% and 2.4% soy oil were added daily to the feed, respectively. In addition to these treatments, there was one in which 1.2% soy oil was added to the molasses. FBW, SGR, weekly weight gain and fish productivity were hindered by reduced feed supply. The incorporation of soybean oil in the diet did not improve the zootechnical performance of tilapia. It has been concluded that the supplementation of the tilapia juveniles' commercial diet with increasing levels of soybean oil, reared in BFT tanks submitted to artificial diet feeding restriction, was not capable to prevent the deterioration of the animal's growth performance. In the last experiment the fish were grown in BFT tanks, with or without the use of restrictive rates of 25% in the supply of commercial feed, and with levels of inclusion of DL-methionine (0% and 1.0%) and / or soy oil (0%, 0.6% and 1.2%) in the feed. The water quality was affected only by the amount of feed offered. The 25% reduction in feed supply without DL-methionine and soy oil supplementation impaired FBW, WWG and fish yield in relation to unrestricted tanks. The combined use of DL-methionine and soybean oil in artificial diets improves the survival of tilapia under feed restriction. It is concluded that the supplementation of DL-methionine in 1.0% and / or soy oil in 0.6% in artificial diets, with a 25% restriction, avoids worsening of the growth indexes.

Keywords: bioflocos; nutrition; water quality; protein; lipids.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Concentração de nitrogênio amoniacal total na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5) 52
- Figura 2 – Concentração de nitrito na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5) 53
- Figura 3 – Concentração de nitrato na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5) 54
- Figura 4 – Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5) 55
- Figura 5 – Concentração de sólidos suspensos totais (SST) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5) 56

Figura 6 – Peso corporal final de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos à restrição alimentar de 25%, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	62
Figura 7 – Fator de conversão alimentar (FCA) de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos à restrição alimentar de 25%, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética	63
Figura 8 – Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L	99
Figura 9 – Concentração de nitrito (NO_2^-) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L	100
Figura 10 – Concentração de nitrato (NO_3^-) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L	101
Figura 11 – Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L	103
Figura 12 – Concentração de sólidos suspensos totais (SST) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.....	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Delineamento experimental	43
Tabela 2 – Tabela alimentar.....	44
Tabela 3 – Oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e temperatura da água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	48
Tabela 4 – Alcalinidade total, dureza total e concentração de CO ₂ livre na água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	49
Tabela 5 – Concentrações de fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	50
Tabela 6 – Composição centesimal de bioflocos produzidos em tanques de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 3)	57
Tabela 7 – Sobrevivência, peso corporal final (PCf), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho de peso semanal (GPS) de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	59

Tabela 8 – Produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA) e taxa de eficiência proteica (TEP) de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5)	61
Tabela 9 – Delineamento experimental	68
Tabela 10 – Tabela alimentar	69
Tabela 11 – Oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e alcalinidade total da água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; n = 5)	72
Tabela 12 – Dureza total, concentração de CO ₂ livre, fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; n = 5)	74
Tabela 13 – Concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO ₂ ⁻), nitrato (NO ₃ ⁻), sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) na água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; n = 5)	76
Tabela 14 – Composição centesimal de bioflocos, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja. Os resultados de proteína, extrato etéreo e cinzas estão apresentados na base seca (média \pm d.p.; n = 5)	78

Tabela 15 – Sobrevivência, peso corporal final (PCf), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho em peso semanal (GPS) de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , após 6 semanas de cultivo em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média ± d.p.; n = 5)	80
Tabela 16 – Produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA) e taxa de eficiência proteica (TEP) de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , após 6 semanas de cultivo em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média ± d.p.; n = 5)	82
Tabela 17 – Delineamento experimental. Excetuando-se o controle-positivo (C _{SR}), restringiu-se a oferta de ração comercial em 25%, em todos os tratamentos, tendo como referência as taxas regulares de alimentação	88
Tabela 18 – Tabela alimentar	89
Tabela 19 – Monitoramento da qualidade da água de cultivo dos peixes	90
Tabela 20 – Concentração de oxigênio dissolvido (O ₂), pH, condutividade elétrica (CE) e CO ₂ livre da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, <i>in loco</i> , com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C _{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C _{SR} (média ± d.p.; n = 4 ¹)	92
Tabela 21 – Alcalinidade total (AT), dureza total (DT), concentração de fósforo reativo, ferro dissolvido (Fe ⁺²) e matéria orgânica (MO) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, <i>in loco</i> , com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C _{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C _{SR} (média ± d.p.; n = 4 ¹)	94

- Tabela 22 – Concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; n = 4) 97
- Tabela 23 – Composição centesimal dos bioflocos, após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; n = 4¹) 105
- Tabela 24 – Desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; n = 4¹) 108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALN	alfa-linolênico
ARA	Ácido araquidônico
AT	Alcalinidade total
BFT	Tecnologia de bioflocos
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
Ca(OH) ₂	Hidróxido de cálcio
CE	Condutividade elétrica
CO ₂ livre	Dióxido de carbono livre
cm	Centímetro
C:N	Carbono:nitrogênio
DHA	Ácido docosahexaenoico
DT	Dureza total
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Extrato etéreo
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FCA	Fator de conversão alimentar
g	Gramma
GPS	Ganho em peso semanal
h	Hora
HUFA	Ácidos graxos altamente insaturados
kg	Quilograma
kJ g ⁻¹	Quilojoule por grama
L	Litros
LA	ácido linoleico
mg L ⁻¹	Miligramma por litro
mL L ⁻¹	Mililitro por litro
MS	Matéria seca
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NAT	Nitrogênio amoniacal total

NO_2^-	Nitrito
NO_3^-	Nitrato
PB	Proteína bruta
PCf	Peso corporal final
PO_4^{3-}	Fósforo
PUFAs	ácidos graxos poli-insaturados
SS	Sólidos sedimentáveis
SST	Sólidos suspensos totais
TCE	Taxa de crescimento específico
TEP	Taxa de eficiência proteica
μm	Micrómetro
$\mu\text{mol g}^{-1}$	Micromol por grama
$\mu\text{S cm}^{-1}$	Microsiems por centímetro
$^\circ\text{C}$	Graus Celsius
$\% \text{ dia}^{-1}$	Percentual por dia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	23
2.1	Objetivo geral	23
2.2	Objetivos específicos	23
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
3.1	Aquicultura	24
3.2	Sistema baseado em bioflocos	25
3.3	Ajuste da relação C:N para desenvolvimento do bioflocos	28
3.4	Utilização do bioflocos como alimento	29
3.5	Aminoácidos em bioflocos	32
3.6	Lipídios em bioflocos	34
3.7	Alimentação de tilápia do Nilo	37
4	SUPLEMENTAÇÃO DA RAÇÃO BALANCEADA COM DL-METIONINA E SEUS EFEITOS SOBRE A QUALIDADE DA ÁGUA, COMPOSIÇÃO DOS BIOFLOCOS E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM TANQUES BFT DE CULTIVO	40
4.1	Introdução	40
4.2	Material e métodos	41
4.2.1	Sistema de cultivo e população experimental	41
4.2.2	Maturação do bioflocos	42
4.2.3	Sistema de aeração e agitação da água	42
4.2.4	Delineamento experimental	43
4.2.5	Manejo da relação C:N da água	44
4.2.6	Manejo de sólidos e da água	44
4.2.7	Monitoramento da qualidade de água de cultivo	45
4.2.8	Monitoramento do desempenho zootécnico	45
4.2.9	Composição centesimal dos bioflocos	46
4.2.10	Análise estatística	47
4.3	Resultados e discussão	47
4.3.1	Qualidade de água	47

4.3.2	Composição bromatológicas dos bioflocos	57
4.3.3	Desempenho zootécnico	58
4.3.4	Relação custo: benefício	63
4.4	Conclusão	64
5	SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, <i>Oreochromis niloticus</i>, MANTIDOS EM TANQUES BFT COM RESTRIÇÃO NA OFERTA DE RAÇÃO BALANCEADA, COM ÓLEO DE SOJA	65
5.1	Introdução	65
5.2	Material e métodos	66
5.2.1	Peixes e sistema de cultivo	66
5.2.2	Tanque de maturação de bioflocos	67
5.2.3	Delineamento experimental	68
5.2.4	Manejo da relação C:N da água	69
5.2.5	Manejo de sólidos suspensos e da qualidade de água	69
5.2.6	Monitoramento de variáveis de qualidade de água	70
5.2.7	Coleta e composição centesimal dos bioflocos	70
5.2.8	Monitoramento de variáveis zootécnicas	71
5.2.9	Análise estatística	71
5.3	Resultados e discussão	72
5.3.1	Qualidade de água	72
5.3.2	Composição química dos bioflocos	78
5.3.3	Desempenho zootécnico	80
5.4	Conclusão	83
6	SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA ARTIFICIAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, <i>Oreochromis niloticus</i>, MANTIDOS EM TANQUES BFT, COM DL-METIONINA E ÓLEO DE SOJA	84
6.1	Introdução	84
6.2	Material e métodos	86
6.2.1	Peixes e tanque de maturação de bioflocos	86
6.2.2	Sistema de cultivo	87
6.2.3	Delineamento experimental	87
6.2.4	Manejo da relação C:N, sólidos suspensos e qualidade de água	89

6.2.5	Monitoramento de variáveis de qualidade de água	89
6.2.6	Coleta e composição centesimal dos bioflocos	90
6.2.7	Monitoramento de variáveis zootécnicas	91
6.2.8	Análise estatística	91
6.3	Resultados e discussão	91
6.3.1	Qualidade de água	91
6.3.2	Composição centesimal dos bioflocos	104
6.3.3	Desempenho zootécnico	107
6.3.4	Custo da alimentação	112
6.4	Conclusão	112
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	113
8	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	114
9	REFERÊNCIAS	115
	APÊNDICE A - CULTIVO INTENSIVO, SUPERINTENSIVO E HIPERINTENSIVO DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, <i>Oreochromis niloticus</i> , EM TANQUES BFT	135
	APÊNDICE B - TEMPO MÍNIMO PARA MATURAÇÃO DE BIOFLOCOS EM TANQUES EXPERIMENTAIS	164

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia de bioflocos (*Biofloc Technology System* – BFT), empregada na aquicultura, permite que o empreendimento aquícola aumente a produtividade de pescado e reduza as trocas de água do tanque. O uso de uma fonte de carbono para ajuste da relação C:N da água, juntamente com o fornecimento de intensa aeração mecânica, permite o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que assimilam amônia, transformando-a em proteína microbiana (WASIELESKY *et al.*, 2006; EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2013). Desta forma, o sistema BFT pode ser considerado ambientalmente correto, pela liberação mínima de efluentes para o meio. Além de melhorar a qualidade da água, o sistema BFT pode acelerar o crescimento corporal, aumentar a eficiência da atividade enzimática e da resposta-imune dos animais cultivados (LONG *et al.*, 2015; KAMILYA *et al.*, 2017). Isso é possível pela utilização de componentes celulares, metabólitos e outros produtos derivados da comunidade bacteriana heterotrófica, como lipopolissacarídeos, peptidoglicanos e β -1,3-glucanos, que apresentam potencial imunestimulante (De SCHRYVER *et al.*, 2008; CRAB *et al.*, 2012). O crescimento e diversidade da comunidade microbiana, em tanques BFT, pode variar em função da relação C:N e da fonte de carbono utilizada (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; DENG *et al.*, 2018), afetando a qualidade dos flocos. A reduzida, ou mesmo nenhuma troca de água, aliada à ação probiótica dos bioflocos, conferem ao sistema BFT maior biossegurança aos animais cultivados (GUTIÉRREZ *et al.*, 2016; CAVALCANTE *et al.*, 2017).

Peixes e camarões, tais como a tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) e o camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, podem utilizar os flocos microbianos como fonte de alimento. Com isso, o produtor poderia reduzir a quantidade de ração ofertada ou diminuir o nível de proteína bruta da dieta, com a consequente obtenção de maior lucratividade (XU *et al.*, 2012; DA SILVA *et al.*, 2018; GREEN *et al.*, 2019). O uso combinado de bioflocos e dietas artificiais pode proporcionar bons índices de crescimento animal (ANAND *et al.*, 2014).

A composição dos bioflocos pode ser rica em proteínas, lipídios, carboidratos e minerais. Entretanto, as pesquisas têm mostrado que existe grande variação na composição nutricional dos bioflocos, havendo, em muitos casos, baixas concentrações de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, em níveis abaixo das exigências de peixes e camarões cultivados (EBELING *et al.*, 2006; CRAB *et al.*, 2010; ANAND *et al.*, 2014; EKASARI *et al.*, 2014).

Os aminoácidos essenciais devem ser obtidos na dieta animal, já que não são sintetizados pelo organismo. Com isso, alimentos deficientes em aminoácidos essenciais podem causar prejuízo ao produtor, por retardar o crescimento animal. Alguns estudos mostraram que

os bioflocos, utilizados na alimentação de peixes e camarões, eram deficientes em alguns aminoácidos essenciais, dentre eles a metionina (BAUER *et al.*, 2012; EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016).

Os lipídios são moléculas orgânicas, constituídas de ácidos graxos, que são importantes compostos utilizados pelos organismos aquáticos para crescimento, saúde e reprodução. Deficiência nutricional em ácidos graxos essenciais pode levar à produção irregular de hormônios e à má utilização das vitaminas (TURCHINI; TORSTENSEN; NG, 2009; WALL *et al.*, 2010). Segundo Izquierdo *et al.* (2006) e Xu e Pan (2012), os bioflocos podem influenciar a composição corporal de camarões cultivados, elevando o teor de lipídios nesses animais. Entretanto, os bioflocos geralmente contêm baixas concentrações de lipídios (AZIM; LITTLE, 2008; LUO *et al.*, 2014), sendo deficientes em alguns ácidos graxos essenciais (DANTAS *et al.*, 2016), como o ácido araquidônico.

Diante do exposto, levantou-se a hipótese de que seria possível a obtenção de melhores resultados zootécnicos na criação da tilápia do Nilo, em tanques BFT, submetidos à restrição no fornecimento de alimento artificial, caso se suplementasse a composição química dos bioflocos com aminoácidos e ácidos graxos essenciais, especificamente metionina e ácido linoleico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade da água e o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), cultivados em sistema de bioflocos com restrição de dieta comercial, suplementado com metionina sintética e óleo de soja.

2.2 Objetivos específicos

- (1) Quantificar o nível mínimo de adição do aminoácido sintético DL-metionina e/ou óleo de soja que melhore o crescimento de juvenis de tilápia em tanques de bioflocos em condição de restrição da oferta de dieta comercial;
- (2) Avaliar se há efeitos isolados ou combinados da restrição de alimento comercial e suplementação de aminoácido sintético DL-metionina e/ou óleo de soja sobre a concentração de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade elétrica, alcalinidade total, dureza total, gás carbônico, ferro dissolvido, fósforo reativo, matéria orgânica, concentração de nitrogênio amoniacal total, nitrito, nitrato, sólidos sedimentáveis e sólidos suspenso totais na água de tanques de cultivo de juvenis de tilápia em bioflocos;
- (3) Analisar se a composição centesimal do bioflocos sofre influência da restrição de alimento comercial e suplementação de aminoácido sintético DL-metionina e/ou óleo de soja em tanques de cultivo de juvenis de tilápia.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aquicultura

A aquicultura é a atividade de produção de organismos aquáticos com ciclo de vida parcial ou total em meio aquático. Segundo a FAO (2020), a produção global aquícola em 2018 foi superior a 114 milhões de toneladas (incluindo plantas aquáticas). O consumo de pescado em 2018 foi de $20,5 \text{ kg}^{-1} \text{ hab.}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, sendo que a projeção para o ano de 2030 é que o consumo supere a marca de $21,5 \text{ kg}^{-1} \text{ hab.}^{-1} \text{ ano}^{-1}$.

O Brasil apresenta uma produção de peixes de 605 mil toneladas e com potencialidade para se torna um dos maiores produtores aquícolas (FAO, 2020). A expectativa é que a produção de peixe em cativeiro no Brasil tenha um crescimento de 32,2%, entre o período de 2018 a 2030 (FAO, 2020).

Em 2018, o grupo mais produzido foi o de peixes de água doce com 54,2 milhões de toneladas, com destaque para a carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*), carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*), como as mais produzidas mundialmente (FAO, 2020). A tilápia do Nilo passou a ocupar o 3º lugar entre as espécies de peixes mais produzidas no mundo, com 4,5 milhões de toneladas (FAO, 2020). Em 2019, a tilápia do Nilo foi a espécie de peixe mais produzida no Brasil com uma produção superior a 323 mil toneladas, representando 61,1% da produção total da piscicultura nacional (IBGE, 2019).

A aquicultura, como qualquer outra atividade produtiva, pode de alguma forma gerar efluentes capazes de alterar as condições ideais do corpo de água receptor. Em sistemas intensivos a produção aquícola gera um excesso de matéria orgânica e nutrientes que podem ocasionar prejuízos ao meio ambiente (PIEDRAHITA, 2003). Os dejetos como fezes e sobras de ração oriundos da aquicultura podem contribuir para impactos ambientais relevantes (AVNIMELECH, 2009), como perda de biodiversidade e biomassa aquática (LEFRANÇOIS *et al.*, 2010). As rações utilizadas nos sistemas intensivos são ricas em nitrogênio e fósforo, e somente 20 a 30% é recuperado, respectivamente, na biomassa despescada.

A escassez de água potável, motivada pela alta demanda, condições ambientais e uso sustentável dos recursos hídricos, pode interferir nos sistemas de cultivo utilizados para produção de organismos em água doce. Por isso, a necessidade de utilização de sistemas e técnicas de cultivo mais sustentáveis ambientalmente. Nos empreendimentos aquícolas a renovação de água dos viveiros e tanques de cultivo ainda é empregado como método para

resolver o problema de má qualidade de água (GUTIERREZ-WING; MALONE, 2006), ocasionando maior consumo de água.

Uma alternativa para os sistemas convencionais de aquicultura é a tecnologia de bioflocos (AVNIMELECH, 2006). Neste sistema é incentivado o crescimento de determinados microrganismos em condições ajustadas e controladas dentro dos tanques de cultivo. Como consequência, ocorre a absorção de compostos indesejáveis, como amônia e nitrito, pelos microrganismos. O sistema é considerado ambientalmente correto por reduzir a liberação de efluentes ricos em nutrientes e matéria orgânica, além de menor uso de água (KRUMMENAUER *et al.*, 2012).

3.2 Sistema baseado em bioflocos

A tecnologia de bioflocos é uma técnica de ajuste da relação carbono e nitrogênio no tanque de cultivo promovendo melhoria na qualidade de água e redução considerável do uso de água pelo sistema. Com o ajuste da relação, o crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias é incentivado e, com isso, ocorre assimilação de compostos nitrogenados. Os bioflocos são formados também por fitoplâncton, bactérias, protozoários, metazoários, cianobactérias, larvas de invertebrados e agregados de matéria orgânica particulada viva e morta (HARGREAVES, 2006; EMERENCIANO *et al.*, 2007). Além de atuar na melhoria da qualidade da água, o bioflocos presente no sistema serve de alimentação suplementar para peixes e camarões cultivados.

O sistema BFT apresenta vantagens quando comparado com a aquicultura convencional. Em termos ambientais, há uma redução do lançamento de excesso de nutrientes já que o sistema BFT minimiza a liberação de água do cultivo (EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2013). Ademais, o sistema BFT permite o aumento da densidade de estocagem e da biossegurança, com redução dos custos de produção pela utilização de rações com menor conteúdo de proteína ou menor entrada de ração (WASIELESKY *et al.*, 2006; De SCHRYVER *et al.*, 2008).

A tecnologia de bioflocos permite melhorar a qualidade de água dos tanques de cultivo e o crescimento de camarões. Kumar *et al.* (2018) observaram redução significativa, de até cinco vezes menor, de NH_4^+ e NO_2^- nos tanques BFT em relação àqueles sem ajuste de relação C:N. Os autores encontraram menores níveis de nitrogênio no efluente dos tanques BFT do que no controle. No sistema de bioflocos, notou-se uma elevada concentração de bactérias heterotróficas e uma redução de *Vibrio*. O crescimento dos camarões *L. vannamei* foi

significativamente maior nos tanques BFT do que no grupo controle.

A tecnologia BFT pode melhorar o crescimento, as atividades das enzimas digestivas e a resposta imune da tilápia (LONG *et al.*, 2015). Esses autores relatam que o maior crescimento da tilápia no sistema BFT é atribuído a manutenção de uma boa qualidade de água e melhora na atividade da enzima digestiva (maior atividade de amilase no intestino e lipase do fígado) dos peixes, proporcionando melhora na utilização do alimento.

O aumento do crescimento e o bem-estar dos peixes cultivados podem ser atribuídos à manutenção *in situ* da qualidade da água dentro do sistema de bioflocos e à presença de flocos microbianos (KAMILYA *et al.*, 2017). Neste estudo, os autores investigaram por 16 semanas o efeito do sistema de bioflocos no controle de nitrogênio inorgânico e crescimento de carpa indiana “rohu” (*Labeo rohita*) mantidas em tanques com relação C:N de 15:1. Os peixes cultivados em tanques de bioflocos apresentaram ganho de peso diário de 1,40 g d⁻¹, significativamente maior do que o controle, sem ajuste da relação C:N, com 0,68 g d⁻¹. A análise das variáveis de qualidade de água indicou que o mecanismo dominante que influencia na remoção de amônia no sistema de bioflocos era realizado por bactérias heterotróficas, ao invés de nitrificação.

Outro aspecto do sistema BFT é a integração com outros sistemas de cultivo para reciclagem dos nutrientes produzidos. Os efluentes de tanques BFT podem ser utilizados em sistemas aquapônicos para produção de vegetais (PINHO *et al.*, 2019). Esses autores demonstraram que o uso de efluente de tanques de tilápia do Nilo em sistema BFT na produção aquapônica de alface (*Lactuca sativa*) favoreceu um maior crescimento e produtividade das plantas.

Em outro estudo, Pinheiro *et al.* (2017) avaliaram a cultura integrada de erva de sal (*Sarcocornia ambigua*) e camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) em um sistema aquapônico com bioflocos. Foi observado na pesquisa que a recuperação do nitrogênio fornecido ao sistema através da ração foi maior no tratamento das plantas (39,3%) do que no grupo sem erva de sal (31,4%). Os autores concluem que nesse sistema integrado é possível produzir 2 kg de plantas por cada quilograma de camarão sem prejuízo ao crescimento dos animais e, além disso, aumentando em 25% a eficiência do uso de nitrogênio.

Outro aspecto importante no sistema BFT é que os aglomerados de microrganismos podem apresentar bactérias com potencial probiótico. Cavalcante *et al.* (2017) observaram aumento da concentração de *Bacillus* spp. e redução do crescimento de *Aeromonas* spp., na água de tanques BFT de tilápia do Nilo. Ao final, a concentração de *Bacillus* spp. foi superior a 800 UFC (unidade formadora de colônias) mL⁻¹. Nesse estudo, os peixes foram submetidos

ou não a restrição de alimento artificial de 30% e usaram melaço em pó como fonte de carbono.

Gutiérrez *et al.* (2016) identificaram bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Saccharomyces* em cultivo de tilápia do Nilo em sistema BFT. Os autores utilizaram como fontes de carbono melaço e a combinação de melaço + farinha de arroz.

Por se tratar de um sistema superintensivo, o cultivo baseado em bioflocos necessita de um efetivo controle sobre a relação C:N, aeração e movimentação da água para suspensão dos flocos, bem como, remoção de partículas em excesso (HARGREAVES, 2006), para que se possa ter um melhor desenvolvimento do sistema e maior crescimento dos animais.

O sistema BFT, apesar de suas vantagens, requer atenção com algumas variáveis de qualidade de água que podem sofrer alterações pela elevada carga de matéria orgânica e atividades dos microrganismos. As bactérias heterotróficas e organismos autotróficos consomem carbono inorgânico favorecendo a redução da alcalinidade e pH da água (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006; HARGREAVES, 2013). Por isso, Martins *et al.* (2017) avaliaram o uso de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), carbonato de cálcio (CaCO_3) ou hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) na manutenção da alcalinidade e pH da água de cultivo de tilápia do Nilo em tanques BFT. O estudo indica o uso de NaHCO_3 ou Ca(OH)_2 como alcalinizantes em tanques BFT, por proporcionar maior crescimento e produtividade dos animais, além de ser necessário menor quantidade desses compostos para elevação da alcalinidade e pH da água.

A alcalinidade elevada favorece a formação de bioflocos e o estabelecimento de bactérias nitrificantes (FURTADO; POERSCH; WASIELESKY, 2015). Esses autores avaliaram níveis crescente de alcalinidade da água de tanques BFT em cultivo de camarão, resultando que em níveis menores de alcalinidade ($< 75 \text{ mg L}^{-1}$), há maiores concentrações de amônia e nitrito na água.

A concentração de sólidos na água deve ser controlada, pois afeta a estabilidade do sistema BFT e prejudica o crescimento dos animais. Em um estudo realizado por GAONA *et al.* (2017) foi observado que no sistema BFT, há constante formação de flocos e acúmulo de sólidos suspensos, levando a alterações nas variáveis de qualidade da água que podem afetar o crescimento de camarões cultivados. Este trabalho sugere a manutenção de sólidos suspensos totais na faixa de 100 a 300 mg L^{-1} para melhor rendimento do sistema BFT.

Outro fator importante para formação e manutenção adequada do sistema BFT é uma alta taxa de oxigenação, fornecida principalmente por equipamentos de aeração. Neste contexto, Lara *et al.* (2017) avaliaram os efeitos de diferentes tipos de aeração na qualidade da água, crescimento de camarões *L. vannamei* e composição de bioflocos em sistema BFT. O modelo de aerador propulsor mostrou uma concentração de amônia total acima dos níveis

recomendados, menores densidades de organismos ciliados e flagelados, motivados pela inadequada formação do bioflocos. Os resultados deste estudo sugerem que a aeração por soprador de ar beneficia a agregação das partículas e formação do bioflocos, melhorando os índices de qualidade de água e a presença de microrganismos que servem de alimento suplementar, favorecendo o crescimento dos camarões.

A viabilidade econômica do sistema BFT é um dos aspectos que dificultam o emprego da tecnologia. A alta demanda por energia para aeração da água, mão de obra qualificada, manutenção da qualidade de água e fonte de energia de emergência são fatores que elevam os custos de produção. Apesar disso, Pinto *et al.* (2020) estudaram o desempenho zootécnico, a viabilidade econômica e a qualidade nutricional do camarão branco do Pacífico cultivado em sistema de tecnologia de bioflocos utilizando água doce salinizada artificialmente e concluíram que o sistema era zootécnica e financeiramente viável. A salinidade da água foi mantida em 20, e o tratamento com a combinação de sal comercial e de baixo custo na proporção de 5:15, apresentou a melhor relação custo-benefício, o preço médio de venda foi de US\$ 3,90 kg⁻¹, acima do custo de produção (US\$ 4,54 kg⁻¹), o que corresponde a 85,9% de rentabilidade (US\$ 1 = R\$ 4,15).

3.3 Ajuste da relação C:N para desenvolvimento do bioflocos

O ajuste da relação C:N da água pode ser realizado pela adição de uma fonte externa de carbono orgânico ou incremento de alimentos que apresentem elevado teor de carbono. O uso de melão em pó e líquido, farinha de trigo, amido, glicose e dextrose são bastante estudados como fontes externas de carbono orgânico. O crescimento dos microrganismos só será efetivo quando a fonte de carbono for adicionada em níveis adequados e levando em consideração as taxas de nutrientes contidos no sistema (SCHNEIDER *et al.*, 2006). Para o crescimento de microrganismos heterotróficos, a relação C:N deve ser igual ou superior a 10 (AVNIMELECH, 1999). O uso de relações menores torna o carbono limitante para o crescimento das bactérias heterotróficas (ASADUZZAMAN *et al.*, 2009).

Xu, Morris e Samocha (2016) avaliaram diferentes relações C:N da água de cultivo do camarão *L. vannamei*. Neste estudo foi observado que em relações C:N mais baixas, entre 9:1 e 12:1, o bioflocos pode apresentar maior mistura de microalgas, bactérias heterotróficas e bactérias autotróficas, sendo mais benéfico para o crescimento do camarão do que em tanques dominados somente por bactérias heterotróficas. No final do experimento, a concentração de NAT, NO₂⁻ e fósforo (PO₄³⁻) na água e o crescimento dos camarões foram afetados

negativamente quando a relação foi ajustada para 18:1.

O ajuste da relação C:N para 10 - 15:1 em tanques de bioflocos se mostra adequado para o cultivo de juvenis de tilápia do Nilo (LIU *et al.*, 2018). Esses autores estudaram o efeito de diferentes relações C:N no crescimento e bem-estar de juvenis de tilápia do Nilo criados em sistema BFT. Os peixes mantidos em tanques com relação C:N entre 10 - 15:1 da água exibiram melhor desempenho de crescimento, atividade de enzimas digestivas, resposta imune e antioxidante, em comparação com os peixes nos tratamentos sem ajuste da relação e com relação C:N de 20:1.

Panigrahi *et al.* (2019) avaliaram o efeito da variação da relação C:N no desempenho zootécnico e parâmetros imunológicos de *L. vannamei*. Nos tanques com ajuste da relação C:N igual a 15:1, o camarão obteve maior crescimento e sobrevivência, além de melhorar a atividade imunológica e conter menor concentração de *Vibrio* na água.

Em outro estudo, Deng *et al.* (2018) concluíram que diferentes fontes de carbono orgânico (amido de tapioca, celulose vegetal e a combinação de amido de tapioca e celulose vegetal) podem diminuir a concentração de nitrogênio amoniacal e aumenta a diversidade das comunidades bacterianas.

3.4 Utilização do bioflocos como alimento

O principal objetivo do sistema BFT é ter uma melhoria da qualidade de água mesmo com troca mínima ou zero de água. Além disso, os flocos microbianos servem de alimento para peixes e camarões 24 h por dia (AVNIMELECH, 2009). Outro uso do bioflocos pode ser como ingrediente alimentar (KUHN *et al.*, 2009). O valor nutricional do bioflocos, para cada animal, pode variar dependendo da preferência alimentar, bem como da capacidade de assimilar e aproveitar proteína microbiana (HARGREAVES, 2006).

A tecnologia de bioflocos permite diminuir a quantidade de ração ofertada, ocorrendo a suplementação alimentar através dos flocos microbianos. Xu *et al.* (2012) observaram que o crescimento de juvenis de *L. vannamei* em sistema de bioflocos não foi prejudicado quando houve redução do nível de proteína na dieta para 25%. Esses autores indicam que os bioflocos podem atuar como fonte suplementar de proteína alimentar e estimulante da atividade de proteinases digestivas.

Os bioflocos secos podem ser incluídos em dietas para camarão. Anand *et al.* (2014) utilizaram bioflocos secos em dietas basais para *Penaeus monodon*. O bioflocos continham 24,30; 10,67 e 9,19% de proteína, ácido linoleico e ácido oleico, respectivamente. A inclusão

de 4 e 8% de bioflocos resultou em aumento significativo do peso corporal final, fator de conversão alimentar e taxa de eficiência proteica, em relação ao grupo em que não houve inclusão. Os autores concluem que o nível de inclusão de 4% de bioflocos como suplemento dietético aumenta o crescimento corporal e as atividades enzimáticas digestivas em juvenis de camarão-tigre-gigante.

O consumo de bioflocos pela tilápia pode favorecer uma redução do teor de proteína da dieta. Green *et al.* (2019) avaliaram o efeito de dietas com diferentes níveis de proteína digestível suplementadas com aminoácidos (lisina, metionina, treonina e isoleucina), no crescimento de juvenis de tilápia híbrida (*O. aureus* x *O. niloticus*). O consumo de bioflocos pelo híbrido de tilápia resultou na diminuição da proteína digestível de 32,3% para 27,7%, sem prejudicar o desempenho zootécnico da tilápia. No entanto, o consumo dos bioflocos não compensou a redução da proteína digestível da dieta para 22,5%, o que diminuiu significativamente o crescimento da tilápia.

Hisano *et al.* (2020) avaliaram o desempenho do crescimento de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo 28, 32 e 36% de proteína bruta (PB) em sistemas de cultivo bioflocos, e verificaram sua influência na qualidade da água e nos parâmetros hematológicos. As concentrações de nitrito e sólidos sedimentáveis apresentaram valores mais altos com 36% de PB. Os diferentes níveis proteicos das dietas não influenciaram o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos da tilápia. Com isso, é possível uma redução de 8% na proteína da dieta (28% de PB) ocasionando redução nos custos com ração e diminuição do impacto ambiental causado pelo excesso de nitrogênio e fósforo.

A levedura de cerveja representa um possível substituto da farinha de peixe em dietas para tilápia do Nilo, especialmente em sistema de bioflocos. Nhi *et al.* (2018) avaliaram a substituição de farinha de peixe por levedura de cerveja (0; 30; 60 e 100%) em dietas para tilápia do Nilo, em sistema de bioflocos e de recirculação de água. Os peixes mantidos em tanques BFT apresentaram peso final, ganho de peso, ganho de peso diário, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica significativamente maiores que o observado nos animais mantidos em sistema de recirculação. A inclusão de levedura de cerveja não afetou negativamente o desempenho zootécnico da tilápia.

Najdegerami, Bakhshi e Lakani (2016) investigaram os efeitos da substituição parcial da ração no desempenho produtivo e na atividade de enzimas digestivas de juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio* L), mantidas em tanques de bioflocos. Os autores observaram que uma restrição de 25% de dieta artificial, não afetou o crescimento dos peixes quando comparado aos animais mantidos em tanques de fluxo contínuo de água. A redução da dieta

em 25% melhorou a atividade das enzimas protease e pepsina, em comparação com os outros tratamentos (restrição de 50 e 75%).

O bioflocos pode compensar uma redução da proteína na dieta, sem prejuízo no crescimento de tilápia do Nilo. Mansour e Esteban (2017) demonstraram que o uso de subproduto de moagem de trigo, usado como fonte de carbono em sistema BFT, pode favorecer uma redução de 10% de proteína na dieta, sem prejudicar o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo. Os autores observaram melhorias na imunidade humoral (imunoglobulina, lisozima, mieloperoxidase e atividade alternativa do complemento) e celular (atividade de fagocitose e explosão respiratória) dos peixes criados em sistema BFT, quando comparado aos peixes criados em águas claras.

Peixes cultivados em sistema BFT podem apresentar exigência proteica diferente em comparação com aqueles cultivados em sistemas convencionais (DA SILVA *et al.*, 2018). Esses autores observaram que juvenis de tilápia do Nilo com peso de 10-60 g e 60-230 g em tanques de bioflocos podem ser alimentados com dietas contendo 28% de PB (26% de proteína digestível) e 22% de PB (20% de proteína digestível), respectivamente.

A redução no nível de proteína na dieta, em sistemas BFT de criação, pode não prejudicar o desempenho zootécnico e conferir maior estabilidade da qualidade de água (LI *et al.*, 2018a). Esses autores demonstraram que a carpa gibel (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) pode ser criada em tanques de bioflocos e que o nível de proteína na dieta pode ser reduzido de 340 para 240 g kg⁻¹, sem afetar a sobrevivência e o crescimento. Em tanques BFT, a elevação do nível de proteína na dieta de 240 para 290 g kg⁻¹ prejudicou a qualidade da água e a capacidade antioxidante dos peixes.

A inclusão dietética de farinha de bioflocos parece ter um efeito promotor de crescimento em camarões de *L. vannamei* (SABRY NETO; SANTAELLA; NUNES, 2015). Nesse estudo, foi comparado a biodisponibilidade de proteína bruta e lipídeo de farinhas de bioflocos geradas com um sistema de lodo ativado usando duas fontes de água: água residuária de cultivo experimental de camarão e, artificialmente, usando água do mar limpa. O teste de digestibilidade indicou que a inclusão de 30% de farinha de bioflocos favorece o crescimento do *L. vannamei*, motivado pela presença de microminerais e outros compostos.

O manejo da estratégia alimentar para cultivo de tilápia do Nilo em bioflocos pode ser ajustado. Silva *et al.* (2020) relataram que a frequência de alimentação duas vezes ao dia é suficiente para alevinos de tilápia do Nilo de 32 a 162 g cultivadas em bioflocos. Nesse estudo, também foi avaliado três taxas de alimentação (50%, 75% e 100% do consumo em relação à saciedade aparente). Apesar do melhor desempenho zootécnico dos peixes alimentados até a

saciedade, houve redução na qualidade da água e aumento na conversão alimentar.

Perez-Fuentes *et al.* (2018) indicaram que a taxa de alimentação de juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal inicial de 3 g, pode ser reduzida em até 20% em tanques de bioflocos, sem prejuízo zootécnico. Os autores relatam que o bioflocos apresenta efeito probiótico que contribui para o crescimento e sobrevivência da tilápia do Nilo.

3.5 Aminoácidos em bioflocos

A proteína consumida pelos peixes é utilizada na obtenção de aminoácidos. Após a hidrólise da proteína e, conseqüentemente, absorção dos aminoácidos livres no trato intestinal, há produção de novas proteínas em vários tecidos a partir dos aminoácidos assimilados. A necessidade dietética de proteína para os peixes é regulada, principalmente, pela exigência em aminoácidos, e grupos de aminoácidos, em quantidades balanceadas (BICUDO; CYRINO, 2009; NRC, 2011).

Os aminoácidos essenciais são definidos como aminoácidos que não são sintetizados, ou são sintetizados de forma insuficiente, de novo pelas células do organismo animal em relação as necessidades metabólicas (WU, 2013; WU, 2014). Os aminoácidos fenilalanina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, treonina, valina, triptofano, arginina e histidina são classificados como aminoácidos nutricionalmente essenciais para os peixes (NRC, 2011). Por isso, a inclusão dos aminoácidos essenciais em dietas proteicas, ou suplementados de outras formas, faz-se necessário para manutenção das funções vitais e crescimento.

A metionina é um aminoácido essencial que contém enxofre e que atua na regulação do metabolismo dos aminoácidos sulfurados dos peixes, além de geralmente ser o primeiro aminoácido limitante em dietas à base de proteínas vegetais (GATLIN *et al.*, 2007; FURUYA *et al.*, 2004). A metionina é importante na síntese de proteínas e também como doador de metila e fonte de enxofre, sendo necessária para a biossíntese de cisteína e taurina (MICHELATO; FURUYA; GATLIN, 2018). A metionina apresenta importância no controle do estado oxidativo (ELMADA *et al.*, 2016; SÉITÉ *et al.*, 2018). O fornecimento adequado de metionina proporciona melhorias no crescimento e no bem-estar dos peixes (POPPI; MOORE; GLENCROSS, 2017; GAO *et al.*, 2019).

A biomassa de bioflocos pode representar uma fonte importante de nutrientes para peixes e camarões (EBELING *et al.*, 2006). Segundo Crab *et al.* (2010), os bioflocos apresentam teores de proteína, lipídios, carboidratos e cinzas adequados para utilização como ração para aquicultura. Entretanto, mais pesquisas são necessárias sobre a composição de

aminoácidos e ácidos graxos presentes em bioflocos (CRAB *et al.*, 2012).

Ballester *et al.* (2010) relataram que a matéria seca de bioflocos continha 30,4% de proteína bruta, 4,7% de lipídio bruto, 8,3% de fibra, 39,2% de cinza e 29,1% de extrato de nitrogênio livre. Esses autores utilizaram farelo de arroz e melaço como fonte de carbono em cultivo de *Farfantepenaeus paulensis*, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta.

O tamanho dos flocos bacteriano pode afetar a qualidade nutricional e a retenção de nitrogênio do bioflocos. Ekasari *et al.* (2014) avaliaram o efeito do tamanho do bioflocos na composição nutricional dos flocos e retenção de nitrogênio pelo camarão branco (*L. vannamei*), tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*) e mexilhão (*Perna viridis*). Os flocos maiores que 100 µm apresentaram os maiores níveis de proteína (27,8%) e lipídios (7,5%), enquanto o que os flocos de tamanho 48-100 µm, os menores. O estudo mostrou que, em termos gerais, os bioflocos apresentam valina, lisina, leucina, fenilalanina e treonina em boas concentrações, mas se mostra deficiente em metionina e cisteína. O consumo de bioflocos com tamanho < 48 µm favoreceu uma maior recuperação de nitrogênio do bioflocos por todos os animais testados, indicando que esse tamanho de floco foi o mais digestível, sendo o mais bem utilizado.

A composição dos bioflocos pode ser afetada pela fonte de carbono utilizada, como demonstraram Wei, Liao e Wang (2016) ao utilizarem diferentes fontes de carbono, em sistema BFT. Os autores detectaram uma maior concentração de cianobactérias em tanques onde o amido foi utilizado como fonte de carbono e uma menor diversidade microbiana em relação aos tanques com glicose e glicerol. O teor de proteína foi maior no grupo que recebeu glicose e o amido favoreceu um maior conteúdo de lipídios no bioflocos. Em geral, os bioflocos são ricos em treonina, arginina, tirosina, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina, mas deficientes em metionina e histidina.

Bauer *et al.* (2012) avaliaram a substituição completa de farinha de peixe por pasta de soja e farinha de bioflocos em dietas para *L. vannamei*. A substituição não afetou o crescimento, fator de conversão alimentar (FCA) e a sobrevivência do camarão. Entretanto, foi observado uma deficiência em aminoácidos essenciais (lisina, histidina, treonina, fenilalanina e metionina).

Valle *et al.* (2014) demonstraram que hidrolisado proteico de peixe e farinha de bioflocos são ingredientes potenciais que podem ser usados para substituir a farinha de peixe em dietas para pós-larvas de *L. vannamei*. Os resultados deste estudo indicaram que o nível ótimo de substituição de farinha de peixe com hidrolisado de proteína de peixe e bioflocos, para obtenção de ótimos índices de desempenho zootécnico, está entre 15,1 e 16,5%. Os autores

recomendaram que a dieta deve ser suplementada com metionina para corrigir a deficiência deste aminoácido na farinha de bioflocos.

Ju *et al.* (2008) estudaram a inclusão de bioflocos secos em dietas para *L. vannamei* e constataram que o índice de aminoácidos essenciais foi de aproximadamente 0,93, sendo considerado como uma boa fonte de aminoácidos. Foi observado nesta pesquisa que a histidina e a taurina se apresentavam em maiores concentrações.

Li *et al.* (2018b) também descobriram que a adição de diferentes fontes de carbono à água, em sistemas BFT no cultivo de tilápia do Nilo, teve um impacto significativo na concentração de proteica dos bioflocos. Nesse estudo, três compostos biodegradáveis em fase sólida, incluindo Longan em pó (LP), e misturas de polihidroxibutirato-hidroxivalerato/LP (PHBVL) e Poli (butileno succinato)/LP (PBSL) foram utilizadas como fonte de carbono para ajuste da relação C:N. Em todos os tratamentos, os autores encontraram valores de índice de aminoácidos essenciais nos bioflocos superiores a 0,9, sendo considerado como uma boa fonte de aminoácidos que poderia atender às exigências dos animais aquáticos. No geral, foi observado ainda que os bioflocos, produzidos com as diferentes fontes de carbono, foram relativamente inadequados em metionina e lisina, e apresentavam um excesso de histidina, treonina, fenilalanina e valina.

Castro *et al.* (2021) investigaram o valor nutricional e a contribuição do bioflocos para o crescimento de *L. vannamei* alimentado com dietas restritas a ácidos graxos essenciais (0; 1 e 2% de óleo de peixe) e aminoácidos (0; 4; 8; 12% de farinha de peixe). O desempenho de crescimento dos camarões foi afetado pela restrição de farinha de peixe e óleo de peixe na dieta. Os autores relatam que as dietas sem farinha de peixe e óleo de peixe eram deficientes em metionina, e os níveis limitantes resultaram em desempenho de crescimento de camarão abaixo do ideal, apesar da presença de bioflocos. Apesar do teor de lipídios dietéticos nas dietas apresentarem $\approx 7,4\%$, a redução da inclusão de farinha e óleo de peixe afetam os níveis de ácidos graxos na dieta, diminuindo o crescimento do camarão. Os autores concluem que o bioflocos atua como uma fonte suplementar de alimento limitada em nutrientes essenciais para o crescimento do camarão.

3.6 Lipídios em bioflocos

Os lipídios são componentes estruturais das membranas celulares, fonte de energia e ácidos graxos essenciais, fosfolipídios, esteróis e carotenoides, utilizados pelo organismo para promover o crescimento, a saúde e a reprodução dos peixes e camarões (LALL; TIBBETTS,

2009; NRC, 2011; GONZÁLEZ-FÉLIX; MALDONADO-OTHÓN; PEREZ-VELAZQUEZ, 2016). Os lipídios são precursores de hormônios, vitamina D e moléculas bioativas, além de auxiliarem na absorção e transportar vitaminas lipossolúveis (TURCHINI; TORSTENSEN; NG, 2009; WALL *et al.*, 2010).

A qualidade nutricional do bioflocos pode variar por diversos fatores que alteram a comunidade microbiana (EBELING *et al.*, 2006). Segundo os autores, variáveis físico-químicas da água como pH, alcalinidade, temperatura, oxigênio, amônia e salinidade, desempenham um papel dominante no crescimento e na comunidade bacteriana heterotrófica.

Segundo Xu e Pan (2012), os bioflocos podem influenciar a composição corporal do camarão cultivado em sistema BFT. Os autores observaram aumento do conteúdo lipídico nos camarões mantidos em sistema BFT, com relações C:N de 15 e 20:1. Os autores indicam que os resultados obtidos sugerem que os bioflocos podem melhorar o desempenho de crescimento e a utilização da ração pelo camarão, provavelmente fornecendo uma fonte de alimento suplementar e melhorando a digestão e utilização da ração.

Izquierdo *et al.* (2006) observaram que o conteúdo lipídico do corpo do camarão *L. vannamei*, mantido em sistemas de mesocosmo com bioflocos, apresentaram uma tendência crescente, em relação ao obtido no sistemas de águas claras. Esse achado pode ser atribuído à efetiva assimilação de vários ácidos graxos como 16:1 (n-7) e 17:1 dos bioflocos pelos camarões.

Azim e Little (2008) relataram que a qualidade do bioflocos independe do nível proteico da ração. Esses autores avaliaram dietas com dois níveis proteicos (35 e 24% de proteína bruta) na alimentação de tilápia do Nilo, em sistema BFT. Neste estudo, a composição do bioflocos, em termos nutricionais, apresentou 38% de proteína, 3% de lipídios, 6% de fibras, 12% de cinzas e 19 kJ g⁻¹ de energia, sendo adequada para tilápias, exceto pelos níveis baixos de lipídios brutos. Além disso, foi avaliado níveis de ácidos graxos essenciais do bioflocos, os quais continham 27–28% de polinsaturados, 28–29% de monoinsaturados, 30–35% de ácidos graxos saturados.

Luo *et al.* (2014) encontraram baixos teores de lipídios (1,27%) em flocos microbianos. Entretanto, não foi observado diferença significativa no conteúdo de lipídio bruto no músculo do dorso da tilápia do Nilo, cultivadas em tanques de recirculação de água e de bioflocos.

Toledo *et al.* (2016) estudaram a inclusão de níveis lipídicos (85; 95 e 105 g kg⁻¹), em dietas isoproteicas, no cultivo de *L. vannamei* mantidas em tanques de bioflocos. Menores níveis de lipídios na dieta favoreceram um aumento significativo na sobrevivência dos

camarões. Os autores encontraram uma correlação positiva ($r = 0,75$) entre o ácido oleico da dieta e os bioflocos. Os bioflocos se mostraram como uma boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, especialmente em relação aos ácidos araquidônicos.

O consumo de bioflocos pelos reprodutores de camarão azul do Pacífico (*Litopenaeus stylirostris*) melhorou o sucesso reprodutivo dessa espécie de camarão (CARDONA *et al.*, 2016). Neste estudo, os reprodutores de camarões cultivados em tanques BFT exibiram um estado de saúde mais elevado, maior taxa de sobrevivência e maior taxa e frequência de desova, bem como maior índice gonadossomático e número de ovos por desova, superior ao observado nos camarões mantidos em tanques de águas claras. Os autores afirmaram que o melhor desempenho reprodutivo foi motivado pelo fato do bioflocos representarem uma fonte potencial de glutathione na dieta e uma fonte significativa de lipídios, particularmente fosfolipídios e ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) de cadeia longa (n-3) para os camarões. Os ovos de camarões mantidos em tanques BFT apresentaram níveis de ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) de 2,5; 2,8 e 3 vezes maiores, respectivamente, em comparação ao tratamento com água clara.

Martins *et al.* (2016) avaliaram a contribuição de três espécies de diatomáceas no conteúdo lipídico de bioflocos, sua permanência sobre os bioflocos e influência no desempenho zootécnico de juvenis de camarão. A inoculação de *Amphora coffeaeformis* em tanques BFT aumentou significativamente a sobrevivência dos camarões e elevou o conteúdo lipídico do bioflocos, especialmente do ácido graxo essencial EPA. As espécies de diatomáceas adicionadas ao sistema de cultura foram mantidas com sucesso por todo período experimental.

Os bioflocos podem fornecer proteínas de alta qualidade e ácidos graxos essenciais *in situ* para compensar a substituição parcial da farinha de peixe (MORENO-ARIAS *et al.*, 2018). Neste estudo, os autores avaliaram o efeito da substituição de farinha de peixe no perfil de aminoácidos e ácidos graxos de dietas, bioflocos e camarões cultivados em baixa salinidade da água (5‰). A razão de aminoácidos essenciais (A/E) indicou que o bioflocos apresentavam deficiência em arginina e lisina. Considerando as razões A/E, a treonina e a metionina foram limitantes em todas as fontes de alimentação que foram avaliadas. As concentrações de ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos saturados, nos bioflocos, foram significativamente maiores do que em dietas normais.

Dantas *et al.* (2016) avaliaram a substituição da farinha de peixe (FP) por farinha de bioflocos (FB) em dietas de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*. Neste estudo, concluiu-se que um nível de substituição de FP por FB superior a 20% pode melhorar o crescimento do camarão. Entretanto, a farinha de bioflocos pode apresentar deficiência em ácido araquidônico

(ARA, 20:4 n - 6) que é um ácido graxo essencial para camarões e que atua na coagulação e tolerância ao estresse.

A concentração de ácidos graxos em bioflocos e camarões são afetadas pelo manejo do sistema de cultura (RAY; LEFFLER; BROWDY, 2019). Neste estudo foram avaliados o efeito da presença e ausência de farinha de peixe em dietas e manejo de sólidos no cultivo do *L. vannamei*. Os autores observaram que os animais alimentados com dietas sem farinha de peixe e sem manejo de sólidos apresentavam deficiência dos ácidos graxos EPA e DHA.

Diferentes fontes de carbono utilizadas em sistema BFT podem afetar o teor de lipídios na carpa e nos bioflocos. Bakhshi *et al.* (2018) estudaram o efeito de diferentes fontes de carbono em sistema de bioflocos no cultivo de carpa comum (*Cyprinus carpio* L.). O uso de amido de milho favoreceu um aumento no teor de lipídios no corpo dos peixes e nos flocos microbianos. Os maiores níveis de ácidos graxos saturados e monoinsaturados totais nos flocos microbianos foram observados nos grupos que receberam melão de beterraba e amido de milho, respectivamente. O uso de melão de beterraba favoreceu aumento significativo dos ácidos graxos n-3 e n-6 totais, ácido linolênico (C18:3 n-3) e ácido linoleico (C18:2 n-6), nos flocos microbianos, mais do que nos outros grupos.

3.7 Alimentação de tilápia do Nilo

A tilápia do Nilo reúne várias características de interesse para cultivo de peixes. Essa espécie tem uma alta taxa de crescimento, é resistente a manejos de cultivo e se reproduz facilmente em cativeiro. A prática da larvicultura da espécie já está consolidada. Além disso, estão adaptadas a diversos sistemas de criação, suportam altas densidades de estocagem, variações nas condições físico-químicas do ambiente e são resistentes a enfermidades.

O aspecto alimentar é outra característica que torna a tilápia do Nilo uma espécie de fácil cultivo, sendo capazes de consumir ração artificial desde a primeira alimentação (BOONANUNTANASARN *et al.*, 2018). Com hábito alimentar onívoro, a tilápia do Nilo aproveita satisfatoriamente uma ampla variedade de alimentos (MARENGONI, 2006). Desta forma, aceitam dietas que apresentem proteína animal e vegetal.

A determinação dos requerimentos nutricionais da tilápia do Nilo é fator importante para o desenvolvimento de dietas formuladas que supram adequadamente os nutrientes essenciais e sejam economicamente viáveis. As proteínas e lipídios são nutrientes fundamentais para promover o crescimento dos peixes.

A determinação da proteína dietética necessária para um desempenho ideal também

é uma etapa crítica no desenvolvimento de formulações de ração aquática eficientes, sustentáveis e econômicas (EL SAYED, 2019). Alguns fatores, como o peso corporal dos peixes, hábito alimentar e a fonte proteica, influenciam diretamente na exigência dietética de proteína. Alguns estudos avaliaram o nível ideal de proteína bruta na dieta para tilápia. Furuya *et al* (2000) demonstraram que 32% de proteína bruta na dieta para tilápia do Nilo de 0,43g foi ideal em termos econômicos e de desempenho de crescimento, em relação aos demais níveis (24; 26; 28; 30; 34 e 36%). Al Hafedh (1999) usou farinha de peixe como fonte de PB e indicou que larvas de tilápia de 0,51 g apresentam requerimento de 40%PB. O manejo alimentar influencia diretamente no crescimento da tilápia. Para tanto, Liu, Wen e Luo (2018) avaliaram os efeitos dos níveis de proteína dietética (PDI) (25 e 35%) e taxas de alimentação (TA) (3, 5 e 7%) no crescimento de juvenis de tilápia do Nilo (peso inicial de $15,87 \pm 0,11$ g). O crescimento dos peixes e o fator de condição aumentaram com os níveis de PDI e TA. À medida que as TA aumentaram, o conteúdo lipídico do hepatopâncreas, vísceras, músculos e corpo eviscerado se elevou, enquanto o conteúdo de umidade do hepatopâncreas e vísceras diminuiu. Os autores sugerem que a estratégia alimentar ideal para juvenis de tilápia é uma dieta com 35% de proteína a 5% do peso corporal.dia⁻¹.

O sistema de cultivo influencia a necessidade por proteína e energia da dieta pela tilápia do Nilo quando mantidas em tanques BFT. Nesse sentido, Durigon *et al* (2020) investigaram dietas com três níveis de proteína digestível (PD) (22, 26 e 30%) e três níveis de energia digestível (3000, 3150 e 3300 kcal ED kg⁻¹) sobre o desempenho de crescimento de juvenis de tilápia do Nilo ($1,25 \pm 0,15$ g) criados em condições de BFT e salinidade 10. Os peixes alimentados com ração contendo 26% e 30% de PD proporcionaram maior peso final, taxa de crescimento específico e fator de condição em relação aos alimentados com 22% de PD ($p < 0,05$). A proteína corporal na carcaça da tilápia aumentou proporcionalmente de acordo com a proteína da dieta. O maior nível de energia da dieta promoveu maior deposição de lipídios corporais. Os resultados indicaram que dietas contendo 26% de PD e 3150 kcal ED kg⁻¹ melhoraram o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo e possibilitaram economia em proteína dietética, em tanques BFT com água salobra.

A tilápia do Nilo não apresenta uma exigência verdadeira em proteínas, e sim, exigências em aminoácidos corretamente balanceados. Furuya (2010) destaca a estimativa das exigências de proteína e aminoácidos (%) para tilápias pós reversão até 100 g: Proteína bruta - 29,73%; Proteína digestível - 26,81%; Lisina - 1,53%; Metionina - 0,52%; Treonina - 1,18%; Arginina - 1,26%; Fenilalanina + tirosina - 1,65%; Histidina - 0,52%; Isoleucina - 0,93%; Leucina - 1,01%; Triptofano - 0,30%; Valina - 0,83%.

Quando se faz uso de proteína vegetal na dieta, é importante destacar que a metionina é limitante, necessitando a suplementação desse aminoácido essencial (FURUYA, 2010; NRC, 2011). Furuya *et al.* (2004), determinou que dieta contendo 1,00% de metionina + cistina, correspondente a 3,54% da proteína bruta, contendo 0,54% de metionina na ração, favorece um maior crescimento de juvenis da tilápia do Nilo.

Os lipídios são uma importante fonte de energia, e sua presença na dieta pode causar um efeito poupador da proteína, melhorando o crescimento do peixe. De modo geral, a tilápia requer cerca de 10-15% de lipídios na dieta para desempenho máximo de crescimento (EL SAYED, 2019). Os lipídios fornecem ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) como ácido linoleico (LA, 18:2 n-6), alfa-linolênico (ALN, 18:3 n-3), e ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) como eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3 e docosaexaenoico (DHA, 22:6 n-3). Os peixes de água doce não sintetizam os ácidos graxos LA e/ou ALN, requerendo seu fornecimento pela dieta (TEITELBAUM; WALKER, 2001). De modo diferente, os peixes marinhos requerem fontes de EPA e DHA (FRANCIS *et al.* 2006). A tilápia do Nilo apresenta exigências de ácido graxo PUFAs n-6, de 0,5 a 1% de ácido linoleico (TAKEUCHI *et al.*, 1983; NRC, 2011). Li *et al.* (2013) observaram que a inclusão de 1,14% de ácido graxo linoleico da dieta melhora o crescimento da tilápia híbrida, *O. niloticus* x *O. aureus*.

Os óleos vegetais são boas fontes de ácido linoleico para tilápia. O óleo de soja apresenta 52,6% de ácido linoleico em sua composição (ROSTAGNO *et al.*, 2011), e a digestibilidade do óleo é de 89,85% para tilápia do Nilo (BOSCOLO; HAYASHI; MEURER, 2002). Godoy *et al.* (2019) avaliou diferentes níveis de inclusão de óleo de soja (0,0; 15,0; 30,0; 45,0 e 60,0 g kg⁻¹) em dietas isonitrogenadas (30%) para tilápia do Nilo (425,33 ± 32,37 g). Os autores constataram efeitos quadráticos (P < 0,05) para as variáveis: peso diário, ganho de peso, peso final, rendimento de carcaça, gordura visceral e índice hepatossomático. Concluiu-se que a adição de cerca de 45,0 g kg⁻¹ de óleo de soja ao finalizador da dieta de tilápia do Nilo proporciona melhor desempenho de crescimento. Para ser ter um aproveitamento adequado de óleos vegetais em dietas de peixes deve-se manter relação adequada entre os ácidos graxos n-6/n-3 (MARTINO *et al.*, 2005). EL-HUSSEINY *et al.* (2010) indicam que a relação LA/ALN inferior a 13 é recomendada para a nutrição de tilápia do Nilo com peso inicial de 0,85 g.

4 SUPLEMENTAÇÃO DA RAÇÃO BALANCEADA COM DL-METIONINA E SEUS EFEITOS SOBRE A QUALIDADE DA ÁGUA, COMPOSIÇÃO DOS BIOFLOCOS E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM TANQUES BFT DE CULTIVO

4.1 INTRODUÇÃO

A tecnologia de bioflocos (BFT) aplicada à aquicultura tem por objetivo controlar a qualidade da água pela promoção do crescimento de bactérias heterotróficas, através do balanceamento adequado da relação C:N da água, em tanques com troca zero ou mínima de água (AZIM; LITTLE, 2008; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; AVNIMELECH, 2009). Agregados em suspensão na água, chamados de bioflocos, irão se formar no tanque de cultivo, sendo constituídos por diferentes microrganismos, fezes de animais e outras partículas orgânicas. Os bioflocos absorvem amônia da água, transformando-a em proteína microbiana.

Além da melhoria na qualidade de água, os bioflocos servem ainda como uma fonte suplementar de alimento para os peixes e camarões cultivados (WASIELESKY *et al.*, 2006; De SCHRYVER *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2018). O emprego da tecnologia BFT na aquicultura permite o aumento na densidade de estocagem e na produtividade de pescado (sistema superintensivo). Como o sistema BFT é fechado, existe menor risco de introdução de patógenos nos tanques. Ademais, os bioflocos podem atuar como probióticos, prevenindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas e melhorando a atividade das enzimas digestivas dos peixes e camarões (LONG *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2018). Outro aspecto importante é a redução significativa no lançamento de efluentes no meio ambiente, já que o sistema BFT reusa a água inúmeras vezes (EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2013).

A disponibilidade de bioflocos nos tanques de cultivo pode reduzir as despesas com rações balanceadas, seja pela ingestão direta dos flocos pelos animais, seja pela utilização da biomassa seca de bioflocos como ingrediente alimentar (KUHN *et al.*, 2009). Os bioflocos permitem a diminuição da concentração de proteína das dietas artificiais para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e para o camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) (AZIM; LITTLE, 2008; XU *et al.*, 2012; DA SILVA *et al.*, 2018; GREEN *et al.*, 2019), e a redução da quantidade de ração a ser fornecida (XU *et al.*, 2012; NAJDEGERAMI, BAKHSHI e LAKANI, 2016). A biomassa microbiana dos bioflocos contém proteínas, lipídios, aminoácidos e ácidos graxos (EMERENCIANO *et al.*, 2011) que diminuem a necessidade do uso de dietas artificiais nutricionalmente completas.

A tilápia do Nilo é a terceira espécie de peixe de água doce mais produzida no mundo (FAO, 2020). A espécie se adapta a diversos sistemas de cultivo como o BFT, com elevada densidade de estocagem (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2016). Além disso, possui hábito alimentar onívoro, de amplo espectro, permitindo consumir flocos microbianos (AZIM; LITTLE, 2008; CRAB *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2014).

Existe, entretanto, grande variabilidade na composição centesimal dos bioflocos produzidos em tanques de aquicultura. Tal variabilidade afeta, sem dúvida, o valor nutricional dos bioflocos como fonte alimentar para peixes e camarões cultivados.

A composição nutricional do bioflocos pode variar em função de alguns fatores, tais como a fonte de carbono orgânico utilizada para ajuste da relação C:N da água; as concentrações de O₂ dissolvido na água; a temperatura e o pH da água (De SCHRYVER *et al.*, 2008; WEI; LIAO; WANG, 2016). Ballester *et al.* (2010) observaram que bioflocos em tanques de camarão-rosa, *Farfantepenaeus paulensis* continham 30,4% de proteína bruta; 4,7% de lipídios totais; 8,3% de fibra bruta; 39,2% de cinzas e 29,1% de extrativos não nitrogenados (base seca). Já Durigon *et al.* (2019) obtiveram, em tanques BFT de tilápia, concentrações proteicas e lipídicas bem inferiores, iguais a 17,4% e 1,2%, respectivamente. Rajkumar *et al.* (2016) encontraram surpreendentes 53,6% de proteína, mas apenas 0,92% de lipídios na biomassa seca de bioflocos. Esses últimos autores trabalharam em tanques BFT de *L. vannamei*, tendo utilizado o farelo de trigo como fonte de carbono orgânico suplementar.

Embora a biomassa de bioflocos possa representar uma fonte importante de proteína para os animais cultivados, os bioflocos podem ser deficientes em certos aminoácidos essenciais. Alguns estudos mostraram que os bioflocos de tanques de aquicultura são, geralmente, deficientes em metionina (BAUER *et al.*, 2012; EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016; LI *et al.*, 2018). Dietas deficientes em metionina causam retardo no crescimento animal, principalmente aquelas à base de proteína vegetal. O presente trabalho teve por objetivo determinar os efeitos da suplementação da ração balanceada com DL-metionina sobre a qualidade da água, composição dos bioflocos e desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, submetidos à restrição alimentar, em tanques BFT de cultivo.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Sistema de cultivo e população experimental

Juvenis masculinizados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso corporal de $2,00 \pm 0,07$ g, foram obtidos junto a fazenda São Pedro Aquicultura Ltda (Itaitinga, Ceará) e transportados até as instalações do laboratório (Laboratório de Ciência e Tecnologia Aquícola - LCTA, Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará). Ao chegarem ao laboratório, os peixes foram aclimatados e estocados em um tanque circular de polietileno de 1000 L, mantido sob aeração constante por cinco dias. Foi realizado tratamento profilático nos peixes, com a aplicação de permanganato de potássio na água, na concentração de 4 mg L^{-1} . Quarenta e oito horas após, uma solução de tiosulfato de sódio, na concentração de 4 mg L^{-1} , foi aplicada à água do tanque para neutralização do permanganato de potássio residual.

Após à aclimação, os animais foram alocados em tanques experimentais abrigados, em sala *indoor*. O sistema experimental foi constituído por 30 tanques circulares de polietileno de 100 L, que foram abastecidos com 70 L de água doce e 30 L de água rica em bioflocos, proveniente de um tanque de maturação. A água doce utilizada no preenchimento dos tanques foi oriunda da companhia de abastecimento municipal, sendo submetida previamente à aeração mecânica para remoção do cloro residual.

4.2.2 Maturação do bioflocos

O trabalho de maturação dos bioflocos teve duração de 21 dias, sendo realizado em um tanque de polietileno de 1000 L. O tanque de maturação foi estocado com 30 juvenis de tilápia do Nilo, com peso médio de $31,6 \pm 3,4$ g, os quais foram alimentados com ração comercial em pó para peixes tropicais onívoros (40% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará). A frequência alimentar foi de quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, com taxa de arraçoamento de 7,5% da biomassa total ao dia. O ajuste da relação C:N da água para 15:1 foi realizado pela aplicação de melão em pó a água, seguindo-se as recomendações de Avnimelech (1999). Ao final, volumes de 30 L de água rica em bioflocos, provenientes do tanque de maturação, foram transferidos para cada uma das unidades experimentais.

4.2.3 Sistema de aeração e agitação da água

A aeração mecânica dos tanques de cultivo foi realizada pelo trabalho de um compressor radial (soprador de ar), com potência nominal de 2,5 CV. Os tanques de

aclimatação, maturação de bioflocos e experimentais foram aerados de forma contínua, ao longo de todo o período de realização do trabalho.

Em cada unidade de cultivo experimental, a entrada de ar foi regulada por registros individuais de fluxo para manter o mesmo nível de oxigênio dissolvido. Cada tanque possuía uma mangueira microporosa de 15 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro, disposta de forma retilínea, no centro do tanque. A aeração mecânica da água tinha por objetivo oxigenar a água e manter os sólidos suspensos na coluna d'água. Não se fez troca de água dos tanques experimentais, apenas reposição da água evaporada para manutenção do nível inicial.

4.2.4 Delineamento experimental

Os tanques experimentais foram estocados com 18 juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal médio de $2,76 \pm 0,06$ g, na densidade de estocagem de $49,6 \pm 1,0$ g de peixe/100 L (≈ 500 g peixe/m³). O delineamento experimental foi constituído por dois grupos controle (T1 e T2) e quatro tratamentos experimentais (T3, T4, T5 e T6), cada um com cinco repetições, totalizando 30 tanques experimentais. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (Tabela 1). Os peixes foram alimentados de acordo com as taxas apresentadas na Tabela 2. As taxas de arraçoamento regulares foram reduzidas em 25%, nos tratamentos T2, T3, T4, T5 e T6. A dieta dos peixes dos tratamentos T3, T4 e T5 foi suplementada, diariamente, com 0,5%, 1,0% e 2,0% de DL-metionina 99% (MetAMINO®, Evonik Animal Nutrition Ltda.), respectivamente, tendo por base a quantidade de ração fornecida no dia. A incorporação da DL-metionina à ração se deu pela mistura manual do aminoácido sintético com a ração em pó. A quantidade de DL-metionina adicionada ao tratamento T6 foi igual a média da quantidade do tratamento T4, com a diferença que o aminoácido foi misturado ao melão em pó e não à ração.

Tabela 1 – Delineamento experimental

Tratamento	Restrição alimentar	Adição de metionina	Modo de incorporação de metionina à ração
1	0%	-	-
2	25%	-	-
3	25%	0,5%	Mistura c/ração
4	25%	1,0%	Mistura c/ração
5	25%	2,0%	Mistura c/ração
6	25%	*	Mistura c/melão

*Média da quantidade de metionina adicionada no tratamento T4 ($\approx 1,0\%$).

Semanalmente, realizava-se as misturas das quantidades apropriadas da ração e do melaço com a DL-metionina. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia, as 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, utilizando-se uma ração comercial, em pó, para peixes tropicais (40% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará). Após as biometrias quinzenais, ajustava-se as quantidades de ração fornecidas aos animais, de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 - Tabela alimentar

Peso do juvenil (g)	Taxa de arraçoamento (% biomassa/dia)
2,5 - 3,0	9,8
3,0 - 3,5	9,0
3,5 - 4,5	8,3
4,5 - 5,5	7,5
5,5 - 7,0	6,8
7,0 - 9,0	6,0
9,0 - 16,0	5,6
16,0 - 20,0	5,3
20,0 - 25,0	4,5
25,0 - 30,0	3,8
30,0 - 35,0	3,8
35,0 - 40,0	3,8

Os animais foram alimentados diariamente, com exceção dos dias em que a biometria era realizada. O experimento teve duração de oito semanas. Uma amostra da ração utilizada foi enviada ao Laboratório de Nutrição Animal (Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará), para determinação da proteína bruta (PB).

4.2.5 Manejo da relação C:N da água

Diariamente, foi adicionado melaço em pó (Indumel, Biosev, Sertãozinho, SP) à água dos tanques experimentais, para ajuste da relação C:N da água para 15:1. A quantidade de melaço aplicada em cada unidade experimental foi obtida com a utilização da fórmula apresentada por Avnimelech (1999), em função da quantidade de ração fornecida diariamente aos animais.

4.2.6 Manejo de sólidos e da água

Quando a quantidade de sólidos sedimentáveis era superior a 30 mL L⁻¹, foram

realizadas remoções dos sólidos, duas vezes por semana, pela sedimentação de 20% do volume da caixa em um recipiente por 30 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi devolvido ao tanque de cultivo e o sedimentado foi coletado, seco em estufa a 105°C por 24h, e descartado como resíduo orgânico.

Para manutenção da alcalinidade total e pH da água dos tanques de cultivo em valores iguais ou superiores a 100 mg L⁻¹ CaCO₃ eq. e 7,0, respectivamente, foi aplicado bicarbonato de sódio na água.

4.2.7 Monitoramento da qualidade da água de cultivo

As determinações de qualidade de água foram realizadas da seguinte forma:

- pH (medidor de pH mPA210 - MS Tecnopeon®), temperatura, condutividade elétrica (condutivímetro CD-850) e oxigênio dissolvido (oxímetro 55 - YSI), diariamente, às 9 h;
- Alcalinidade total (titulação com solução-padrão de H₂SO₄), nitrogênio amoniacal total (NAT; método do indofenol), nitrito (método da sulfanilamida) e nitrato (método da coluna redutora de Cádmio), semanalmente;
- Dióxido de carbono livre (CO₂ livre; titulação com solução-padrão de Na₂CO₃), dureza total (titulação com solução-padrão de EDTA), fósforo reativo (método do azul de molibdênio) e matéria orgânica (método do oxigênio consumido), quinzenalmente.

A concentração de NH₃ foi calculada com a utilização dos valores de NAT, pH e temperatura da água (fórmula de Emerson; EL-SHAFI *et al.*, 2004). As determinações de qualidade de água foram realizadas de acordo com metodologias descritas por Sá (2015). As concentrações de sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis foram determinadas semanalmente, seguindo-se as recomendações de Boyd e Tucker (1992).

4.2.8 Monitoramento do desempenho zootécnico

Após a biometria inicial dos animais, biometrias quinzenais foram realizadas para elaboração da curva de crescimento corporal, assim como ajuste das taxas de arraçamento. As seguintes variáveis de desempenho zootécnico foram analisadas (BUSACKER *et al.*, 1990; CAVALCANTE *et al.*, 2017):

- Sobrevivência (%);
- Peso corporal final (g);
- Ganho em peso semanal (g);
- Taxa de crescimento específico (TCE, % dia⁻¹ = [ln (peso final) - ln (peso inicial)]/dias de cultivo) x 100);
- Produtividade de pescado (g m⁻³ dia⁻¹);
- Fator de conversão alimentar (FCA = ração ofertada/ganho em peso corporal);
- Taxa de eficiência proteica (TEP = ganho em peso/proteína ofertada).

4.2.9 Composição centesimal dos bioflocos

A composição centesimal dos bioflocos foi determinada no Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEP), pertencente ao Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará), seguindo-se as recomendações apresentadas pela AOAC (2000). As seguintes variáveis químico-bromatológicas foram determinadas:

- Umidade (secagem a 105°C por 24 h);
- Proteína bruta (método Kjeldahl),
- Extrato etéreo (método Soxhlet),
- Cinzas (incineração em forno mufla, a 550 °C por 4 h).

A coleta do bioflocos para determinação da composição centesimal foi realizada um dia após a biometria final.

As coletas da biomassa de bioflocos para análise foram realizadas da seguinte forma:

1. Volumes de 1,5 L de água, provenientes de cada repetição de um mesmo tratamento experimental, foram coletados e transferidos para um tanque em comum;
2. A água coletada foi transferida para cones *Imhoff*, deixando-se descansar por 30 min, para sedimentação dos bioflocos;
3. Descartou-se o sobrenadante, sendo a biomassa de bioflocos filtrada a 40µm;
4. A biomassa retida na malha foi distribuída, de forma homogênea, em placas de Petri de vidro;

5. As placas de Petri, contendo a biomassa de bioflocos, foram colocadas em estufa para secagem, a 105°C, por 12 h.

As amostras secas foram, posteriormente, maceradas para determinação dos teores de extrato etéreo e proteína bruta.

4.2.10 Análise estatística

Os resultados de qualidade de água, desempenho produtivo e composição químico-bromatológicas foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) unifatorial para experimentos inteiramente casualizados. Quando havia diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, as médias foram comparadas duas a duas pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5%. As pressuposições de distribuição normal (teste Shapiro-Wilk) e de homogeneidade (teste Levene) de variância foram checadas antes da aplicação da ANOVA. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

Aplicou-se análise de regressão polinomial sobre os resultados de sobrevivência, ganho em peso semanal, TCE, produtividade de pescado, FCA e TEP, tendo o nível de suplementação de DL-metionina como variável independente no modelo matemático. A suplementação ótima de DL-metionina foi estimada, para cada uma das variáveis de desempenho zootécnico, através da expressão $x = -b/2a$, aonde a e b são os coeficientes da equação de 2ª grau (SHEARER, 2000).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Qualidade de água

Ao final do cultivo, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para oxigênio dissolvido, pH e temperatura da água ($p > 0,05$; Tabela 3). Os valores médios, bem como de mínimo e máximo, para essas variáveis foram os seguintes: $5,69 \pm 0,04$ mg L⁻¹ (5,64; 5,74); $7,37 \pm 0,05$ (7,28; 7,42); $26,2 \pm 0,1$ °C (26,1; 26,2), respectivamente.

Tabela 3 – Oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e temperatura da água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	pH	Condutividade elétrica (μS cm ⁻¹)	Temperatura (°C)
0	0,0	5,65 \pm 0,21	7,28 \pm 0,10	1643 \pm 36 a ²	26,2 \pm 0,11
25	0,0	5,74 \pm 0,14	7,40 \pm 0,11	1528 \pm 40 b	26,2 \pm 0,13
25	0,5	5,69 \pm 0,22	7,42 \pm 0,11	1530 \pm 39 b	26,1 \pm 0,16
25	1,0	5,72 \pm 0,15	7,39 \pm 0,12	1568 \pm 35 b	26,1 \pm 0,13
25	2,0	5,64 \pm 0,18	7,35 \pm 0,12	1581 \pm 40 ab	26,1 \pm 0,15
25	1,0*	5,71 \pm 0,12	7,37 \pm 0,08	1558 \pm 27 b	26,2 \pm 0,15
P-valor		ns ³	ns	<0,05	ns

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melaço em pó; ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

A suplementação da dieta artificial com metionina sintética não interferiu em duas das mais importantes variáveis de qualidade de água de tanques de aquicultura: O₂ e pH. Durante o cultivo foi necessário a aplicação de bicarbonato de sódio para manter os valores de pH e AT nos níveis ideais. Esses ajustes foram realizadas a partir da terceira semana. A manutenção de níveis adequados de oxigênio dissolvido na água de tanques BFT proporciona melhor desenvolvimento da comunidade microbiana (RAY *et al.*, 2010a), bem como facilita a ocorrência dos processos de assimilação do nitrogênio (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006).

Nos tanques sem restrição alimentar, a CE da água foi significativamente maior do que nos tanques com restrição alimentar, com exceção dos tanques com adição de 2% de metionina, que não diferiu da primeira (Tabela 3). Com a maior entrada de ração nos tanques suplementados com 2% de metionina, por conta do maior crescimento animal, houve incremento na mineralização da matéria orgânica, que liberou mais íons dissolvidos para água, aumentando, desse modo, a CE. Boyd e Tucker (1998) recomendam que a CE da água de tanques de piscicultura dulcícola não deveria ultrapassar 1000 μS cm⁻¹. Embora a CE do presente trabalho tenha excedido aquele limite, o crescimento corporal dos peixes ocorreu normalmente. Tanques BFT tendem a apresentar maior CE em virtude da baixa troca de água e maior acúmulo de matéria orgânica.

A alcalinidade total (AT) da água dos tanques de cultivo não diferiu de modo

significativo entre os tratamentos ($p > 0,05$; Tabela 4).

Tabela 4 – Alcalinidade total, dureza total e concentração de CO₂ livre na água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; $n = 5$).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Alcalinidade total (mg L ⁻¹ eq. CaCO ₃)	Dureza total (mg L ⁻¹ eq. CaCO ₃)	CO ₂ livre (mg L ⁻¹)
0	0,0	141,9 \pm 9,0	331,3 \pm 18,1 a ²	14,8 \pm 2,8
25	0,0	150,4 \pm 11,0	287,3 \pm 12,8 b	11,8 \pm 2,9
25	0,5	151,3 \pm 10,7	293,9 \pm 10,6 b	11,8 \pm 2,8
25	1,0	152,2 \pm 7,8	298,3 \pm 16,9 b	12,2 \pm 3,0
25	2,0	144,7 \pm 8,4	302,8 \pm 11,4 ab	13,4 \pm 3,2
25	1,0*	149,4 \pm 12,1	288,4 \pm 17,3 b	13,1 \pm 3,6
P-valor		ns ³	<0,05	ns

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melão em pó; ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

A AT média foi de $148,3 \pm 4,1$ mg L⁻¹ CaCO₃, com valores de mínimo e máximo iguais a 141,9 e 152,2, respectivamente. A dureza total (DT) da água dos tanques sem restrição alimentar foi significativamente maior que nos tanques com restrição alimentar de 25%, com exceção dos tanques suplementados com 2% de metionina, cuja DT não diferiu dos demais tratamentos. Os tanques que apresentaram maior crescimento dos peixes receberam maiores quantidades de ração e melão, o que favoreceu maiores concentrações de DT. Da Costa *et al* (2015) destacam que o melão é um produto utilizado na alimentação de animais ruminantes e que recebe aditivos minerais na sua constituição, tal como o cálcio. Como a DT da água expressa as concentrações de cálcio e magnésio, a maior entrada de melão elevou a DT na água. O cálcio e magnésio são minerais importantes para formação dos bioflocos (SOBECK; HIGGINS, 2002), por atuar na formação de pontes de cálcio na matriz do bioflocos (NGUYEN; HANKINS; HILAL, 2007). Não houve diferença significativa entre os tanques para a concentração de CO₂ livre da água. A concentração final média de CO₂ na água foi de $12,9 \pm 1,2$ mg L⁻¹, com valores de mínimo e máximo iguais a 11,8 e 14,8, respectivamente ($p > 0,05$; Tabela 4).

A concentração de fósforo reativo na água dos tanques sem restrição alimentar foi

maior ($p < 0,05$) em relação ao observado nos tanques com restrição alimentar e adição de 0,0 e 0,5% de metionina, mas não em relação aos tanques com adição de 1,0 e 2,0% de metionina (Tabela 5).

Tabela 5 – Concentrações de fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g), em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; $n = 5$).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Fósforo reativo (mg L ⁻¹)	Ferro dissolvido (mg L ⁻¹)	Matéria Orgânica (mg L ⁻¹)
0	0,0	4,59 \pm 0,34 a ²	3,19 \pm 0,34	806 \pm 24 a
25	0,0	3,78 \pm 0,43 b	2,79 \pm 0,18	743 \pm 19 b
25	0,5	3,81 \pm 0,21 b	2,75 \pm 0,15	748 \pm 14 b
25	1,0	3,94 \pm 0,38 ab	2,84 \pm 0,25	747 \pm 28 b
25	2,0	4,10 \pm 0,40 ab	2,88 \pm 0,29	762 \pm 27 ab
25	1,0*	3,91 \pm 0,39 ab	2,79 \pm 0,36	751 \pm 20 b
P-valor		0,019	ns ³	0,002

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melaço em pó; ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

As rações comerciais para piscicultura contêm concentrações apreciáveis de fósforo (0,5 – 1,0%), em grande parte fósforo fítico. Esse fósforo, em grande parte, é excretado para a água. Como houve maior entrada de ração nos tanques com suplementação de 2% de metionina, houve proporcional aumento na excreção de P para água. Resultados semelhantes foram observados por Caldini *et al* (2018), que atribuíram a maior concentração de fósforo reativo na água ao maior fornecimento de ração para juvenis de tilápia. De igual modo, Da Silva, Wasielesky Junior e Abreu (2013) também relacionaram o aumento da concentração de fósforo reativo na água à maior entrada de ração no tanque, motivada pelo maior crescimento dos juvenis de *L. vannamei*, nessas unidades.

Não houve diferença significativa para concentração de ferro dissolvido na água, independentemente da aplicação ou não de restrição alimentar e adição de metionina (Tabela 5). A concentração final média de Fe⁺² foi de $2,87 \pm 0,16$ mg L⁻¹, com valores de mínimo e máximo iguais a 2,75 e 3,19, respectivamente. Green *et al* (2020) não encontraram diferenças

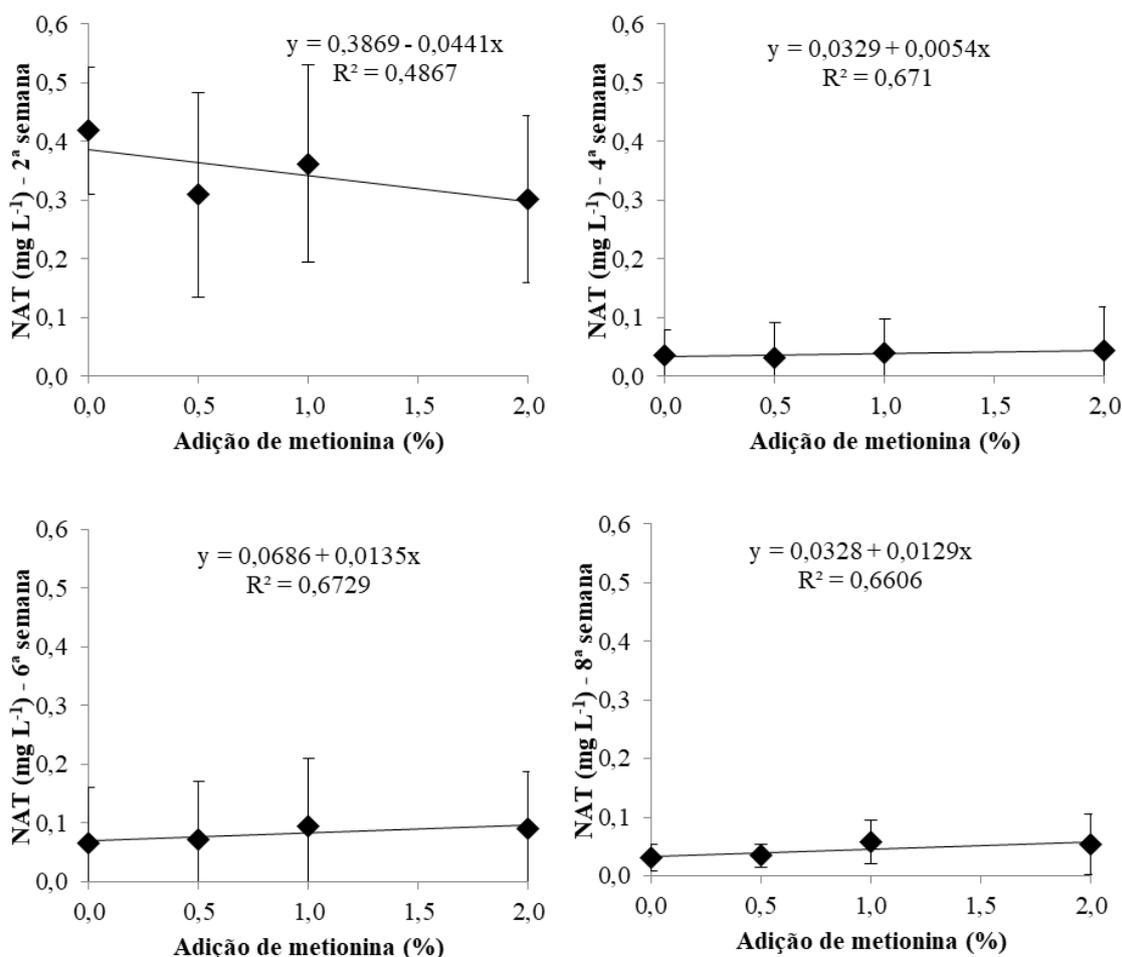
significativas para concentração de ferro na água de cultivo de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) mantidos em tanques com bioflocos de diferentes idades e concentração de sólidos.

A concentração de matéria orgânica na água foi maior nos tanques sem restrição alimentar ($p < 0,05$), com exceção dos tanques com restrição alimentar e adição de 2% de metionina, para os quais não houve diferença significativa (Tabela 5). Como houve maior crescimento animal nos tanques suplementados com 2% de metionina, houve, também, maior entrada de ração nessas unidades, já que o arraçoamento foi proporcional à biomassa estocada. Desse modo, explica-se o aumento na MO nos tanques com 2% de metionina. Cavalcante *et al* (2017) verificaram que a concentração de matéria orgânica em tanques BFT de cultivo de tilápia do Nilo foi maior nas unidades sem restrição no fornecimento de ração.

A expressão geral de uma equação de 1º grau é $y = a + bx$, onde a é o coeficiente linear e b é o coeficiente angular da reta. Valores positivos de b indicam que a variável y cresce com o aumento da variável x (relação direta); valores negativos de b indicam que a variável y decresce com o aumento da variável x (relação inversa); valores de b próximos a zero indicam que a variável y é pouco ou não é afetada pela variável x .

Os coeficientes angulares das retas de regressão para relação entre a suplementação com metionina (%) e concentração de NAT na água (mg L^{-1}) foram os seguintes: -0,0441 (2ª semana); 0,0054 (4ª semana); 0,0135 (6ª semana) e 0,0129 (8ª semana; Figura 1). Logo, como todos os valores de b estão próximos a zero, não houve efeito significativo da suplementação de metionina sintética sobre a concentração de amônia da água. Esse resultado sugere que a suplementação da dieta com metionina sintética não estimula a formação dos bioflocos, servindo apenas como nutriente aos peixes cultivados. Caso estimulasse os bioflocos, era de se esperar que a suplementação com metionina reduzisse as concentrações de NAT da água, pela maior absorção bacteriana. A fonte de carbono orgânico e a relação C:N influenciam de maneira direta a formação e a estrutura da comunidade microbiana dos bioflocos tendo, por conseguinte, maior impacto na absorção de NAT da água (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; WEI; LIAO; WANG, 2016).

Figura 1 – Concentração de nitrogênio amoniacal total na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arração. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5).

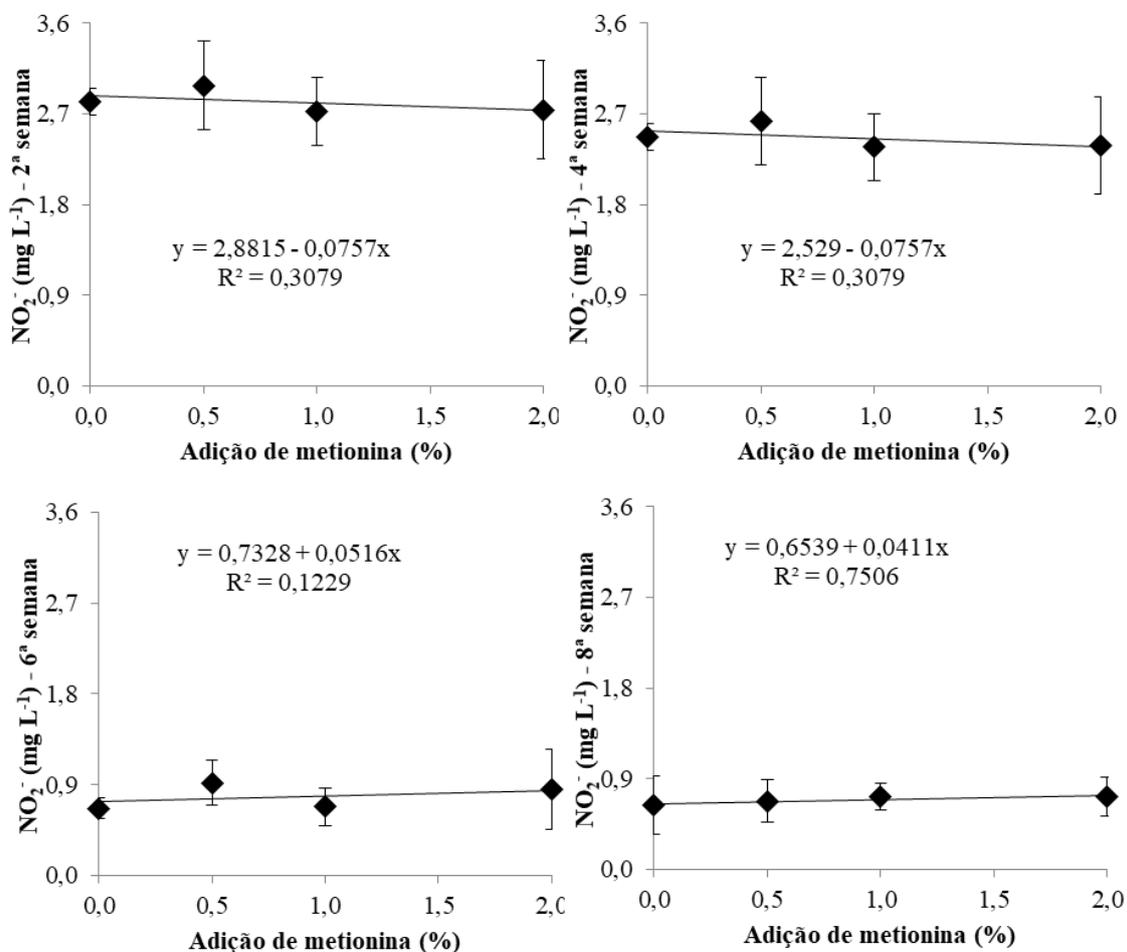


Por todo o período experimental, o nível de suplementação de metionina sintética não afetou as concentrações de nitrito da água (Figura 2). Os coeficientes angulares das retas de regressão para relação metionina \times nitrito, que foram observados na 2^a, 4^a, 6^a e 8^a semanas, foram iguais a -0,0757; -0,0757; 0,0516 e 0,0411, respectivamente.

Esses resultados sugerem que a suplementação da dieta com metionina sintética, assim como não beneficiou o desenvolvimento das bactérias heterotróficas dos bioflocos, também não estimulou o crescimento das bactérias nitrificantes, em particular das *Nitrobacter*. Caso tivesse estimulado, seria de se esperar um efeito positivo (redução) da adição de metionina sobre a concentração de nitrito na água. Logo, esse resultado reforça a tese anterior de que a metionina suplementar agiu apenas como nutriente ao crescimento dos peixes, não contribuindo na melhoria da qualidade da água pela formação de bioflocos. A suplementação de metionina pode corrigir uma possível deficiência nutricional sofrida pelos peixes, elevando a digestibilidade da ração e dos flocos microbianos e aumentando a retenção de nitrogênio nos

animais. Com isso, pode ocorrer redução de compostos nitrogenados para água.

Figura 2 – Concentração de nitrito na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5).

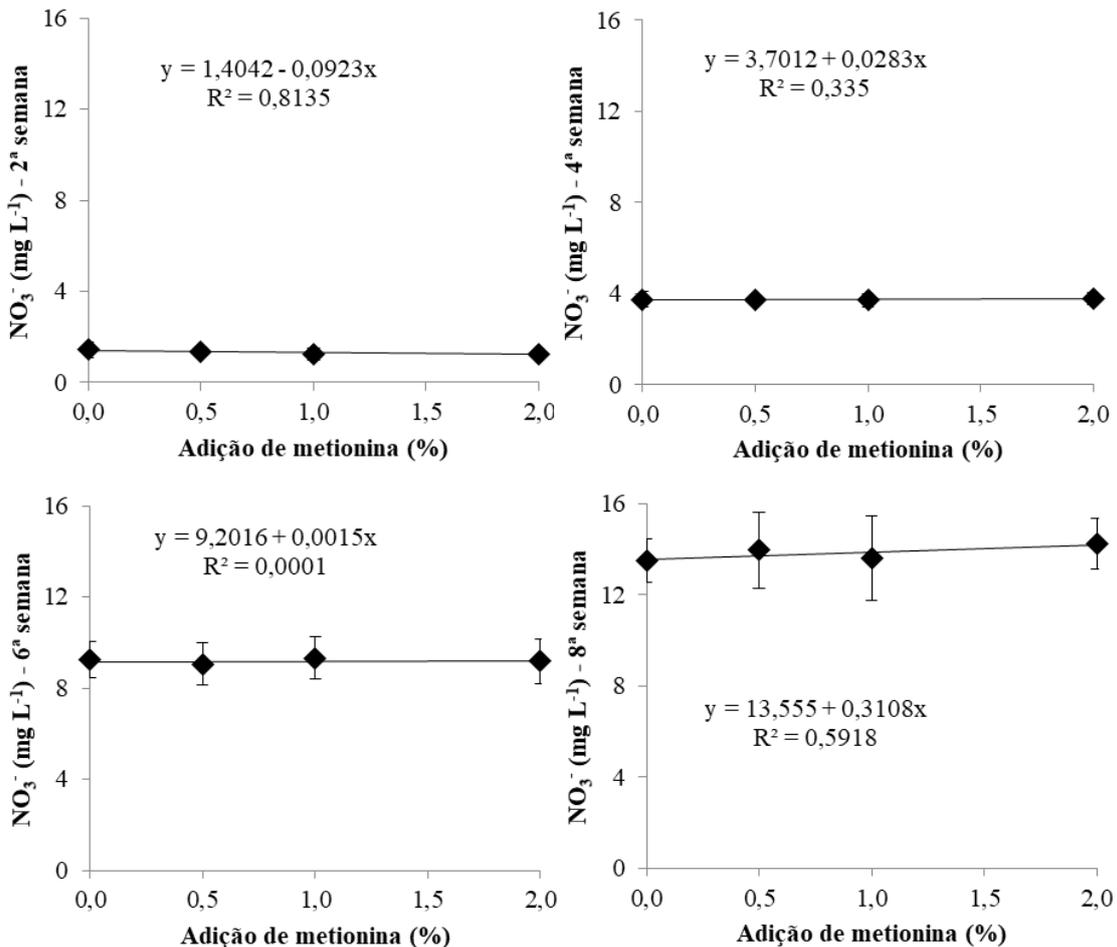


Em sistemas BFT, as bactérias heterotróficas e nitrificantes podem coexistir no tanque de cultivo (AZIM; LITTLE, 2008; ZHANG *et al.*, 2016). As bactérias heterotróficas e nitrificantes, entretanto, competem entre si por amônia, superfície de adesão e micronutrientes (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016). Com a adição de uma fonte de carbono orgânico de alta biodegradabilidade ao tanque, as bactérias heterotróficas se desenvolvem rapidamente, assimilando a maior parte da amônia. A depender do sistema BFT, entretanto, a nitrificação pode ter sua importância aumentada e ficar responsável por remover de 25 - 50% do NAT (HARGREAVES, 2013). Os principais fatores que afetam as taxas de nitrificação em sistemas BFT são os seguintes: concentrações de O_2 dissolvido, amônia e nitrito; relação C:N, pH, temperatura e alcalinidade da água (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006; LUO *et al.*, 2017).

A concentração de nitrato da água aumentou em todos os tanques experimentais ao longo do cultivo. Até a 8ª semana experimental, não se observou influência da suplementação de metionina sintética sobre a concentração de nitrato da água (Figura 3).

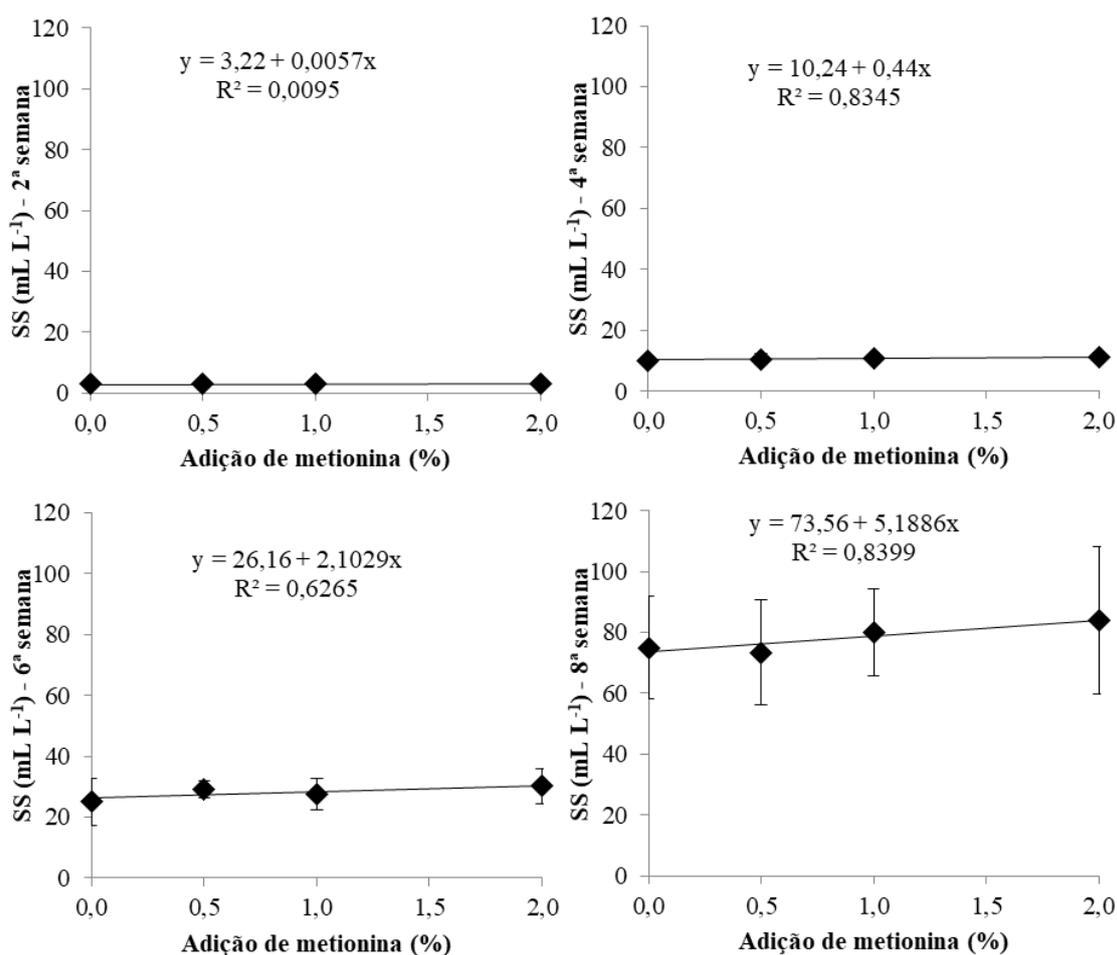
Na primeira etapa da nitrificação a amônia é transformada em nitrito pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas*, e em seguida, o nitrito é convertido em nitrato pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. A nitrificação ocorre em condições aeróbias e com consumo de carbono inorgânico, na forma de bicarbonato (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). O nitrato tende a se acumular em tanques de bioflocos (BFT) e de recirculação de água (SRA; LUO *et al.*, 2014). Em trabalhos realizados em tanques BFT de *L. vannamei* (XU *et al.*, 2012) e de tilápia do Nilo (MANSEUR; ESTEBAN, 2017) não foram observados efeitos significativos de dietas com diferentes níveis proteicos nas concentrações de NAT , NO_2^- e NO_3^- .

Figura 3 – Concentração de nitrato na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5).



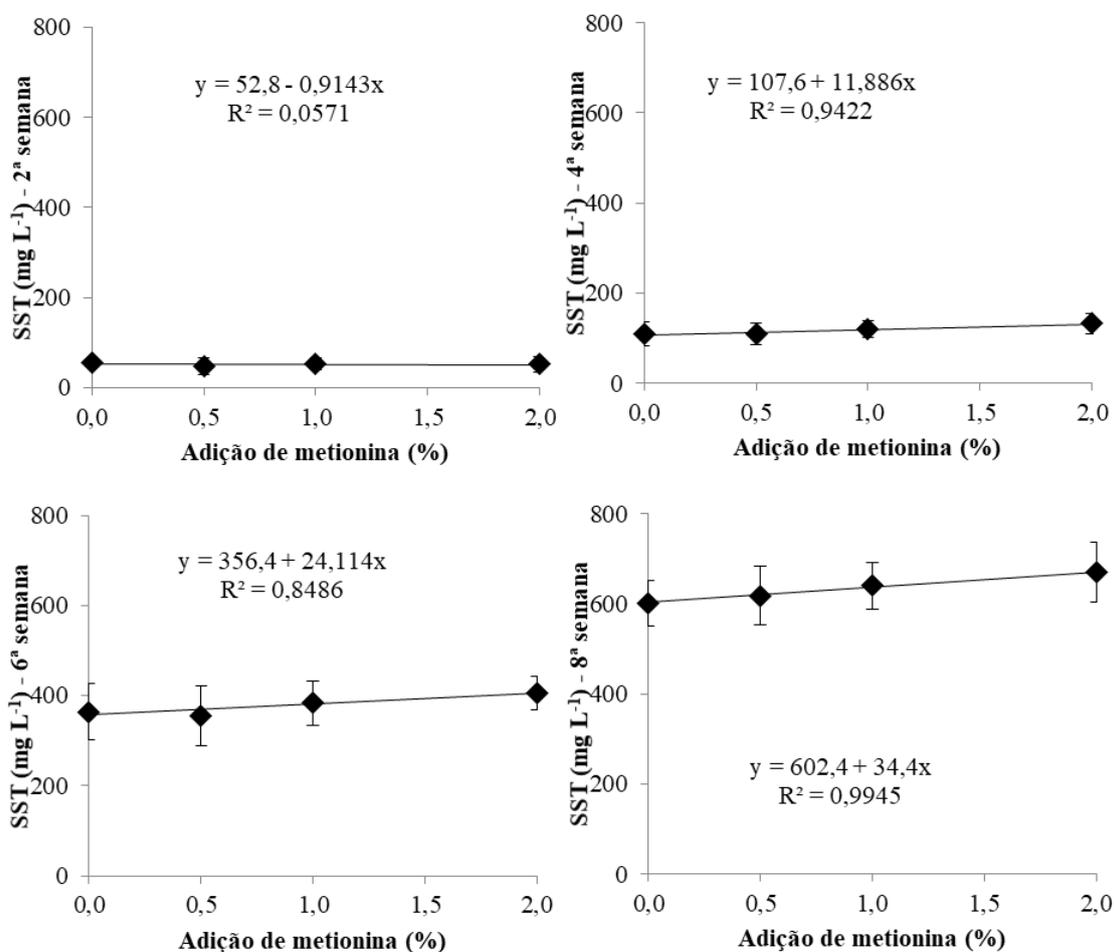
A suplementação de metionina sintética apresentou um efeito crescente sobre a concentração de sólidos sedimentáveis (SS) na água de cultivo. Com o decorrer do experimento, o efeito da adição de metionina sobre o SS se tornou cada vez mais evidente (Figura 4). Os coeficientes angulares das retas de regressão, para relação % de metionina e SS, para a 2^a, 4^a, 6^a e 8^a semanas, foram iguais a 0,0057; 0,44; 2,1029 e 5,1886, respectivamente.

Figura 4 – Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5).



A concentração de sólidos suspensos totais (SST) também foi afetada pelo nível de suplementação com metionina sintética, de modo crescente com o tempo (Figura 5). Os coeficientes angulares das retas de regressão para relação entre % de metionina e SST, para a 2^a, 4^a, 6^a e 8^a semanas, foram iguais a -0,9142; 11,88; 24,114 e 34,4, respectivamente. A suplementação da dieta com metionina sintética beneficiou o ganho em peso animal (Tabela 7). Esse efeito positivo se tornou evidente a partir de 2% de suplementação diária (p < 0,05).

Figura 5 – Concentração de sólidos suspensos totais (SST) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A oferta de ração comercial foi restringida em 25%, em relação ao recomendado pela tabela de arraaçamento. A ração foi suplementada com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d. p.; n = 5).



Nos tanques com maior suplementação de metionina, as entradas diárias de ração artificial e melão foram maiores, já que foram realizadas de forma diretamente proporcional ao crescimento animal. Mais ração fornecida implicava em mais fezes animais e mais sobras de alimento; mais melão, em mais bioflocos, bem como mais NAT na água. Com isso, houve significativo incremento nas concentrações de SS e SST nos tanques com maior suplementação de metionina. Como níveis excessivos de SS e SST são prejudiciais aos animais cultivados, dever-se-ia aplicar a suplementação da dieta com metionina sintética apenas em sistemas BFT que possuíssem eficiente controle da concentração de sólidos na água (tanques clarificadores).

Para o cultivo de tilápia em tanques BFT, as concentrações de SS e SST na água não devem ser superiores a 25 - 50 mL L⁻¹ e 500 mg L⁻¹, respectivamente (HARGREAVES, 2013; AVNIMELECH, 2009). As concentrações de sólidos na água devem ser bem controladas

para evitar o entupimento das brânquias dos animais cultivados (RAY *et al.*, 2010b). Como medida preventiva, recomenda-se a utilização de clarificadores para remoção do excesso de sólidos na água (GAONA *et al.*, 2017). Xu, Morris e Samocha (2016, 2018) afirmaram que a manutenção da relação C:N da água em 12:1 produz menos material particulado em suspensão na água, havendo menor entrada de carbono suplementar e maior participação de algas e bactérias nitrificantes na remoção de NAT e NO_2^- .

4.3.2 Composição bromatológicas dos bioflocos

A composição centesimal dos bioflocos não foi afetada pela quantidade de ração nos tratamentos com restrição alimentar, nem pela inclusão de metionina sintética na ração (Tabela 6; $p > 0,05$). O percentual de umidade da biomassa dos bioflocos não diferiu entre os tratamentos ($p > 0,05$). Em média, o teor de umidade do bioflocos foi de $89,6 \pm 0,8\%$. De modo semelhante, os diferentes níveis de inclusão de metionina não afetaram os teores de proteína bruta e extrato etéreo da biomassa de bioflocos, cujo valores médios foram iguais a $31,8 \pm 1,6\%$ e $2,1 \pm 0,2\%$, respectivamente (base seca).

Tabela 6 – Composição centesimal de bioflocos produzidos em tanques de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; $n = 3$).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Umidade (%)	Proteína bruta ² (%)	Extrato etéreo ² (%)	Cinzas ² (%)
0	0,0	$88,87 \pm 0,84$	$31,49 \pm 1,60$	$2,07 \pm 0,17$	$10,78 \pm 0,71$
25	0,0	$89,42 \pm 0,85$	$31,31 \pm 1,87$	$2,04 \pm 0,24$	$10,33 \pm 0,52$
25	0,5	$89,90 \pm 0,88$	$32,43 \pm 1,81$	$2,18 \pm 0,15$	$10,66 \pm 0,72$
25	1,0	$89,56 \pm 0,96$	$31,45 \pm 1,79$	$2,02 \pm 0,10$	$10,72 \pm 0,88$
25	2,0	$89,99 \pm 0,70$	$32,33 \pm 1,50$	$2,07 \pm 0,18$	$10,58 \pm 0,51$
25	1,0*	$89,79 \pm 1,09$	$31,94 \pm 1,99$	$2,11 \pm 0,11$	$10,60 \pm 0,63$
P-valor		ns ³	ns	ns	ns

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura foi com o melão em pó; ² Base na matéria seca; ³ Não significativo ($p > 0,05$).

O teor de cinzas da biomassa de bioflocos também não foi influenciada pela suplementação de metionina na ração balanceada, apresentando média de $10,6 \pm 0,6\%$ (base seca). Os resultados de proteína bruta, umidade e cinzas dos bioflocos foram semelhantes ao observados por Gallardo-Collí, Pérez-Rostro e Hernández-Vergara (2019). Esses autores

encontraram 36%, 86% e 11%, respectivamente, para essas mesmas variáveis. Já Rajkumar *et al.* (2016) e Durigon *et al.* (2019) e obtiveram teores de extrato etéreo para os bioflocos de 0,9% e 1,2%, respectivamente, sendo esses valores inferiores aos observados no presente estudo. Esses resultados sugerem que a aplicação de metionina sintética ao tanque, em mistura com a ração em pó ou com o melaço, não atuou no enriquecimento nutricional dos bioflocos, ao menos quanto ao teor de proteína bruta dos bioflocos. Seria necessário, entretanto, determinar a concentração de metionina dos bioflocos para confirmar se, mesmo não tendo afetado o teor proteico (31 – 32%; MS), não teria havido aumento no teor de metionina, a partir da suplementação realizada.

O desempenho zootécnico dos peixes submetidos a restrição alimentar e com dietas suplementadas com 1,0% e 2,0% de metionina na ração, não diferiram significativamente daqueles mantidos em tanques sem restrição de dieta artificial. Como houve efeito positivo da suplementação de metionina sobre o crescimento dos juvenis de tilápia, nos tanques submetidos à restrição alimentar, a metionina sintética foi, provavelmente, bem aproveitada pelos peixes na sua nutrição. Em geral, os bioflocos são deficientes em metionina, tendo em vista a satisfação das exigências da tilápia do Nilo e do *L. vannamei*. Os bioflocos produzidos nos trabalhos de Ekasari *et al.* (2014) e Wei, Liao e Wang (2016) apresentavam-se deficientes em metionina, com concentrações inferiores a $20 \mu\text{mol g}^{-1}$. Uma das prováveis causas para retardo no crescimento animal, quando os indivíduos são alimentados com biomassa de bioflocos, é a deficiência de metionina (EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016; LI *et al.*, 2018). Valle *et al.* (2015) recomendam que a dieta do *L. vannamei* seja suplementada com metionina quando a farinha de bioflocos for utilizada como alimento dos animais. Portanto, seria esperado uma queda no ganho em peso animal nos tanques submetidos à restrição alimentar, em relação ao grupo-controle (sem restrição). Tal não aconteceu nos tanques experimentais que receberam a mistura ração-metionina a 1% ou 2%. Assim, embora a suplementação da ração artificial com metionina sintética tenha sido incapaz de enriquecer nutricionalmente os bioflocos, a ingestão de metionina pelo peixe, via ração suplementada, levou ao efeito final desejado, a saber, à manutenção de boas taxas de crescimento animal.

4.3.3 Desempenho zootécnico

A sobrevivência final média dos peixes foi igual a $91,3 \pm 1,8\%$, não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$; Tabela 7). Os valores de mínimo e máximo para sobrevivência foram iguais a 90,0 e 94,4%, respectivamente.

Tabela 7 – Sobrevivência, peso corporal final (PCf), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho de peso semanal (GPS) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Sobrevivência (%)	PCf (g)	TCE ² (% dia ⁻¹)	GPS (g)
0	0,0	90,0 \pm 6,0	20,1 \pm 1,2 a ³	3,53 \pm 0,11 a	2,17 \pm 0,15 a
25	0,0	90,0 \pm 7,2	17,5 \pm 0,4 b	3,30 \pm 0,07 b	1,84 \pm 0,06 b
25	0,5	94,4 \pm 5,5	17,3 \pm 0,7 b	3,29 \pm 0,10 b	1,82 \pm 0,09 b
25	1,0	92,2 \pm 6,3	18,7 \pm 1,5 ab	3,41 \pm 0,15 ab	1,99 \pm 0,19 ab
25	2,0	91,1 \pm 8,4	20,0 \pm 0,7 a	3,56 \pm 0,08 a	2,17 \pm 0,09 a
25	1,0*	90,0 \pm 4,6	17,9 \pm 1,2 b	3,35 \pm 0,13 b	1,90 \pm 0,16 b
P-valor		ns ⁴	<0,05	<0,05	<0,05

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melaço em pó; ² TCE = $[\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})]/\text{dias de cultivo} \times 100$); ³ Médias com letras distintas na mesma coluna são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ⁴ Não significativo ($p > 0,05$).

O peso corporal final (PCf), TCE e ganho em peso semanal (GPS) dos peixes mantidos nos tanques sem restrição alimentar foram significativamente maiores que os respectivos valores observados nos demais tratamentos, excetuando-se nas unidades nas quais houve adição de 1,0% ou 2,0% de metionina sintética (Tabela 7). Essas mesmas variáveis foram significativamente menores nos tanques suplementados com 1% de metionina, misturada ao melaço, em relação aos tanques sem restrição alimentar. Esses resultados sugerem que o nível ótimo de suplementação da ração artificial da tilápia com metionina sintética, em tanques BFT submetidos à restrição alimentar, é de 1% e que acima disso não haveria benefícios claros do ponto de vista zootécnico. He *et al.* (2017) indicaram que o nível ótimo de inclusão de L-metionina em dietas para crescimento máximo de juvenis de tilápia do Nilo é de 0,91%, com a presença de 0,83 g kg⁻¹ de cisteína na dieta. Segundo esses mesmos autores, a exigência de metionina para integridade imunológica é maior do que para crescimento máximo. Em tanques BFT, os animais são submetidos a vários fatores estressantes, tais como elevadas concentrações de nitrito e sólidos em suspensão na água. Por conta disso, as exigências da tilápia por metionina talvez sejam maiores em tanques BFT.

A administração da metionina sintética deverá ser via mistura com a ração balanceada e não com o melaço. Essa última sugestão reforça a ideia anterior de que a metionina

sintética foi importante apenas para nutrição dos peixes e não para as bactérias do bioflocos. Enquanto a mistura metionina-ração visava a nutrição da tilápia, a mistura metionina-melaço visava a nutrição das bactérias heterotróficas dos bioflocos. A mistura metionina-melaço pode ter afetado a estabilidade do aminoácido, ocasionando sua perda para água por lixiviação, uma vez que o melaço em pó absorvia umidade. A metionina sintética é solúvel em água, o que limita seu uso na forma cristalina em rações aquáticas. Lixiviação de quase 20% de metionina poderá ocorrer após 30 minutos de contato da ração com a água (YUAN *et al.*, 2011). Segundo Guo *et al.* (2019), o dipeptídeo DL-metionil-DL-metionina (Met-Met) tem uma solubilidade em água extremamente baixa e melhor absorção do que outras fontes de metionina (como DL-metionina e L-metionina) disponíveis no mercado. Com isso, o Met-Met seria uma melhor opção para suplementação de tanques BFT de aquicultura submetidos à restrição alimentar.

Houve efeito significativo da restrição alimentar e/ou do nível de suplementação com metionina sintética sobre a produtividade aquícola dos tanques (Tabela 8). As maiores produtividades aquícolas foram observadas nos tanques sem restrição alimentar; com restrição e 2% de metionina suplementar, que não diferiram de modo significativo entre si. Em seguida, tem-se a produtividade aquícola para os tanques com restrição alimentar e 1% de metionina suplementar misturada à ração. Finalmente, os menores valores de produtividade foram observados nos tanques com restrição alimentar, não suplementados ou suplementados com 0,5% e 1,0% de metionina, nesse último caso quando misturada ao melaço.

O peixe submetido à restrição alimentar foi forçado a ingerir uma maior quantidade de alimento natural (bioflocos), para atender às suas exigências nutricionais. Como não se observou diferenças produtivas entre os animais alimentados apenas com ração balanceada, em tanques sem restrição alimentar, e aqueles com restrição de 25% no fornecimento de ração seca, em tanques suplementados com 1% de metionina sintética misturado à ração, supõe-se que os bioflocos foram capazes de satisfazer parcialmente as exigências nutricionais dos juvenis de tilápia. Além disso, tornou-se evidente que o aporte de metionina teve um papel decisivo, já que os peixes alimentados com ração balanceada, sem suplementação com metionina e sob restrição alimentar, sofreram retardo significativo no crescimento corporal. Especula-se que a deficiência dos bioflocos em metionina tenha sido corrigida, indiretamente, pela suplementação da ração balanceada com metionina sintética. Caso esse resultado seja confirmado por trabalhos posteriores, realizados em maior escala, ter-se-ia descoberto um manejo alimentar mais econômico para tilapicultura em sistemas BFT. Tal achado, se confirmado, contribuiria para dar maior sustentabilidade econômica a essa atividade produtiva.

Tabela 8 – Produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA) e taxa de eficiência proteica (TEP) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média \pm d.p.; n = 5).

Restrição alimentar (%)	Metionina ¹ (%)	Produtividade aquícola (g m ⁻³ dia ⁻¹)	FCA ²	TEP ³
0	0,0	58,7 \pm 1,4 a ⁴	1,77 \pm 0,05 c	2,23 \pm 0,03 c
25	0,0	50,6 \pm 3,7 c	1,50 \pm 0,07 b	2,61 \pm 0,18 b
25	0,5	52,5 \pm 4,1 c	1,49 \pm 0,14 b	2,67 \pm 0,22 b
25	1,0	55,1 \pm 2,4 b	1,38 \pm 0,04 ab	2,83 \pm 0,08 ab
25	2,0	58,7 \pm 5,2 a	1,30 \pm 0,07 a	3,10 \pm 0,25 a
25	1,0*	51,8 \pm 2,9 c	1,44 \pm 0,04 b	2,72 \pm 0,09 b
P-valor		0,004	<0,05	<0,05

¹ A metionina sintética foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melão em pó; ² FCA = ração ofertada (g)/ganho em peso corporal (g); ³ TEP = ganho em peso corporal (g)/proteína ofertada (g); ⁴ Médias com letras distintas na mesma coluna são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A exigência dietética de metionina para tilápia do Nilo varia de 1,75% a 2,67% da proteína da dieta (SANTIAGO; LOVELL, 1988; NGUYEN; DAVIS, 2009). Os bioflocos podem representar uma importante fonte de alimento para peixes e camarões cultivados, promovendo melhoria no crescimento e bem-estar animal (ZHAO *et al.*, 2016; ADINEH *et al.*, 2019; MIRZAKHANI *et al.*, 2019). Os animais mantidos em tanques BFT podem utilizar os bioflocos como fonte suplementar de proteína alimentar, permitindo redução no percentual de proteína bruta da dieta, sem prejuízo ao desempenho zootécnico (XU *et al.*, 2012; MANSOUR; ESTEBAN, 2017; DA SILVA *et al.*, 2018; GREEN *et al.*, 2019). Caldini *et al.* (2015; 2018) observaram que o desempenho de juvenis da tilápia do Nilo, submetidos à restrição alimentar em 25%, não foi prejudicado quando biomassa úmida de bioflocos foi fornecida aos peixes. Níveis de restrição alimentar mais altos, entretanto, poderão prejudicar os animais cultivados. A inclusão de biomassa seca de bioflocos, em dietas para juvenis de *L. vannamei*, acima de 25%, prejudica o crescimento dos animais, possivelmente pela deficiência de lisina e metionina e pelo alto teor de cinzas (GAMBOA-DELGADO *et al.* 2017).

Os resultados de FCA e TEP foram melhores nos tanques com restrição alimentar e adição de 2% de metionina, em relação aos outros tratamentos, com exceção dos tanques que receberam 1% de metionina misturada à ração, para os quais a diferença não foi significativa

(Tabela 8).

Os piores resultados de FCA e TEP foram observados nos tanques sem restrição alimentar. Esses resultados diferem de Cavalcante *et al.* (2017), que não observaram diferenças significativas para FCA e TEP em tanques BFT, com e sem restrição alimentar. Os melhores resultados de FCA e TEP, obtidos nos tanques com restrição alimentar, podem ser explicados pela maior ingestão de alimento natural (bioflocos) pelos peixes. Esses resultados reforçam a tese de que o melhor tratamento foi aquele no qual se fez a suplementação da dieta artificial com 1% de metionina sintética, quando misturada à ração. Com isso, seria possível ter o mesmo crescimento animal com uma redução no uso de metionina na ração. Uma questão ainda em aberto é se a mistura da metionina sintética com a ração também traria bons resultados caso se usasse péletes de maiores dimensões. A ração balanceada, que foi utilizada no presente trabalho, era em pó, o que permitiu uma mistura homogênea entre a ração e a metionina.

Observou-se efeito direto significativo do nível de suplementação com metionina sintética sobre o peso corporal final dos peixes cultivados (Figura 6). Além disso, a suplementação com metionina apresentou relação inversa com o FCA ($p < 0,05$; Figura 7). Esses resultados também foram observados por Figueiredo-Silva *et al.* (2015) em trabalho com juvenis de tilápia híbrida (*O. niloticus* × *O. mossambicus*). Esses autores relataram que o aumento na inclusão da metionina na dieta resultou em maior peso corporal final, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica. Portanto, a suplementação de metionina sintética, à ração balanceada fornecida aos animais, pode melhorar o desempenho produtivo da tilápia do Nilo, possibilitando economia de ração artificial em tanques BFT.

Figura 6 – Peso corporal final de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos à restrição alimentar de 25%, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética (média ± d.p.; n = 5).

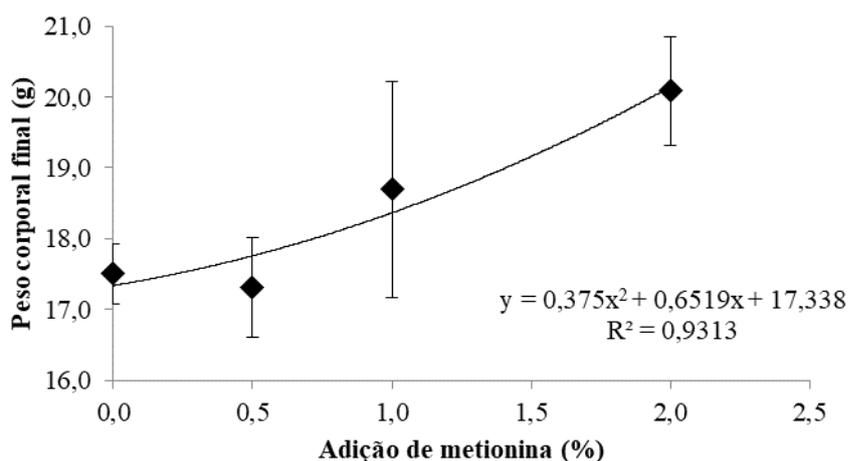
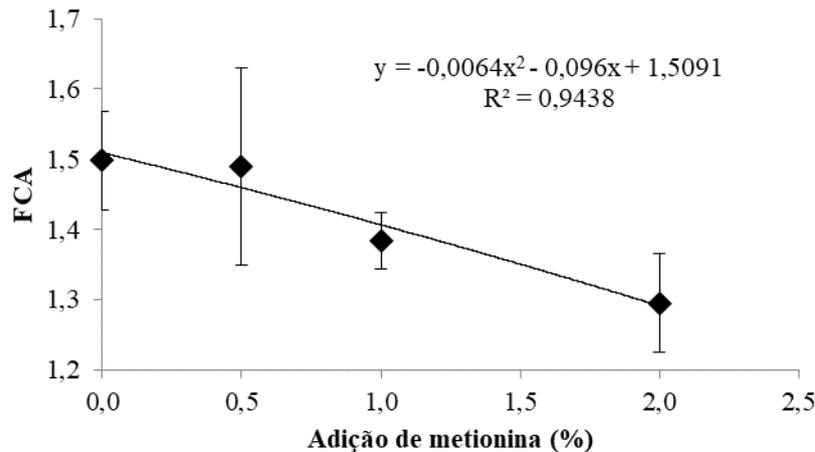


Figura 7 – Fator de conversão alimentar (FCA) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, com peso corporal inicial de $2,76 \pm 0,06$ g, mantidos por 8 semanas em tanques de polietileno de 100 L, submetidos à restrição alimentar de 25%, suplementados com níveis crescentes de metionina sintética.



4.3.4 Relação custo: benefício

Considere os seguintes dados, a título de exemplo:

- Preço da ração comercial: R\$ 5,60/kg;
- Preço da DL-metionina: R\$ 20,00/kg;
- Biomassa estocada de peixe: 1,0 kg;
- Peso corporal médio do juvenil: 2,0 g;

Nesse caso, a taxa diária de arraçoamento dos animais seria de 11,3% da biomassa estocada. Logo, a quantidade diária de ração e o custo com alimentação seriam iguais a 113 g e R\$ 0,63/dia, respectivamente. Com a redução de 25% na oferta de ração, haveria uma economia de R\$ 0,16 ao dia. Por outro lado, a suplementação de DL-metionina, nas taxas de 1 e 2%, acarretaria acréscimos de R\$ 0,02 e R\$ 0,04 ao dia, respectivamente. Portanto, haveria diminuição de R\$ 0,14 e R\$ 0,12 ao dia, respectivamente, nos custos com a alimentação dos peixes, ao se combinar a restrição na oferta da ração comercial, com a suplementação aminoacídica.

Considerando os valores dos insumos utilizados ração (R\$ 5,60/ kg) e DL-metionina (R\$ 20,00/ kg) no tratamento sem restrição da dieta e sem suplementação de DL-metionina, o custo total da ração foi de R\$ 27,60/m³. Para os tratamentos com restrição do alimento artificial e suplementação de DL-metionina em 1,0% e 2,0%, os custos com alimentação, ração e aminoácido, foram de R\$ 20,71/m³ e R\$ 21,56/m³, respectivamente.

4.4 CONCLUSÃO

A suplementação de DL-metionina à ração balanceada não afetou a qualidade da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, em tanques BFT, nem a composição centesimal do bioflocos. É possível reduzir as taxas de arraçoamento de juvenis de tilápia, mantidos em tanques BFT de cultivo, em até 25%, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação da dieta artificial com, pelo menos, 1% de metionina sintética.

5 SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, *Oreochromis niloticus*, MANTIDOS EM TANQUES BFT COM RESTRIÇÃO NA OFERTA DE RAÇÃO BALANCEADA, COM ÓLEO DE SOJA

5.1 INTRODUÇÃO

A intensificação da aquicultura tem exigido o desenvolvimento de sistemas de produção que consigam conciliar sustentabilidade econômica com ambiental. A tecnologia de bioflocos (BFT) para aquicultura é um sistema de produção ambientalmente correto, em que há troca mínima ou zero de água (AZIM; LITTLE, 2008; DE SCHRYVER *et al.*, 2008). A aplicação de uma fonte de carbono orgânico de alta biodegradabilidade na água ajusta a relação C:N, promovendo o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que assimilam nitrogênio inorgânico, transformando-o em proteína microbiana. Com isso, os bioflocos aprimoram a qualidade de água e servem como fonte de nutrientes aos animais cultivados (DE SCHRYVER *et al.*, 2008; AVNIMELECH, 2009).

Os bioflocos são constituídos por uma gama de organismos, tais como bactérias, plâncton, nematoides, invertebrados, assim como por partículas orgânicas e inorgânicas (AZIM; LITTLE, 2008; AVNIMELECH, 2009). O valor nutricional do bioflocos dependerá da composição de organismos presentes, do tamanho das partículas e da digestibilidade dos compostos orgânicos (EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016). De modo geral, os bioflocos são uma boa fonte de aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais para organismos aquáticos tais como a tilápia do Nilo e o camarão marinho, *Litopenaeus vannamei* (XU *et al.* 2012; EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016; BECERRIL-CORTÉS *et al.*, 2018; PROMTHALE *et al.*, 2019). Bioflocos coletados em tanques de tilápia apresentaram 38% de proteína, 3% de lipídios, 6% de fibras, 12% de cinzas e 19 kJ g⁻¹ de energia (AZIM; LITTLE, 2008). Outros estudos mostraram, entretanto, que a concentração de proteína bruta dos bioflocos pode variar de 17 - 48%, na matéria seca (EKASARI *et al.*, 2014; PROMTHALE *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2020; MARTINEZ-PORCHAS *et al.*, 2020).

O conteúdo lipídico e de ácidos graxos dos bioflocos, especialmente de ácidos graxos poli-insaturados, podem influenciar significativamente o crescimento dos animais cultivados (IZQUIERDO *et al.*, 2006; XU; PAN, 2012; MORENO-ARIAS *et al.*, 2018). Os lipídios são fontes de ácidos graxos essenciais (AGE), energia, fosfolipídios, esteróis e carotenoides (NRC, 2011; GONZÁLEZ-FÉLIX; MALDONADO-OTHÓN; PEREZ-VELAZQUEZ, 2016). Os peixes de água doce, como a tilápia do Nilo, apresentam

requerimento dos ácidos graxos linoleico e/ou linolênico. Para a tilápia do Nilo, a exigência em ácido linoleico é de 0,5 a 1% (TAKEUCHI *et al.*, 1983; NRC, 2011). Em geral, a concentração lipídica dos bioflocos é baixa (Luo *et al.*, 2014; Khanjani *et al.*, 2017), podendo haver, todavia, consideráveis variações. Luo *et al.* (2014) e Khanjani *et al.* (2017) observaram concentrações de lipídios, nos flocos microbianos, de 1,3-2,2%. Outros autores encontraram, nos bioflocos, teores lipídios bem maiores, entre 5-7% (EKASARI *et al.*, 2014; PROMTHALE *et al.*, 2019; MARTINEZ-PORCHAS *et al.*, 2020). Além dos lipídios totais, pode haver grande variabilidade na composição de AGE dos bioflocos, os quais podem ser deficientes em um ou mais AGE. Dantas *et al.* (2016) concluíram que a farinha de bioflocos utilizada na alimentação de *L. vannamei* era deficiente em ácido araquidônico (ARA, 20:4 n - 6), considerado AGE para camarões marinhos. O perfil de AGE dos bioflocos pode ser alterado pela qualidade da fonte de C orgânico adicionada ao tanque. Bakhshi *et al.* (2018) relataram que o melaço da beterraba elevou de modo considerável as concentrações dos AGE linolênico (C18:3 n-3) e linoleico (C18:2 n-6), nos flocos microbianos. Camarões *L. vannamei* mantidos em tanques de bioflocos e alimentados com dietas sem farinha de peixe apresentaram menores concentrações corporais dos AGE n-3 EPA e DHA (RAY; LEFFLER; BROWDY, 2019).

Na aquicultura intensiva, as despesas com a aquisição de rações artificiais poderiam ser reduzidas caso parte da alimentação e nutrição dos animais fosse proveniente de fontes suplementares, tais como os bioflocos (XU; PAN, 2012). Para isso, seria de grande importância que a composição química dos bioflocos atendesse satisfatoriamente, ao menos em parte, as exigências nutricionais da espécie cultivada. Os bioflocos, entretanto, não são alimentos completos para aquicultura, sendo, frequentemente, deficientes em alguns aminoácidos essenciais e AGE (CRAB *et al.*, 2010; BAUER *et al.*; 2012; EKASARI *et al.*, 2014; DANTAS *et al.*, 2016). Uma estratégia para enriquecimento nutricional dos bioflocos, que ainda não havia sido avaliada pela ciência, é a adição de óleo de soja, via ração ou melaço, para corrigir as deficiências dos bioflocos em AGE para juvenis de tilápia do Nilo. O presente estudo teve por objetivo determinar os efeitos da adição de óleo de soja, à ração comercial e ao melaço, sobre a qualidade de água, composição centesimal dos bioflocos e o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, criados em tanques BFT, submetidos à restrição de alimento artificial.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Peixes e sistema de cultivo

O estudo foi realizado no Laboratório de Ciência e Tecnologia Aquícola - LCTA, Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. Para a realização da pesquisa foram obtidos juvenis masculinizados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso corporal de $1,74 \pm 0,06$ g, na fazenda São Pedro Aquicultura Ltda (Itaitinga, Ceará), e transportados até as instalações do laboratório. Posteriormente, os peixes foram estocados em um tanque circular de polietileno de 1000 L, mantido sob aeração constante, para tratamento profilático. Aplicou-se solução de permanganato de potássio na água, na concentração de 4 mg L^{-1} , como agente profilático. Após quarenta e oito horas, adicionou-se solução de tiosulfato de sódio, na concentração de 4 mg L^{-1} , para neutralização do permanganato de potássio residual. A aclimação dos animais as condições físico-químicas do laboratório foram realizadas por seis dias. Durante o período de aclimação, os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, com ração comercial, em pó, para peixes tropicais (41,2% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará).

Ao final do período de aclimação, os animais foram transferidos para 30 tanques circulares de polietileno de 100 L cada. Os tanques *indoor* do LCTA ficam em sala abrigada da incidência de raios solares. Cada tanque foi abastecido com 70 L de água doce e 30 L de água rica em bioflocos, proveniente de um tanque de maturação. Mangueiras porosas de 25 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro foram instaladas em todos os tanques experimentais, sendo dispostas de forma retilínea, no centro de cada tanque. Ao longo de todo o experimento, a aeração da água foi realizada de forma contínua por um compressor radial com potência de 2,5 CV.

5.2.2 Tanque de maturação de bioflocos

O tanque de maturação de bioflocos, do qual se retirou os volumes necessários para inoculação nos tanques experimentais, foi abastecido com 1000 L de água doce. Vinte juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal médio de $55,1 \pm 8,1$ g, foram estocados no tanque de maturação para acelerar o desenvolvimento do bioflocos. Os animais foram alimentados com ração comercial, em pó, para peixes tropicais onívoros (41,2% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará), que foi ofertada quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, na taxa de arraçoamento de 7,5% da biomassa estocada ao dia.

Foi adicionado melaço em pó às águas de cultivo para o ajuste da relação C:N da

água para 15:1, seguindo-se as recomendações de Avnimelech (1999). Após vinte e três dias, volumes de 30 L de água do tanque de maturação do bioflocos foram transferidos para cada unidade experimental.

5.2.3 Delineamento experimental

No início do experimento, juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal de $2,20 \pm 0,04$ g, foram estocados nos tanques experimentais, na densidade de $50,6 \pm 0,9$ g de peixe/100 L. O cultivo dos animais foi realizado por 6 semanas. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições cada (Tabela 9), totalizando 30 tanques experimentais.

Os peixes foram ou não submetidos à restrição alimentar, tendo-se como referência as taxas de arraçamento apresentadas na Tabela 10. Em C, não se fez nenhuma restrição alimentar, ou seja, os animais receberam as quantidades totais de ração previstas na Tabela 10. Nos tratamentos R00, R06, R12, R24 e R12M, restringiu-se a oferta alimentar em 25%, tendo como referência o praticado em C. No tratamento R00, não houve adição de óleo de soja. Nos tratamentos R06, R12 e R24, incorporou-se, diariamente, 0,6%, 1,2% e 2,4% de óleo de soja na ração, respectivamente, tendo por base a quantidade de ração fornecida no dia. No tratamento R12M, adicionou-se 1,2% de óleo de soja, o qual foi previamente misturado ao melaço em pó. Esse percentual de 2,4% corresponde à metade do nível de inclusão de óleo de soja utilizado na dieta basal do trabalho de Sá *et al.* (2004). A partir daí, os outros dois tratamentos foram obtidos como a metade e 1/4 da referência inicial.

Tabela 9 – Delineamento experimental

Tratamento	Restrição alimentar	Adição de óleo de soja	Modo de incorporação do óleo de soja
C	0%	-	-
R00	25%	-	-
R06	25%	0,6%	Mistura à ração
R12	25%	1,2%	Mistura à ração
R24	25%	2,4%	Mistura à ração
R12M	25%	1,2%	Mistura ao melaço

Os peixes foram alimentados diariamente, quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, com ração comercial em pó para peixes tropicais (41,2% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará). Diariamente, antes do fornecimento da ração, realizavam-se as misturas das quantidades apropriadas de ração ou melaço com o óleo de soja. O ajuste da quantidade de ração ofertada diariamente foi feito após as biometrias parciais, realizadas a cada duas semanas (Tabela 2).

Tabela 10 - Tabela alimentar

Peso do juvenil (g)	Taxa de arraçoamento (% biomassa/dia)
2,0 - 2,5	10,5
2,5 - 3,0	9,8
3,0 - 3,5	9,0
3,5 - 4,5	8,3
4,5 - 5,5	7,5
5,5 - 7,0	6,8
7,0 - 9,0	6,0
9,0 - 16,0	5,6
16,0 - 20,0	5,3
20,0 - 25,0	4,5
25,0 - 30,0	3,8

Nos dias de realização das biometrias os animais não recebiam alimentação. A concentração de proteína bruta da ração comercial fornecida aos animais foi determinada no Laboratório de Nutrição Animal (Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará).

5.2.4 Manejo da relação C:N da água

Diariamente, ajustou-se a relação C:N da água para 15:1 pela aplicação de melaço em pó (Indumel, Biosev, Sertãozinho, SP), em todos os tanques experimentais. A quantidade de melaço aplicada em cada unidade foi determinada através da fórmula apresentada por Avnimelech (1999), que utiliza informações do manejo alimentar (% proteína bruta da ração e quantidade de ração ofertada diariamente).

5.2.5 Manejo de sólidos suspensos e da qualidade de água

Quando a concentração de sólidos sedimentáveis da água ultrapassava 30 mL L^{-1} , pela observação dos cones de Imhoff, removia-se 20% do volume do tanque para sedimentação dos sólidos, em um recipiente de 20 L, durante 30 minutos. Em seguida, o sobrenadante era devolvido ao respectivo tanque de cultivo, descartando-se o material sedimentado. O material descartado era posto em estufa e seco a 105°C por 24h para descarte como resíduo orgânico.

Bicarbonato de sódio foi aplicado à água para manutenção da alcalinidade total e pH em valores iguais ou superiores a $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3 \text{ eq.}$ e 7,0, respectivamente. Peróxido de hidrogênio foi utilizado, seguindo-se as recomendações de Furtado *et al.* (2014), como fonte emergencial de O_2 durante as interrupções da aeração mecânica da água, por falta de energia elétrica. Não se fez troca de água nos tanques de cultivo ao longo de todo o período experimental, apenas reposição de água para manutenção do nível inicial.

5.2.6 Monitoramento de variáveis de qualidade de água

Variáveis físico-químicas de qualidade de água foram monitoradas, ao longo do experimento, da seguinte forma: pH (medidor de pH mPA210 - MS TecnoPON®), temperatura (termômetro), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI 55) e condutividade elétrica (condutivímetro CD-850) da água foram determinados, diariamente, às 9 h. Semanalmente, foram determinadas as concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT – método do Indofenol), nitrito (método da sulfanilamida), nitrato (método da coluna redutora de Cádmio) e alcalinidade total (titulação com solução-padrão de H_2SO_4); quinzenalmente, foram realizadas determinações de CO_2 livre (titulação com solução-padrão de Na_2CO_3), dureza total (titulação com solução-padrão de EDTA), fósforo reativo (método do azul de molibdênio); ferro dissolvido (método colorimétrico de Herapath) e matéria orgânica (método do oxigênio consumido),

As determinações de qualidade de água foram realizadas conforme as metodologias descritas por Sá (2015). As concentrações de sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis foram determinadas, semanalmente, seguindo-se as recomendações de Boyd e Tucker (1992).

5.2.7 Coleta e composição centesimal dos bioflocos

As coletas da biomassa de bioflocos foram realizadas um dia após última biometria realizada, e realizou-se os procedimentos abaixo:

1. Dois litros de água foram coletados de cada tanque, realizando-se a mistura das águas de um mesmo tratamento (10 L/tratamento). Em seguida, distribuiu-se a água em cones *Imhoff* para sedimentação por 30 minutos;
2. O sobrenadante foi descartado e a biomassa de bioflocos transferida para um cano de PVC de 100 mm com uma malha de 40 µm, para redução do excesso de água;
3. A biomassa retida na malha foi distribuída em placas de Petri de vidro e colocadas em estufa para secagem, a 105°C, por 12 h. Posteriormente, a biomassa seca foi macerada e utilizada nas determinações de extrato etéreo e proteína bruta.

As amostras de biomassa de bioflocos foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal, pertencente ao Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará), para determinação da composição centesimal (AOAC, 2000). As seguintes variáveis bromatológicas foram determinadas: umidade (secagem em estufa a 105°C por 24 h); proteína bruta (método Kjeldahl); extrato etéreo (método Soxhlet) e cinzas (incineração em forno mufla, a 550 °C por 4 h).

5.2.8 Monitoramento de variáveis zootécnicas

As seguintes variáveis de desempenho zootécnico foram observadas no presente trabalho (BUSACKER *et al.*, 1990; CAVALCANTE *et al.*, 2017): sobrevivência, peso corporal final, ganho em peso semanal, taxa de crescimento específico ($TCE = [(\ln \text{ peso corporal final} - \ln \text{ peso corporal inicial}) / n^\circ \text{ de dias de cultivo}] \times 100$), produtividade de pescado), fator de conversão alimentar ($FCA = \text{ração fornecida (g)} / \text{ganho em peso (g)}$) e taxa de eficiência proteica ($TEP = \text{ganho em peso (g)} / \text{proteína bruta fornecida (g)}$). Biometrias quinzenais dos peixes foram realizadas para o ajuste das quantidades de ração e melão fornecidos em cada tanque.

5.2.9 Análise estatística

Os resultados de qualidade de água, desempenho produtivo e composição bromatológica foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) unifatorial para

experimentos inteiramente casualizados. Quando constatada diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas duas a duas pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5%. As pressuposições de distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variância (teste de Levene) foram checadas antes das análises. Os dados em percentagem e razão foram analisados após transformação para arcosseno. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Qualidade de água

Não foram observadas diferenças significativas entre as temperaturas das águas dos tanques de cultivo, as quais, em média, foram iguais a $26,8 \pm 0,33^\circ\text{C}$. A temperatura da água variou entre $26,2$ e $27,9^\circ\text{C}$, durante o período experimental. A concentração média de oxigênio dissolvido na água foi igual a $6,52 \pm 0,18 \text{ mg L}^{-1}$, com valores de mínimo e máximo iguais a $6,22$ e $6,74 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$; Tabela 11).

Tabela 11 – Oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e alcalinidade total da água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; $n = 5$).

Tratamento ¹	Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	pH	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Alcalinidade total ($\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$)
C	$6,22 \pm 0,18$	$7,25 \pm 0,15$	$1209 \pm 57 \text{ a}^2$	$122,2 \pm 15,7$
R00	$6,60 \pm 0,33$	$7,38 \pm 0,26$	$1110 \pm 35 \text{ b}$	$129,3 \pm 13,2$
R06	$6,74 \pm 0,36$	$7,38 \pm 0,22$	$1099 \pm 40 \text{ b}$	$136,3 \pm 19,2$
R12	$6,51 \pm 0,24$	$7,43 \pm 0,28$	$1088 \pm 38 \text{ b}$	$128,3 \pm 10,5$
R24	$6,47 \pm 0,25$	$7,36 \pm 0,28$	$1101 \pm 49 \text{ b}$	$124,2 \pm 29,6$
R12M	$6,60 \pm 0,27$	$7,39 \pm 0,16$	$1072 \pm 53 \text{ b}$	$128,3 \pm 12,2$
P-valor	ns ³	ns	<0,05	ns

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

Ao final do cultivo, não foram observadas diferenças entre os tratamentos experimentais para o pH e alcalinidade total da água ($p > 0,05$), em tanques submetidos ou não à restrição alimentar e suplementados ou não com níveis crescentes de óleo de soja (Tabela 11). Em média, o pH e alcalinidade total da água foram iguais a $7,37 \pm 0,06$ e $128,1 \pm 4,9 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, respectivamente. O uso de bicarbonato de sódio se mostrou eficiente para elevar os valores de pH e alcalinidade da água. A suplementação da dieta com óleo de soja não afetou a concentração de oxigênio dissolvido, o pH e a alcalinidade da água dos tanques de cultivo. Em sistemas BFT de aquicultura, a concentração de oxigênio dissolvido e a alcalinidade da água interferem de modo significativo na estabilidade do meio de cultivo. A redução da alcalinidade e do O_2 afetam a comunidade microbiana e o crescimento dos peixes e camarões cultivados (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006).

A manutenção de níveis adequados de oxigênio dissolvido em tanques BFT deve ser constante. A demanda por O_2 aumenta com as entradas de ração e melaço. De igual modo, o acúmulo de fezes e o crescimento da biomassa microbiana e da concentração de sólidos suspensos removem intensamente O_2 da água. Em tanques BFT *indoor*, a taxa de respiração da água é de quase $6 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (HARGREAVES, 2013). Os sistemas BFT para aquicultura requerem até 150 hp ha^{-1} de aeração mecânica para atender a demanda por O_2 e manter os bioflocos suspensos na água (HARGREAVES, 2013). Atenção especial deve ser dada ao monitoramento do pH e alcalinidade da água que tendem a cair ao longo do cultivo. A atividade das bactérias heterotróficas reduz as concentrações de bicarbonatos e carbonatos da água. Além dessas, bactérias autotróficas nitrificantes, que realizam a oxidação da amônia até nitrato, desenvolvem-se em tanques BFT, consumindo O_2 e alcalinidade da água. Por isso, faz-se necessário adicionar fontes alcalinizantes aos tanques BFT de cultivo, tal como o bicarbonato de sódio, que eleva o pH e a alcalinidade da água. Segundo Martins *et al.* (2017), o bicarbonato de sódio e hidróxido de cálcio corrigem a alcalinidade e o pH da água de tanques BFT, com a utilização de menores quantidades, proporcionando maior crescimento aos animais cultivados. Portanto, o produtor deve ajustar, frequentemente, o pH e a alcalinidade da água para melhor desempenho zootécnico.

A condutividade elétrica da água dos tanques não submetidos à restrição alimentar (tratamento C) foi significativamente maior do que o observado nos demais tratamentos, que não diferiram entre si ($p < 0,05$; Tabela 11). A condutividade elétrica da água indica a capacidade do meio em conduzir a corrente elétrica, a partir da presença de íons dissolvidos. Os peixes submetidos à restrição alimentar exibiram menor crescimento corporal em relação aos demais. A menor entrada de ração gerou menos matéria orgânica que, após mineralização, liberou

menos íons para água, isto é, menor condutividade elétrica. Os resultados do presente trabalho foram semelhantes aos obtidos por Lima *et al.* (2021).

A dureza total da água de cultivo foi maior ($p < 0,05$) nos tanques nos quais não se realizou restrição alimentar (C), quando comparado aos tanques com restrição alimentar de 25% (Tabela 12). A dureza total reflete as concentrações de cálcio e magnésio dissolvidos na água. O arraçamento dos tanques afeta a dureza da água porque a ração contém cálcio e magnésio em sua constituição. Nos tanques com restrição alimentar, as ofertas de ração foram menores, reduzindo, com isso, as entradas de cálcio e magnésio na água.

Não houve diferenças significativas para concentração de CO_2 livre na água, entre os tanques nos diferentes tratamentos (Tabela 12). Embora não tenha havido significância estatística, as concentrações de CO_2 livre caíram nos tanques com restrição alimentar. Com a menor entrada de ração, as concentrações de matéria orgânica na água caíram que, ao ser decomposta, liberou menos CO_2 para a água. Esses resultados divergem dos observados por Lima *et al.* (2021) que não encontraram efeito da restrição alimentar sobre as concentrações de CO_2 livre da água.

Tabela 12 – Dureza total, concentração de CO_2 livre, fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; $n = 5$).

Tratamento ¹	Dureza total ($\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$)	CO_2 livre (mg L^{-1})	Fósforo reativo (mg L^{-1})	Ferro dissolvido (mg L^{-1})	Matéria Orgânica (mg L^{-1})
C	221,6 \pm 11,5 a ²	14,4 \pm 1,8	3,37 \pm 0,30 a	2,15 \pm 0,27 a	602 \pm 22 a
R00	183,0 \pm 8,9 b	11,2 \pm 1,9	2,64 \pm 0,34 b	1,73 \pm 0,13 b	541 \pm 29 b
R06	182,3 \pm 13,2 b	11,4 \pm 1,9	2,65 \pm 0,21 b	1,74 \pm 0,13 b	547 \pm 18 b
R12	178,9 \pm 11,3 b	11,8 \pm 2,1	2,74 \pm 0,28 ab	1,72 \pm 0,17 b	550 \pm 21 b
R24	181,0 \pm 9,7 b	11,8 \pm 2,6	2,72 \pm 0,26 b	1,71 \pm 0,12 b	559 \pm 30 ab
R12M	180,6 \pm 12,0 b	12,1 \pm 2,0	2,73 \pm 0,35 b	1,66 \pm 0,31 b	552 \pm 18 b
P-valor	<0,05	ns ³	<0,05	<0,05	<0,05

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

A concentração de fósforo reativo da água diferiu de modo significativo entre os tratamentos. Os tanques que não passaram por restrição alimentar (C) apresentaram maiores ($p < 0,05$) concentrações de fósforo reativo na água do que aqueles que foram submetidos à

restrição alimentar, excetuando-se as unidades com suplementação de 1,2% de óleo de soja (Tabela 12). Resultados semelhantes foram observados por Cavalcante *et al.* (2017) que atribuíram a maior concentração de fósforo reativo, em tanques BFT sem restrição alimentar, à maior mineralização da matéria orgânica. As rações comerciais para peixes podem conter até 2% de fósforo em sua composição. A ração não consumida e as fezes dos animais, após decomposição, liberam fósforo para a água. Com a restrição alimentar, menos fósforo é liberado no meio de cultivo. Segundo da Silva *et al.* (2013), os tanques BFT tendem a acumular fósforo proveniente da fertilização e alimentação. Esses autores afirmam que concentrações elevadas de fósforo na água não são tóxicas aos peixes cultivados, mas podem favorecer o crescimento de cianobactérias e causar eutrofização dos corpos d'água receptores.

A concentração de ferro dissolvido na água foi maior ($p < 0,05$) nos tanques sem restrição alimentar (C) do que nos outros grupos experimentais, que não diferiram entre si. Nos tanques com restrição alimentar, observou-se menor concentração de ferro na água por conta da menor entrada da ração. Minerais como ferro, cobre e zinco são exigidos pelo metabolismo de peixes e camarões. Assim, dietas deficientes nesses minerais podem ocasionar efeitos deletérios ao organismo animal. Por isso, as rações comerciais são suplementadas com macro e microminerais. Em sistemas de cultivo fechado, o acúmulo de minerais na água favorece a retenção desses elementos nos tecidos animais e nos bioflocos (KUHN *et al.*, 2017; BAKHSHI *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2018).

Os tanques de cultivo em que se fez restrição alimentar apresentaram maiores concentrações de matéria orgânica na água do que o observado nos tanques sem restrição alimentar, com exceção dos tanques que receberam a maior aplicação de óleo de soja (2,4%; Tabela 12). Nos tanques experimentais com restrição alimentar e suplementação crescente de óleo de soja na ração e melaço, a concentração de matéria orgânica na água não diferiu entre os tratamentos ($p > 0,05$). Os peixes submetidos à restrição alimentar de 25% exibiram menor crescimento corporal. Nesses tanques, as entradas de ração e melaço; o acúmulo de sólidos suspensos foram menores. Com isso, houve queda nas concentrações de matéria orgânica na água. Resultados semelhantes a esses foram obtidos por Cavalcante *et al.* (2017) e Lima *et al.* (2021), em tanques BFT.

Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações finais de NAT , NO_2^- e NO_3^- na água, entre os tanques experimentais ($p > 0,05$; Tabela 13). Essas variáveis apresentaram valores médios, mínimo e máximo iguais $0,08 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ (0,05; 0,10); $0,80 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$ (0,75; 0,91); $14,94 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$ (14,49; 15,47), respectivamente. Os bioflocos absorvem amônia e melhoram a qualidade da água em tanques BFT (DE SCHRYVER *et al.*,

2008; AVNIMELECH, 2009). No presente trabalho, as concentrações de NAT não foram afetadas nem pela restrição alimentar, nem pela suplementação da ração com de óleo de soja. Os bioflocos que foram inoculados no início do experimento contribuíram para rápida maturação da microbiota nos tanques, o que favoreceu a redução do NAT na água. Em estudo realizado com o uso de dietas para juvenis de *L. vannamei*, deficientes em ácidos graxos essenciais (AGE) e aminoácidos (AAE), Castro, Pinto e Nunes (2021) observaram concentrações de NAT abaixo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ao final do cultivo.

Tabela 13 – Concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) na água, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; $n = 5$).

Tratamento ¹	NAT (mg L^{-1})	NO_2^- (mg L^{-1})	NO_3^- (mg L^{-1})	SS (mL L^{-1})	SST (mg L^{-1})
C	$0,08 \pm 0,06$	$0,91 \pm 0,26$	$14,98 \pm 0,78$	$180,0 \pm 27,4 \text{ a}^2$	$744 \pm 26,1$
R00	$0,06 \pm 0,05$	$0,75 \pm 0,29$	$15,47 \pm 0,79$	$130,0 \pm 44,7 \text{ ab}$	$684 \pm 48,3$
R06	$0,05 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,36$	$14,88 \pm 0,67$	$113,6 \pm 34,3 \text{ ab}$	$678 \pm 43,2$
R12	$0,10 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,35$	$14,78 \pm 0,58$	$111,6 \pm 36,9 \text{ ab}$	$698 \pm 32,7$
R24	$0,06 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,24$	$14,48 \pm 0,51$	$101,6 \pm 30,4 \text{ b}$	$684 \pm 16,7$
R12M	$0,10 \pm 0,06$	$0,76 \pm 0,37$	$15,05 \pm 0,59$	$114,0 \pm 49,8 \text{ ab}$	$680 \pm 46,4$
P-valor	ns ³	ns	ns	<0,05	ns

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

O nitrito é formado pela oxidação parcial da amônia, pelas bactérias aeróbias do gênero *Nitrosomonas*, ou pela redução anaeróbia do nitrato. As concentrações de nitrito na água de cultivo dos peixes excederam $0,3 \text{ mg L}^{-1}$, nível a partir do qual ocorre estresse animal (SÁ, 2012). O peixe pode absorver o nitrito do meio pelas brânquias ou pelo epitélio intestinal. No organismo animal, o nitrito oxida o ferro da molécula de hemoglobina que, nessa condição, passa a ser denominada metahemoglobina, que é incapaz de transportar O_2 até os tecidos. Por isso, o produtor deve ficar atento às concentrações de nitrito na água de cultivo. A aplicação de sal comum é um manejo válido para prevenir a toxicidade do nitrito em tanques de piscicultura. O íon cloreto compete com o nitrito pela assimilação branquial (GUTIÉRREZ *et al.*, 2019). Ferreira *et al.* (2020) sugerem que a aplicação da fonte suplementar de C orgânico somente

deve ser feita quando a concentração de NAT exceder os níveis tolerados pela espécie. Tal estratégia permitiria um melhor estabelecimento de bactérias nitrificantes e acarretaria menor formação de matéria orgânica.

A dinâmica de compostos nitrogenados na água indica que o processo de nitrificação ocorreu nos tanques do presente trabalho. Com isso, compostos nitrogenados tóxicos aos peixes (NH_3 e NO_2^-) foram transformados em formas menos prejudiciais (NO_3^-). Na primeira etapa da nitrificação, as bactérias do gênero *Nitrosomonas* oxidam a amônia para obtenção de energia necessária para quimiossíntese, havendo a liberação de nitrito. Na segunda etapa, surge o nitrato na água, a partir da ação das bactérias do gênero *Nitrobacter* que realizam a oxidação do nitrito. A nitrificação demanda oxigênio dissolvido e alcalinidade do meio. Portanto, o produtor deve fornecer O_2 e aplicar bicarbonatos aos tanques para alcançar um melhor desenvolvimento do sistema de cultivo. Estudos demonstraram que as bactérias nitrificantes se desenvolvem em tanques BFT, mesmo com a aplicação de fontes suplementares de carbono para o crescimento das bactérias heterotróficas (AZIM; LITTLE, 2008; XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; SOUZA *et al.*, 2019). Dietas com níveis crescentes de lipídios não afetaram as concentrações de N-NO_3^- da água (TOLEDO *et al.*, 2016; HAMIDOGHLI *et al.*, 2020).

Os tanques de cultivo sem restrição alimentar (C) apresentaram concentração de sólidos sedimentáveis (SS) na água significativamente maior do que o observado nos tanques com restrição alimentar e suplementação de 2,4% de óleo de soja na ração ($p < 0,05$; Tabela 13). Os demais tratamentos não diferiram de modo significativo entre si para concentração de SS na água. A concentração de SST na água não foi influenciada significativamente pela restrição alimentar e suplementação de óleo de soja na ração ou melaço (Tabela 13). A concentração final média de SST na água foi igual a $694 \pm 25,2 \text{ mg L}^{-1}$, com valores de mínimo e máximo iguais a 678 e 744 mg L^{-1} , respectivamente. A concentração de sólidos nos tanques com restrição alimentar apresentou tendência de redução. Nesses tanques, a menor oferta de ração fez cair a formação de bioflocos e a liberação de fezes de peixes. Com isso, houve redução na concentração de sólidos em suspensão na água. Gallardo-Collí *et al.* (2020) estudaram o ganho compensatório da tilápia do Nilo, mantida em tanques BFT, tendo observado concentrações menores de SS na água quando o período de restrição alimentar era maior. No presente trabalho, o aumento na concentração de lipídios na dieta não afetou a concentração de sólidos na água. De modo semelhante, Toledo *et al.* (2016) e Hamidoghli *et al.* (2020) também não encontraram efeito significativo do aumento do nível lipídico da dieta sobre as concentrações de SST na água. O fornecimento de alimento artificial é o fator que tem maior influência sobre a

concentração de sólidos em tanques de aquicultura. Taxas restritivas de arraçoamento favoreceram reduções nos níveis de SS e SST em tanques BFT de cultivo de tilápia do Nilo (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2020).

De um modo geral, apenas a restrição alimentar afetou a qualidade da água dos tanques BFT de tilápia, no presente estudo. A suplementação da ração comercial com óleo de soja não influenciou, de modo relevante, nenhuma das variáveis de qualidade de água monitoradas no trabalho. A suplementação da dieta não melhorou significativamente o crescimento dos peixes quando houve restrição do alimento artificial. Caso a suplementação da dieta com óleo de soja tivesse melhorado o desempenho dos peixes, o produtor poderia fazer uso dessa estratégia sem comprometer a qualidade de água. Esses resultados sugerem que a restrição parcial da oferta alimentar dos peixes poderia minimizar os efeitos do arraçoamento sobre a qualidade de água, em situações nas quais as variáveis limnológicas não estivessem adequadas.

5.3.2 Composição química dos bioflocos

Os resultados das determinações de composição centesimal dos bioflocos estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Composição centesimal de bioflocos, após 6 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja. Os resultados de proteína, extrato etéreo e cinzas estão apresentados na base seca (média \pm d.p.; n = 5).

Tratamento ¹	Umidade (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
C	91,24 \pm 1,79	18,56 \pm 0,48	0,90 \pm 0,10	8,45 \pm 0,48
R00	91,99 \pm 1,42	18,33 \pm 0,41	0,80 \pm 0,10	8,18 \pm 0,54
R06	92,45 \pm 1,11	18,31 \pm 0,39	0,81 \pm 0,11	8,28 \pm 0,56
R12	92,11 \pm 1,52	18,37 \pm 0,24	0,80 \pm 0,13	8,30 \pm 0,62
R24	91,37 \pm 1,60	18,31 \pm 0,33	0,83 \pm 0,08	8,38 \pm 0,38
R12M	92,20 \pm 1,76	18,26 \pm 0,30	0,75 \pm 0,09	8,13 \pm 0,63
P-valor	ns	ns ²	ns	ns

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Não significativo (p>0,05).

Não foram observados efeitos significativos da restrição alimentar e da

suplementação da ração com óleo de soja sobre as variáveis de composição centesimal. Pouco mais de 8% da biomassa dos bioflocos é matéria seca, não tendo havido diferenças relevantes entre os tratamentos. A concentração de proteína bruta dos bioflocos foi semelhante entre os tratamentos ($p > 0,05$), com valor médio igual a $18,36 \pm 0,32\%$ (base seca). A concentração lipídica dos bioflocos, estimada pelo extrato etéreo, variou de 0,75 a 0,90%, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

A restrição alimentar e a suplementação da ração com óleo não afetaram o teor de cinzas dos bioflocos, cujo valor médio foi de $8,29 \pm 0,47\%$. Esses resultados indicam que a suplementação da ração com óleo de soja não aprimorou o valor nutricional dos bioflocos, principalmente quanto aos teores proteicos e lipídicos. Sob restrição alimentar, o desempenho zootécnico da tilápia não foi melhorado pela suplementação da dieta com óleo de soja. Os bioflocos, portanto, não foram capazes de suprir as necessidades nutricionais quando houve diminuição na oferta de ração comercial. A inclusão de mais óleo de soja na dieta da tilápia poderia fornecer uma quantidade de ácidos graxos capaz de beneficiar o crescimento da tilápia, em regime de restrição alimentar. As concentrações de proteína e lipídios dos bioflocos podem ter sido negativamente afetadas pelas aplicações de peróxido de hidrogênio aos tanques. Essas aplicações foram necessárias para evitar a morte dos peixes pela interrupção no fornecimento de aeração mecânica, devido à falta de energia elétrica no laboratório.

A composição nutricional dos bioflocos pode ser influenciada por alguns fatores, tais como a diversidade da comunidade microbológica (EBELING *et al.*, 2006; CRAB *et al.*, 2010) e a fonte de carbono orgânico utilizada (BAKHSHI *et al.*, 2018; WEI; LIAO; WANG, 2016). Os bioflocos apresentam, de modo geral baixas concentrações lipídicas (LUO *et al.*, 2014; KUHN; LAWRENCE; CROCKETT; TAYLOR, 2016; RAJKUMAR *et al.*, 2016; KHANJANI *et al.*, 2017). Lima *et al.* (2021) investigaram os efeitos da suplementação da ração comercial com DL-metionina sobre o crescimento de juvenis de tilápia do Nilo, tendo relatado níveis de proteína bruta de 31-32% e lipídios de 2,0-2,2%. Toledo *et al.* (2016) avaliaram níveis crescentes de lipídios em dietas para *L. vannamei* (8,5; 9,5 e 10,5%), não havendo encontrado diferenças significativas para a composição centesimal dos bioflocos. Nesse estudo, os teores de proteína bruta e lipídios variaram de 20,9 - 21,4% e 4,2 - 4,4%, respectivamente. Hamidoghli *et al.* (2020) também não observaram efeitos significativos de dietas para o *L. vannamei*, com níveis crescentes de lipídios, sobre a composição centesimal do bioflocos. Esses autores observaram uma redução no teor de lipídios dos bioflocos de 3,5 para 0,41%. A concentração de lipídios nos bioflocos do presente estudo foi semelhante ao observado por Rajkumar *et al.* (2016), com 0,57–0,92%, mas superiores ao relatado por Bauer *et al.* (2012), com apenas 0,3%.

Da Silva *et al.* (2020) constataram que a redução da taxa de alimentação em 50% reduziu o teor de proteína bruta dos bioflocos, mas não afetou o percentual de extrato etéreo.

5.3.3 Desempenho zootécnico

No geral, o desempenho zootécnico dos juvenis de tilápia, mantidos em tanques BFT sob restrição alimentar, não foi beneficiado pela suplementação da ração comercial com óleo de soja. Portanto, houve incremento no custo de produção, sem a obtenção de nenhum benefício adicional. As despesas com a alimentação de peixes e camarões cultivados representa mais de 50% dos custos operacionais de produção. Um menor uso de ração balanceada aumentaria a sustentabilidade econômica da fazenda e liberaria menos efluentes ricos em nitrogênio e fósforo (KUHN; LAWRENCE; CROCKETT; TAYLOR, 2016). Níveis moderados de restrição alimentar podem ser empregados sem que ocorra prejuízo ao desempenho produtivo da tilápia do Nilo cultivada em tanques BFT (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2020; HISANO *et al.*, 2020). Todavia, os bioflocos presentes nos tanques devem possuir qualidade nutricional adequada, especialmente quanto aos níveis de aminoácidos e ácidos graxos essenciais.

Tabela 15 – Sobrevivência, peso corporal final (PCf), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho em peso semanal (GPS) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, após 6 semanas de cultivo em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; n = 5).

Tratamento ¹	Sobrevivência (%)	PCf (g)	TCE (% dia ⁻¹)	GPS (g)
C	87,83 \pm 7,14	12,92 \pm 0,69 a ²	4,19 \pm 0,18 a	1,78 \pm 0,12 a
R00	80,87 \pm 5,83	11,52 \pm 0,50 b	3,95 \pm 0,10 ab	1,56 \pm 0,08 b
R06	81,74 \pm 3,64	11,40 \pm 0,64 b	3,89 \pm 0,18 b	1,53 \pm 0,11 b
R12	82,61 \pm 4,35	11,56 \pm 0,55 b	3,97 \pm 0,14 ab	1,56 \pm 0,09 b
R24	80,87 \pm 3,89	11,57 \pm 0,32 b	3,95 \pm 0,11 ab	1,56 \pm 0,06 b
R12M	82,61 \pm 5,32	10,93 \pm 0,81 b	3,82 \pm 0,17 b	1,46 \pm 0,13 b
P-valor	ns ³	<0,05	<0,05	<0,05

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); ³ Não significativo (p>0,05).

A sobrevivência dos peixes variou entre 81 - 88%, não tendo se observado efeitos

significativos da restrição alimentar e suplementação de óleo de soja ($p > 0,05$; Tabela 15). Isso indica que a restrição alimentar praticada de 25% não afetou a sobrevivência dos peixes e que parte da nutrição dos animais pode ter provido da ingestão de bioflocos. Diversos trabalhos verificaram que a sobrevivência da tilápia do Nilo não foi afetada, em tanques BFT, para restrição na oferta de ração alimentar de até 50% (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2020).

A restrição alimentar afetou negativamente e de modo significativo o peso corporal final e o ganho em peso semanal dos animais. A taxa de crescimento específico (TCE) dos peixes mantidos nos tanques sem restrição alimentar foi maior ($p < 0,05$) que a TCE dos tratamentos com suplementação de 0,6 e 1,2% de óleo de soja, quando adicionados na ração e melação (R06; R12M), respectivamente (Tabela 15). As unidades nas quais houve adição de 0%, 1,20% e 2,4% de óleo de soja na ração não diferiram do grupo-controle ($p > 0,05$).

O peso corporal final, a taxa de crescimento específico, o ganho em peso semanal e a produtividade de pescado caíram de modo significativo com a restrição alimentar (Tabelas 15 e 16). A suplementação da ração com óleo de soja não foi capaz de recuperar a redução desses índices zootécnicos. Os teores de proteína bruta e extrato etéreo dos bioflocos foram moderadamente baixos. Por isso, a ingestão dos bioflocos pelos peixes não forneceu ao organismo os nutrientes necessários para proporcionar melhor desempenho animal. De modo diferente, Lima *et al.* (2021) observaram que juvenis de tilápia, mantidas em tanques BFT, podem ser alimentadas com restrição na oferta da ração comercial em 25%, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação da dieta com, pelo menos, 1% de DL-metionina. A suplementação com DL-metionina foi realizada pelo fato dos bioflocos serem deficientes nesse aminoácido essencial (EKASARI *et al.*, 2014; VALLE *et al.*, 2015). Os bioflocos também são deficientes em lipídios e em alguns ácidos graxos essenciais (LUO *et al.*, 2014; DANTAS *et al.*, 2016; KHANJANI *et al.*, 2017). No presente estudo, a suplementação lipídica não foi suficiente para suprir as necessidades dos peixes por lipídios e ácidos graxos essenciais, quando submetidos à restrição na oferta de ração comercial.

Ainda não se sabe até que ponto os bioflocos são capazes de satisfazer as exigências nutricionais dos peixes e camarões em cativeiro. Segundo Avnimelech (2007), os bioflocos podem ser usados como suplemento alimentar quando houver diminuição na oferta de ração balanceada. Pérez-Fuentes *et al.* (2018) avaliaram quatro níveis de restrição na oferta de dieta artificial (0, 10, 20, 30 e 40%) para juvenis de tilápia do Nilo, mantidos durante 4 meses em tanques BFT. Nesse trabalho, os níveis de restrição superiores a 20% reduziram o peso final, ganho em peso e o ganho em peso semanal. Logo, a tilápia em tanques BFT consegue manter

o desempenho zootécnico inalterado apenas até certo limite de restrição na oferta da ração comercial. Nesse sentido, Da Silva *et al.* (2020) estudaram a frequência de alimentação e restrição alimentar em tanques BFT de juvenis de tilápia, concluindo que somente a restrição na oferta de ração afetou o desempenho animal. Em tanques BFT, o peso final e ganho de peso semanal do *L. vannamei* não foram influenciados pelo teor lipídico da dieta (8,5; 9,5 e 10,5%) (TOLEDO *et al.*, 2016). Nesse estudo, os bioflocos continham níveis significativos de ácidos graxos ω -3 de cadeia longa, o que permitiu menor redução no lipídico na dieta, sem prejuízo zootécnico. As dietas artificiais para tilápia contêm de 5 a 12% de lipídios totais, devendo estar presentes ácidos graxos n-6 (18: 2n-6 ou 20: 4n-6) (LIM; YILDIRIM-AKSOY; KLESIOUS, 2011).

A produtividade de pescado, nos tanques sem restrição alimentar, foi significativamente maior em relação aos demais tanques experimentais (Tabela 16). Nos tanques submetidos à restrição na oferta de alimento artificial, a suplementação da ração ou do melaço com níveis crescentes de óleo de soja não afetou a produtividade de pescado ($p > 0,05$). Os resultados finais de FCA e a TEP, na média, foram iguais a $1,43 \pm 0,07$ e $1,77 \pm 0,09$, respectivamente, não havendo efeitos significativos da restrição alimentar e da suplementação de óleo de soja sobre essas variáveis ($p > 0,05$).

Tabela 16 – Produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA) e taxa de eficiência proteica (TEP) de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, após 6 semanas de cultivo em tanques BFT de 100 L, submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de óleo de soja (média \pm d.p.; n = 5).

Tratamento ¹	Produtividade de pescado (g m ⁻³ dia ⁻¹)	FCA	TEP
C	61,93 \pm 2,60 a ²	1,56 \pm 0,10	1,61 \pm 0,10
R00	50,95 \pm 2,89 b	1,41 \pm 0,12	1,79 \pm 0,14
R06	51,11 \pm 4,66 b	1,39 \pm 0,17	1,82 \pm 0,23
R12	52,21 \pm 2,14 b	1,36 \pm 0,10	1,85 \pm 0,14
R24	51,27 \pm 3,29 b	1,38 \pm 0,15	1,82 \pm 0,19
R12M	49,27 \pm 1,96 b	1,47 \pm 0,09	1,71 \pm 0,11
P-valor	<0,05	ns ³	ns

¹ C: controle experimental. Não houve restrição alimentar, nem suplementação da ração com óleo de soja; R00, R06, R12, R24: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, e suplementação da ração comercial com óleo de soja em 0,0%; 0,6%; 1,2% e 2,4%, respectivamente. R12M: restrição alimentar de 25%, em relação ao praticado em C, suplementação com óleo de soja em 1,2% e incorporação do óleo ao melaço. ² Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ³ Não significativo ($p > 0,05$).

Os resultados de FCA e TEP sugerem que os peixes aproveitam melhor o alimento

natural quando o fornecimento de ração balanceada é diminuído. Além disso, taxas restritivas de alimentação aumentam as atividades das enzimas digestivas que melhoraram a utilização da ração (BALOI *et al.*, 2017). Os resultados de FCA e TEP obtidos por Pérez-Fuentes *et al.* (2018) foram iguais a 1,07 e 2,69, respectivamente, para o mesmo nível de restrição da dieta (25%), sendo valores melhores aos observados no presente estudo.

A suplementação da ração da tilápia com óleo de soja não melhorou o FCA, nem a TEP dos animais. Essa constatação sugere que os aportes de energia digestível e de ácidos graxos essenciais, via suplementação, foram insuficientes para compensar as deficiências existentes nos bioflocos. Segundo Castro, Pinto e Nunes (2021), a ração balanceada tem grande influência sobre a nutrição e o crescimento de juvenis de *L. vannamei*, mantidos em tanques de bioflocos. Esses autores afirmam que os flocos microbianos fornecem quantidades limitadas de nutrientes essenciais aos camarões, atuando apenas como suplemento alimentar. Além disso, efeitos negativos sobre o desempenho dos camarões são esperados caso se limite o aporte de ácidos graxos essenciais, em tanques BFT de criação.

5.4 CONCLUSÃO

A suplementação da ração comercial dos juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT submetidos à restrição na oferta de alimento artificial, com níveis crescentes de óleo de soja, não foi capaz de impedir a redução significativa da taxa de desempenho animal. Portanto, a suplementação da ração ou do melaço com óleo de soja não corrigiu as notórias deficiências nutricionais dos bioflocos para lipídios, como inicialmente conjecturado. Ao final do período experimental, o teor de lipídios dos bioflocos permaneceu muito reduzido, abaixo de 1%. Esse resultado demonstra que não houve enriquecimento lipídico dos bioflocos com a suplementação do óleo. As variáveis de qualidade de água não foram influenciadas pela suplementação de óleo de soja na ração.

6 SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA ARTIFICIAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, *Oreochromis niloticus*, MANTIDOS EM TANQUES BFT, COM DL-METIONINA E ÓLEO DE SOJA

6.1 INTRODUÇÃO

A adoção do sistema BFT (*Biofloc Technology*) para aquicultura tem crescido nas fazendas de peixes e camarões, por conta de sua maior produtividade, biossegurança e sustentabilidade ambiental. O sistema BFT, quando bem dimensionado e executado, gera grande economia no uso da água, já que possibilita a obtenção de elevadas produtividades, com trocas mínimas de água (KRUMMENAUER *et al.*, 2014; KRUMMENAUER *et al.*, 2016). Nos tanques BFT, adiciona-se uma fonte de C orgânico, de alta biodegradabilidade, quase isenta de N, com o objetivo de equilibrar a relação C:N da água e promover o crescimento de bactérias heterotróficas (AVNIMELECH, 2009). Essas bactérias absorvem e transformam amônia em proteína microbiana. Os tanques do sistema BFT desenvolvem microrganismos probióticos que conferem maior crescimento, produtividade e sanidade aos animais cultivados (FERREIRA *et al.*, 2015; LONG *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2018).

O floco microbiano, formado nos tanques BFT, pode ser ingerido por camarões e peixes, diminuindo, com isso, a demanda por dieta artificial (WASIELESKY *et al.*, 2006; De SCHRYVER *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2018). De acordo com algumas pesquisas, o consumo de bioflocos pelos animais cultivados permitiria reduzir a oferta de ração comercial em até 25%, sem prejuízo zootécnico (XU *et al.*, 2012; NAJDEGERAMI, BAKHSHI e LAKANI, 2016). Uma outra possibilidade seria diminuir o teor proteico da ração balanceada, sem alteração na oferta alimentar. Isso foi verificado no trabalho de Green *et al.* (2019), com o híbrido de tilápia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*). A biomassa seca dos bioflocos também poderia ser aproveitada como ingrediente das rações formuladas (KUHN *et al.*, 2009, 2016; BAUER *et al.*, 2012; VALLE *et al.*, 2015). Nesse caso, resultados zootécnicos mais satisfatórios seriam alcançados caso se fizesse a suplementação da dieta com alguns aminoácidos essenciais, em particular com metionina (BAUER *et al.*, 2012; VALLE *et al.*, 2015).

A importância dos bioflocos como alimento para aquicultura vai depender de sua qualidade nutricional. Os bioflocos podem ser boa fonte de proteínas, lipídios, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais (CRAB *et al.* 2010; XU *et al.* 2012; EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016; BECERRIL-CORTÉS *et al.*, 2018; PROMTHALE *et al.*, 2019). A qualidade nutricional dos bioflocos varia em função de alguns fatores, tais como a composição

de microrganismos, tamanho da partícula, fonte de C orgânico e físico-química da água de cultivo (De SCHRYVER *et al.*, 2008; EKASARI *et al.*, 2014; WEI; LIAO; WANG, 2016). A concentração de proteína nos bioflocos pode ser baixa (9,6 – 13,7%; SABRY NETO; SANTAELLA; NUNES, 2015), intermediária (23,9 – 32,3%; WANG *et al.*, 2016) ou elevada (46,0 – 53,7%; RAJKUMAR *et al.*, 2016). Para o teor de lipídios, também foram encontrados valores bem distintos entre os estudos (0,6 – 0,92%; RAJKUMAR *et al.*, 2016; 7,2 – 9,1%; SABRY NETO; SANTAELLA; NUNES, 2015).

A qualidade nutricional dos bioflocos vai depender do seu perfil de aminoácidos e de ácidos graxos essenciais. Ekasari *et al.* (2014) descobriram que o tamanho dos flocos microbianos afeta a composição de aminoácidos essenciais, em especial a concentração de metionina, que geralmente ocorre em níveis abaixo dos exigidos pelo organismo animal. Estudos realizados com diferentes fontes de C, para ajuste da relação C:N da água, também observaram bioflocos deficientes em metionina (WEI; LIAO; WANG, 2016; LI *et al.*, 2018).

Além disso, a farinha de bioflocos pode ser deficiente em ácidos graxos essenciais, tal como ácido araquidônico (DANTAS *et al.*, 2016). Camarões *L. vannamei* criados em tanques BFT apresentaram menores níveis de ácidos graxos EPA e DHA, quando foram alimentados com dietas sem farinha de peixe (RAY; LEFFLER; BROWDY, 2019). Recentemente, Castro *et al.* (2021) avaliaram a possibilidade de reduzir os níveis de inclusão de farinha e óleo de peixe, em dietas para o *L. vannamei*, mantidos em tanques BFT. Esses autores constataram que os bioflocos apresentavam baixos teores de ácidos graxos polinsaturados, quando se reduziu o percentual de óleo de peixe na dieta. Além disso, as concentrações de lisina, leucina e metionina dos bioflocos foram menores nos tratamentos com baixa inclusão de farinha de peixe.

O fornecimento de alimentos sem o adequado balanceamento de nutrientes, como aminoácidos e ácidos graxos, pode prejudicar o crescimento dos peixes. A metionina é importante no controle do estado oxidativo (ELMADA *et al.*, 2016; SÉITÉ *et al.*, 2018) e atua como doador de metila e fonte de enxofre na biossíntese de cisteína e taurina (MICHELATO; FURUYA; GATLIN, 2018). Para juvenis de tilápia do Nilo, a exigência é de 0,75% (na presença de 0,15% de cistina) (NRC, 1993). A deficiência em ácidos graxos provoca retardo de crescimento, lesões de pele e problemas reprodutivos (SIKORSKI; KOLAKOWSKA, 2003). Os ácidos graxos essenciais n-6 e n-3 devem ser fornecidos via dieta para peixes de água doce, pelo fato de não sintetizarem de novo, em quantidade e velocidade suficientes. Takeuchi *et al.* (1983) determinaram que a tilápia do Nilo necessita apenas de PUFAs n-6, entre 0,5 a 1%, para o máximo crescimento.

Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da suplementação da dieta comercial

de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos em tanques BFT, com DL-metionina e óleo de soja, sobre a composição centesimal dos bioflocos, a qualidade da água dos tanques de criação e o desempenho animal.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Peixes e tanque de maturação de bioflocos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ciência e Tecnologia Aquícola - LCTA, Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. Juvenis masculinizados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso corporal de $2,06 \pm 0,08$ g, foram obtidos na fazenda São Pedro Aquicultura Ltda (Itaitinga, Ceará), e transportados até as instalações do laboratório. Ao chegar ao laboratório, os animais passaram por um período de aclimação de sete dias. Os peixes foram mantidos em um tanque circular de polietileno de 1000 L, com aeração constante da água. Logo após à chegada, os peixes foram submetidos a tratamento profilático com solução de permanganato de potássio, na concentração de 4 mg L^{-1} , por quarenta e oito horas. Posteriormente, aplicou-se na água solução de tiosulfato de sódio, na concentração de 4 mg L^{-1} , para neutralização do permanganato de potássio residual. Durante o período de aclimação, os peixes foram alimentados com ração comercial balanceada para peixes tropicais onívoros (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará), contendo 40% de proteína bruta, na taxa de 10% do peso vivo dia^{-1} , quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h. Concluído o período de aclimação, os peixes foram transferidos para os tanques experimentais.

Previamente, preparou-se um tanque, em separado, para formação de bioflocos maduros, tendo por objetivo o preenchimento dos tanques experimentais com água rica em bioflocos. Para tanto, um tanque de polietileno de 1000 L foi abastecido com água doce, descansada e aerada constantemente. Para acelerar a formação dos bioflocos, foram estocados 20 juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal médio de $50,6 \pm 10,5$ g, nesse tanque. Diariamente, os peixes do tanque de maturação de bioflocos receberam ração comercial para peixes tropicais onívoros (40% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará) fornecidas diariamente às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h. Os peixes receberam ração na quantidade de $7,5\%$ do peso vivo/dia. Para o ajuste da relação C:N da água para 15:1, foi aplicado melaço líquido, seguindo-se as recomendações de Avnimelech (1999). Ao final de 25 dias, trinta litros de água do tanque de maturação foram transferidos para cada unidade experimental.

Após o período de aclimatização, os juvenis de tilápia, com peso corporal de $2,62 \pm 0,14$ g, foram estocados nos tanques experimentais, na densidade de $52,3 \pm 2,9$ g de peixe/100 L. Os animais foram mantidos no sistema de cultivo por oito semanas.

6.2.2 Sistema de cultivo

O sistema de cultivo *indoor* do laboratório fica localizado em uma sala abrigada da incidência direta de raios solares. Esse sistema é composto por 30 tanques circulares de polietileno, com volume de 100 L cada. No preenchimento dos tanques, foram utilizados 70 L de água doce, descansada, oriunda da companhia de abastecimento municipal, e 30 L de água rica em bioflocos, proveniente do tanque de maturação. A água foi aerada de modo ininterrupto por um compressor radial, com potência de 2,5 CV. Em cada tanque, uma mangueira microporosa, com 25 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro, foi instalada e disposta de forma retilínea e central. Não se fez troca de água nos tanques de cultivo, durante todo o período experimental, apenas reposição de água para manutenção do nível inicial.

6.2.3 Delineamento experimental

Os tratamentos experimentais estão apresentados na Tabela 17 e são os seguintes:

1. **CSR**: grupo-controle, sem restrição na oferta de ração comercial e sem adição de DL-metionina e óleo de soja;
2. **CCR**: grupo-controle com restrição de 25% na oferta de ração comercial e sem adição de DL-metionina e óleo de soja;
3. **OS_{0,6}**: restrição de 25% na oferta de ração comercial e adição de 0,6% de óleo de soja na ração. Não se fez adição de DL-metionina;
4. **OS_{1,2}**: restrição de 25% na oferta de ração comercial e adição de 1,2% de óleo de soja na ração. Não se fez adição de DL-metionina;
5. **MET_{1,0}**: restrição de 25% na oferta de ração comercial e adição de 1,0% de DL-metionina 99% (MetAMINO®, Evonik Animal Nutrition Ltda.). Não se fez adição de óleo de soja na ração;
6. **OS_{0,6}MET_{1,0}**: restrição de 25% na oferta de ração comercial, adição de 1,0% de DL-metionina e 0,6% de óleo de soja na ração;
7. **OS_{1,2}MET_{1,0}**: restrição de 25% na oferta de ração comercial, adição de 1,0% de DL-metionina e 1,2% de óleo de soja na ração.

Os níveis de inclusão de óleo de soja foram definidos de acordo com a dieta basal do trabalho de Sá *et al.* (2004). As quantidades correspondentes de DL-metionina e/ou óleo de soja foram misturadas manualmente a ração antes do fornecimento aos peixes.

Tabela 17 – Delineamento experimental. Excetuando-se o controle-positivo (C_{SR}), restringiu-se a oferta de ração comercial em 25%, em todos os tratamentos, tendo como referência as taxas regulares de alimentação.

DL- metionina (%)	Óleo de soja (%)		
	0,0	0,6	1,2
0,0	C _{CR}	OS _{0,6}	OS _{1,2}
1,0	MET _{1,0}	OS _{0,6} MET _{1,0}	OS _{1,2} MET _{1,0}

O grupo-controle (C_{SR}) contava com seis repetições; os demais tratamentos com quatro repetições cada, totalizando 30 unidades experimentais. A duração do experimento foi de oito semanas.

A ração comercial para peixes tropicais (40,0% PB; Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará), nos diferentes tratamentos, foi ofertada diariamente aos animais, quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h. Semanalmente, as quantidades designadas de DL-metionina e óleo de soja eram incorporadas à ração, realizando-se a mistura manual do aminoácido sintético com a ração em pó. Quinzenalmente, biometrias parciais dos peixes eram realizadas para ajuste das quantidades de ração ofertada diariamente (Tabela 18). Os peixes não foram alimentados nos dias de realização das biometrias.

O teor de proteína bruta (PB) da ração foi determinada no Laboratório de Nutrição Animal (Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará), para determinação da proteína bruta (PB).

Tabela 18 - Tabela alimentar

Peso do juvenil (g)	Taxa de arraçoamento (% biomassa/dia)
2,5 - 3,0	9,8
3,0 - 3,5	9,0
3,5 - 4,5	8,3
4,5 - 5,5	7,5
5,5 - 7,0	6,8
7,0 - 9,0	6,0
9,0 - 16,0	5,6
16,0 - 20,0	5,3
20,0 - 25,0	4,5
25,0 - 30,0	3,8

6.2.4 Manejo da relação C:N, sólidos suspensos e qualidade de água

O ajuste da relação C:N da água para 15:1 foi realizado diariamente pela adição de melaço líquido, em todos os tanques experimentais, de acordo com Avnimelech (1999). Remoções de sólidos suspensos foram efetuadas quando a concentração de sólidos sedimentáveis da água ultrapassava 30 mL L⁻¹, pela observação de amostras de água em cones de *Imhoff*. Para isso, removia-se 20% do volume do tanque para sedimentação dos sólidos em balde, durante 30 minutos. Posteriormente, o líquido sobrenadante era devolvido ao tanque de cultivo, sendo descartado o material sedimentado. Quando necessário, foi aplicado bicarbonato de sódio à água para manutenção da alcalinidade total e pH em valores iguais ou superiores a 100 mg L⁻¹ CaCO₃ eq. e 7,0, respectivamente. Um produto químico comercial com a finalidade de realizar a oxigenação emergencial de água (Oxiaqua, Escama Forte, Aracati, Ceará) foi utilizado quando houve interrupção da aeração mecânica por falta de energia. As dosagens aplicadas seguiram as recomendações do fabricante.

6.2.5 Monitoramento de variáveis de qualidade de água

A Tabela 19 apresenta as informações sobre monitoramento da qualidade de realizado no decorrer do trabalho. As observações eram realizadas sempre pela manhã, entre 9 – 10 h.

Tabela 19 – Monitoramento da qualidade da água de cultivo dos peixes

Variável	Método	Periodicidade
pH	pHmetro mPA210 - MS Tecnopon®	diariamente
Temperatura	termômetro digital	diariamente
Oxigênio dissolvido	oxímetro YSI 55	diariamente
CE	condutivímetro CD-850	diariamente
Alcalinidade total	titulação (solução-padrão de H ₂ SO ₄)	semanalmente
Nitrogênio amoniacal total	indofenol	semanalmente
Nitrito	sulfanilamida	semanalmente
Nitrato	coluna redutora de Cádmio	semanalmente
Sólidos suspensos totais	filtração	semanalmente
Sólidos sedimentáveis	volumétrico (uso do cone <i>Imhoff</i>)	semanalmente
Gás carbônico	titulação (solução-padrão de Na ₂ CO ₃)	quinzenalmente
Dureza total	titulação (solução-padrão de EDTA)	quinzenalmente
Fósforo reativo	azul de molibdênio	quinzenalmente
Ferro dissolvido	colorimétrico de Herapath	quinzenalmente
Matéria orgânica	oxigênio consumido	quinzenalmente

As variáveis de qualidade de água seguiram as metodologias apresentadas em Sá (2015). As metodologias para determinação das concentrações de sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis foram obtidas em Boyd e Tucker (1992).

6.2.6 Coleta e composição centesimal dos bioflocos

Um dia após a biometria fina dos peixes, a biomassa de bioflocos foi coletada. Para obtenção da biomassa de bioflocos, coletou-se 1,66 L e 2,5 L de água de cada repetição dos tanques C_{SR} e dos demais grupos experimentais, respectivamente, fazendo-se o *pool* com as águas de um mesmo tratamento (10 L tratamento⁻¹). Posteriormente, a água foi colocada em cones *Imhoff* para sedimentação, por 30 minutos, descartando-se o sobrenadante. A biomassa sedimentada foi, em seguida, filtrada em malha de 40 µm. O material retido na malha foi distribuído em placas de Petri de vidro e colocadas em estufa para secagem, a 105°C, por 12 h. Após a secagem, a biomassa seca foi macerada e utilizada nas determinações de extrato etéreo e proteína bruta.

Para determinação da composição centesimal, as amostras de biomassa de bioflocos foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal, pertencente ao Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará; AOAC, 2000). Foram determinadas as seguintes variáveis bromatológicas:

umidade (secagem em estufa a 105°C por 24 h); proteína bruta (método Kjeldahl); extrato etéreo (método Soxhlet) e cinzas (incineração em forno mufla, a 550 °C por 4 h).

6.2.7 Monitoramento de variáveis zootécnicas

Quinzenalmente, biometrias dos animais foram realizadas para obtenção da curva de crescimento e ajuste das quantidades de ração e melaço fornecidas em cada tanque. As seguintes variáveis de desempenho zootécnico foram monitoradas (BUSACKER *et al.*, 1990; CAVALCANTE *et al.*, 2017): sobrevivência (%) = [(100 x número final de peixes/número inicial de peixes)], peso corporal final (g), taxa de crescimento específico (TCE) = [(ln peso corporal final – ln peso corporal inicial)/n° de dias de cultivo] x 100), produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA) = ração fornecida (g)/ganho em peso (g) e taxa de eficiência proteica (TEP) = ganho em peso (g)/proteína bruta fornecida (g).

6.2.8 Análise estatística

Os resultados de qualidade de água, desempenho produtivo e composição bromatológica foram submetidos à análise da ANOVA unifatorial e bifatorial, respectivamente. Quando houve diferença significativa entre os resultados, estes foram submetidos ao teste de Tukey para comparação das médias. O nível de significância de 5% foi adotado em todos os testes. As pressuposições de distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variância (teste de Levene) foram checadas antes das análises. Os dados em porcentagem e razão foram analisados após transformação para arcosseno. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Qualidade de água

A temperatura da água dos tanques de cultivo foi semelhante entre os tratamentos, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$). A temperatura média da água foi igual a $27,1 \pm 0,5^\circ\text{C}$, com mínimo e máximo de $26,2$ e $27,8^\circ\text{C}$, respectivamente. A temperatura da água entre 25 e 28°C favorece uma maior taxa de crescimento da tilápia do Nilo (CRAB *et al.*, 2009). Não

foram observadas diferenças significativas para o pH da água e as concentrações de O₂ e CO₂ livre, nem entre os tratamentos experimentais, nem entre aqueles e os tanques do grupo-controle positivo (C_{SR}; p>0,05; Tabela 20). Em média, o pH e as concentrações de O₂ e CO₂ livre da água foram iguais a 7,58 ± 0,07; 5,91 ± 0,16 mg L⁻¹; 13,1 ± 0,5 mg L⁻¹, respectivamente. A temperatura, O₂ e pH da água estavam dentro das respectivas faixas ótimas para cultivo de peixes tropicais (AZIM; LITTLE, 2008).

Tabela 20 – Concentração de oxigênio dissolvido (O₂), pH, condutividade elétrica (CE) e CO₂ livre da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR}, a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média ± d.p.; n = 4¹).

Variável	DL-Met (%)	Óleo de soja (%)			C _{SR} ²	ANOVA unifatorial ³
		0,00	0,60	1,20		
O ₂ (mg L ⁻¹)	0,0	6,04 ± 0,33	5,95 ± 0,41	6,12 ± 0,32	5,64 ± 0,31	ns ⁴
	1,0	5,81 ± 0,25	5,83 ± 0,31	5,97 ± 0,35		
pH	0,0	7,66 ± 0,30	7,64 ± 0,20	7,59 ± 0,18	7,44 ± 0,23	ns
	1,0	7,58 ± 0,19	7,62 ± 0,26	7,57 ± 0,27		
CE (µS cm ⁻¹)	0,0	1266 ± 51* ⁵	1284 ± 57	1299 ± 44	1389 ± 44	<0,05
	1,0	1298 ± 71	1288 ± 62	1310 ± 53		
CO ₂ livre (mg L ⁻¹)	0,0	12,6 ± 2,3	12,8 ± 1,7	12,9 ± 2,5	14,0 ± 2,9	ns
	1,0	13,1 ± 2,4	12,9 ± 3,2	13,5 ± 2,6		

ANOVA bifatorial				
Fator	O ₂	pH	CE	CO ₂ livre
DL-Met	ns	ns	ns	ns
OS	ns	ns	ns	ns
DL-Met X OS	ns	ns	ns	ns

¹O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; ² C_{SR}: A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arração recomendadas pela tabela de alimentação; ³Comparação entre as médias dos tratamentos com restrição alimentar e o controle-positivo C_{SR}; ⁴Não significativo (ANOVA p>0,05); ⁵O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA p<0,05).

Concentrações elevadas de O₂ e pH equilibrado são condições necessárias para o bom crescimento dos peixes e desenvolvimento de microrganismos desejáveis. Em tanques BFT, a concentração de oxigênio e pH da água poderão cair, ao longo do cultivo, por conta do metabolismo bacteriano, acúmulo de matéria orgânica e alta produção de CO₂ livre (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006; SCHVEITZER *et al.*, 2013). Além disso, a concentração de O₂ da água afeta diretamente a estrutura dos bioflocos, ocasionando mudanças no diâmetro e composição de microrganismos (De SCHRYVER *et al.*, 2008). O pH da água requer monitoramento sistemático, pois a assimilação de NAT pelas bactérias heterotróficas aumenta a liberação de CO₂ para água, reduzindo a alcalinidade e o pH. Embora a tilápia do Nilo não tenha seu crescimento afetado na faixa de pH da água entre 5,5 e 9,0 (REBOUÇAS *et al.*, 2016), valores de pH menores que 7 podem prejudicar o funcionamento das bactérias heterotróficas e nitrificantes (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). O produtor em sistemas BFT deve controlar o acúmulo de sólidos suspensos na água para evitar redução drástica de O₂ e pH. O uso de compostos alcalinizantes, como o bicarbonato de sódio, visa manter o pH da água em nível ideal para a atividade bacteriana. A inclusão de DL- metionina e óleo de soja, na ração dos peixes, não afetou a condutividade elétrica (CE) da água ($p > 0,05$; Tabela 4).

A CE da água do controle-positivo (C_{SR}) foi maior que a do controle-negativo, isto é, tanques com restrição na oferta de ração comercial, sem suplementação de DL-metionina e óleo de soja ($p < 0,05$). Nos tanques nos quais não se fez restrição alimentar, houve maior oferta de ração, o que gerou maior concentração de detritos orgânicos na água. Por isso, quantidades maiores de bicarbonato de sódio foram utilizadas para manutenção da alcalinidade e pH desses tanques, o que favoreceu o aumento da CE. A tilápia do Nilo possui ponto isosmótico próximo a 12 g L⁻¹ (HASSAN *et al.*, 2013), sugerindo que o valores de CE do presente estudo não prejudicaram o crescimento dos peixes.

Nos tanques nos quais houve restrição da oferta de ração, os valores de O₂, pH, CO₂ livre e CE foram melhores para produção de peixes cultivados. A redução na oferta de ração permite a obtenção de melhores indicadores de qualidade de água para o cultivo em sistemas de bioflocos (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2020; LIMA *et al.*, 2021a; LIMA *et al.*, 2021b, *no prelo*). Nesse caso, entretanto, deve-se manter igualmente bons índices zootécnicos e de saúde animal.

A suplementação da ração com DL-metionina e/ou óleo de soja não influenciou os resultados de O₂, pH, CO₂ livre e CE da água. Esses achados corroboram aqueles obtidos por Lima *et al.* (2021a) e Lima *et al.* (2021b, *no prelo*). Esses autores não também não encontraram efeito significativo da suplementação da ração com DL-metionina e óleo de soja,

respectivamente, sobre a qualidade da água de tanques de juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT.

Ao final do período experimental, a alcalinidade total da água (AT) não diferiu entre os tratamentos experimentais, nem entre aqueles e o controle-positivo (C_{SR}; p>0,05; Tabela 21).

Tabela 21 – Alcalinidade total (AT), dureza total (DT), concentração de fósforo reativo, ferro dissolvido (Fe⁺²) e matéria orgânica (MO) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR}, a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média ± d.p.; n = 4¹).

Variável	DL-Met (%)	Óleo de soja (%)			C _{SR} ²	ANOVA unifatorial ³
		0,0	0,6	1,2		
AT (mg L ⁻¹ eq. CaCO ₃)	0,0	171,5 ± 13,6	170,6 ± 17,2	161,2 ± 17,8	148,7 ± 16,6	ns ⁴
	1,0	161,0 ± 21,8	164,0 ± 21,8	157,7 ± 20,9		
DT (mg L ⁻¹ eq. CaCO ₃)	0,0	262,8 ± 29,9* ⁵	260,3 ± 29,5*	265,3 ± 35,1*	330,3 ± 31,6	<0,05
	1,0	280,3 ± 24,5	272,8 ± 25,0	292,8 ± 28,7		
P reativo (mg L ⁻¹)	0,0	3,79 ± 0,66*	3,94 ± 0,53	4,08 ± 0,74	5,03 ± 0,46	<0,05
	1,0	4,12 ± 0,60	4,27 ± 0,54	4,42 ± 0,58		
Fe ⁺² (mg L ⁻¹)	0,0	2,88 ± 0,34	3,19 ± 0,31	3,33 ± 0,36	3,81 ± 0,53	ns
	1,0	3,37 ± 0,49	3,15 ± 0,41	3,60 ± 0,54		
MO (mg L ⁻¹)	0,0	756 ± 57*	773 ± 54*	788 ± 42	905 ± 63	<0,05
	1,0	799 ± 61	794 ± 35	823 ± 49		

ANOVA bifatorial					
Fator	AT	DT	P reativo	Fe ⁺²	MO
DL-Met	ns	ns	ns	ns	ns
OS	ns	ns	ns	ns	ns
DL-Met x OS	ns	ns	ns	ns	ns

¹O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; ² C_{SR}: A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçoamento recomendadas pela tabela de alimentação; ³Comparação entre as médias dos tratamentos com restrição alimentar e o controle-positivo C_{SR}; ⁴Não significativo (ANOVA p>0,05); ⁵O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA p<0,05).

Em média, a AT da água foi igual a $162,1 \pm 7,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, com valores de mínimo e máximo iguais a 148,7 e 171,5 $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, respectivamente. A alcalinidade total da água para aquicultura dulcícola, realizadas em sistemas convencionais de produção, deverá ser de, pelo menos, 20 $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, mas o crescimento dos peixes é maior quando a AT supera 60 mg L^{-1} (BOYD; TUCKER; SOMRIDHIVEJ, 2016). Já em sistemas BFT de produção, principalmente de carnicultura, a situação é diferente. Furtado, Poersch e Wasielesky (2015) recomendam que a AT da água de tanques BFT deve ser mantida acima de 150 $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ para que ocorra um melhor desenvolvimento de bactérias heterotróficas e nitrificantes. Quando a AT da água se mantém abaixo de 100 mg L^{-1} e o pH menor que 7, verifica-se prejuízo no processo de nitrificação bacteriana, em tanques BFT de aquicultura (FURTADO; POERSCH; WASIELESKY, 2011). A manutenção de valores mais elevados de AT, com uso de bicarbonato de sódio, se justifica pelo fato de as bactérias nitrificantes consumirem alcalinidade da água, reduzindo o pH (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006).

A suplementação da dieta com DL-metionina e óleo de soja não afetou de modo significativo a dureza total (DT) da água de cultivo (Tabela 21). A DT da água do controle-positivo (C_{SR}) foi maior que a DT observada nos tanques não-suplementados com DL-metionina, independentemente do nível de óleo de soja ($p < 0,05$).

Boyd, Tucker e Somridhivej (2016) recomendam para aquicultura dulcícola uma dureza total da água entre 40 - 300 $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$. Com o decorrer do tempo, tanques BFT tendem a apresentar DT da água bem elevada. As entradas diárias de ração e de melaço, em tanques sem troca de água, influenciam diretamente na DT da água por conterem cálcio e magnésio. Cavalcante *et al.* (2017) encontraram DT acima de 270 $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, em tanques BFT de cultivo de tilápia, quando a oferta de ração comercial não foi restringida.

A concentração de fósforo reativo e ferro dissolvido da água não diferiu entre os tratamentos experimentais ($p > 0,05$; Tabela 21). A concentração de P reativo do controle-positivo (C_{SR}) foi maior que o observado nos tanques do controle-negativo (C_{CR} ; $p < 0,05$). Em sistemas convencionais de cultivo, os limites máximos aceitáveis para concentração de fósforo reativo e ferro dissolvido na água é de 0,5 mg L^{-1} (BOYD; TUCKER, 1998) e 1,0 mg L^{-1} (SÁ, 2012), respectivamente. Em sistemas BFT para aquicultura, o ortofosfato tende a se acumular na água, mas concentrações até 20 mg L^{-1} não afetam o desempenho dos animais cultivados (EMERENCIANO *et al.*, 2017).

A concentração de matéria orgânica na água não foi influenciada pela suplementação da dieta DL-metionina e óleo de soja (Tabela 21). Por outro lado, os tanques do controle-positivo (C_{SR}) apresentaram maior concentração de matéria orgânica na água do que

os tanques não suplementados com DL-metionina e óleo de soja ou sem DL-metionina e 0,6% de óleo de soja ($p < 0,05$). Em tanques convencionais de aquicultura, a concentração de matéria orgânica na água deve variar entre 40 e 80 mg L⁻¹ (SÁ, 2012). Como os tanques BFT têm troca mínima de água, a concentração de matéria orgânica excede rapidamente níveis de segurança. Para reduzir a matéria orgânica na água, o produtor realiza o controle de sólidos através do uso de decantadores ou clarificadores.

A restrição na oferta de ração comercial afeta diretamente à qualidade de água. Nos tanques com restrição, a qualidade de água foi menos afetada do que os tanques sem restrição alimentar. Um maior fornecimento de ração implica em mais amônia no sistema, o que estimula a taxa de nitrificação e o consumo de alcalinidade pelas bactérias. Caso não se corrija a alcalinidade a tempo, poderá ocorrer redução no pH da água e prejuízo à nitrificação bacteriana, com acúmulo de amônia na água. Portanto, o emprego de produtos para calagem poderá ser diminuído quando houver restrição na oferta de dieta artificial. O fornecimento de rações com níveis mais elevados de proteína aumenta a demanda por alcalinidade pelo processo de nitrificação (PRANGNELLA *et al.*, 2020). Outros estudos demonstram que a adoção de níveis restritivos de ração afeta positivamente a AT da água (CAVALCANTE *et al.*, 2017; DA SILVA *et al.*, 2020).

As concentrações de ferro dissolvido na água caíram nos tanques com restrição alimentar. O aumento nas concentrações de ferro na água, em tanques BFT, ocorre pelas entradas de ração e melão, após mineralização. Como o sistema de cultivo é fechado, o acúmulo de ferro pode ocorrer também na carne dos peixes (LI *et al.*, 2018). Prangnella *et al.* (2020) observaram que o fornecimento de rações com diferentes níveis proteicos não acarretou acúmulo problemático de metais na água de cultivo ou nos tecidos de camarão, mantidos em tanques BFT.

A suplementação das rações comerciais com DL-metionina e/ou óleo de soja não afetou as concentrações de AT, DT, fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água. Portanto, a suplementação da dieta com DL-metionina e/ou óleo de soja poderá ser realizada com segurança limnológica (TOLEDO *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2021a; LIMA *et al.*, 2021b, no prelo).

As concentrações finais de nitrogênio amoniacal total (NAT) e nitrito (NO₂⁻) dos tanques de cultivo não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$; Tabela 22). Em média, as concentrações de NAT e NO₂⁻ na água foram iguais a $0,05 \pm 0,02$ mg L⁻¹ e $1,28 \pm 0,08$ mg L⁻¹, respectivamente. Para aquicultura, as concentrações de NAT e NO₂⁻ devem ser mantidas abaixo de 1 mg L⁻¹ (EMERICIANO *et al.*, 2017).

Tabela 22 – Concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; n = 4).

Variável	DL-Met (%)	Óleo de soja (%)			C_{SR}^2	ANOVA unifatorial ³
		0,00	0,60	1,20		
NAT (mg L ⁻¹)	0,0	0,05 \pm 0,04	0,03 \pm 0,03	0,07 \pm 0,03	0,07 \pm 0,04	ns ⁴
	1,0	0,04 \pm 0,04	0,06 \pm 0,05	0,06 \pm 0,02		
NO_2^- (mg L ⁻¹)	0,0	1,37 \pm 0,41	1,32 \pm 0,22	1,16 \pm 0,38	1,24 \pm 0,40	ns
	1,0	1,33 \pm 0,36	1,19 \pm 0,30	1,36 \pm 0,37		
NO_3^- (mg L ⁻¹)	0,0	6,95 \pm 0,46* ⁵	7,18 \pm 0,46*	7,14 \pm 0,31*	8,49 \pm 0,53	ns
	1,0	7,28 \pm 0,59*	7,22 \pm 0,61*	7,40 \pm 0,50*		
SS (mg L ⁻¹)	0,0	76,0 \pm 20,7*	80,7 \pm 17,0*	82,5 \pm 20,5*	133,3 \pm 12,9	<0,05
	1,0	86,7 \pm 25,9*	81,5 \pm 17,5*	93,7 \pm 26,9		
SST (mg L ⁻¹)	0,0	640 \pm 51*	670 \pm 58*	697 \pm 78*	922 \pm 63	<0,05
	1,0	667 \pm 54*	687 \pm 61*	710 \pm 66*		

ANOVA bifatorial					
Fator	NAT	NO_2^-	NO_3^-	SS	SST
DL-Met	ns	ns	ns	ns	ns
OS	ns	ns	ns	ns	ns
DL-Met X OS	ns	ns	ns	ns	ns

¹O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; ² C_{SR} : A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arrazoamento recomendadas pela tabela de alimentação; ³Comparação entre as médias dos tratamentos com restrição alimentar e o controle-positivo C_{SR} ; ⁴Não significativo (ANOVA $p > 0,05$); ⁵O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA $p < 0,05$).

As concentrações finais de nitrato (NO_3^-) na água também não variaram de modo significativo entre os tratamentos experimentais (Tabela 22). Por outro lado, os tanques do controle-positivo (C_{SR}) apresentaram concentrações finais de NO_3^- maiores que o observado nos demais tanques ($p < 0,05$). Concentrações de NO_3^- de até 20 mg L⁻¹ geralmente não causam toxicidade para os animais cultivados (EMERICIANO *et al.*, 2017). Ridha *et al.* (2020) obtiveram concentrações de NAT, N- NO_2^- e N- NO_3^- superiores a 1,3 mg L⁻¹, 1,4 mg L⁻¹ (4,6 mg

L^{-1} de NO_2^-) e $45,8 \text{ mg L}^{-1}$ ($202,8 \text{ mg L}^{-1}$ de NO_3^-), respectivamente. Nesse mesmo estudo, os autores relataram sobrevivência de 100% dos juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT.

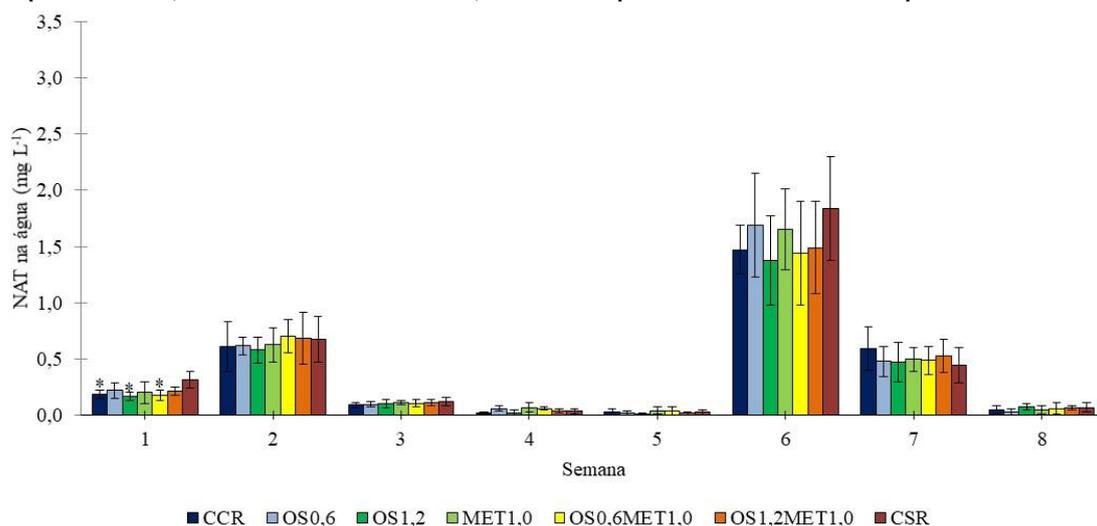
A suplementação da dieta com DL-metionina e óleo de soja não afetou significativamente as concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) da água (Tabela 22). As concentrações de SS foram maiores nos tanques sem restrição alimentar (C_{SR}), exceto pelas unidades suplementadas com 1% de DL-metionina e 1,2% de óleo de soja ($p < 0,05$; $\text{OS}_{1,2}\text{MET}_{1,0}$). Os tanques do controle-positivo (C_{SR}) apresentaram maiores concentrações de SST na água, em relação ao observado nos demais tratamentos ($p < 0,05$). Para criação da tilápia do Nilo, as concentrações de SS na água devem ser mantidas entre 25 e 50 mL L^{-1} ; e concentrações de SST abaixo de 500 mg L^{-1} (HARGREAVES, 2013). Da Silva *et al.* (2020) também observaram níveis elevados de SS e SST, em tanques BFT de cultivo de tilápia do Nilo, com o aumento na taxa de alimentação dos animais.

Nos tanques com menor oferta de ração, as concentrações de NAT e NO_3^- apresentaram tendência de queda. Além disso, como esperado, a menor entrada de ração propiciou menores quantidades de SST e SS na água. As rações comerciais, uma vez fornecidas aos animais, liberam amônia para água em um curto espaço tempo. A amônia liberada é rapidamente consumida por diferentes comunidades microbianas, incluindo as bactérias nitrificantes (FERNANDEZ *et al.*, 2020). As concentrações de compostos nitrogenados inorgânicos (NAT, NO_2^- e NO_3^-) e de material particulado (SS e SST) na água não foram influenciadas pela suplementação de DL-metionina e/ou óleo de soja na ração, nos níveis testados. Para essas mesmas variáveis, alguns estudos não encontraram efeitos da suplementação de aminoácidos (YUN *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2021a) e da inclusão de lipídios (TOLEDO *et al.* 2016; HAMIDOGHLI *et al.*, 2020; LIMA *et al.*, 2021b, no prelo), nas dietas. Portanto, a suplementação das rações comerciais para aquicultura poderia ser realizada com segurança limnológica, não afetando a qualidade da água, nem prejudicando o desenvolvimento dos microrganismos probióticos.

Ao final da primeira semana de cultivo, a concentração de NAT nos tanques do controle-positivo (C_{SR}) foi de $0,32 \pm 0,07 \text{ mg L}^{-1}$, valor significativamente maior em relação aos tratamentos C_{CR} , $\text{OS}_{1,2}$ e $\text{OS}_{0,6}\text{MET}_{1,0}$, com concentração de NAT iguais a $0,19 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$, $0,16 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,18 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (Figura 8). A partir daí, até o final do período experimental, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para NAT. Da terceira a quinta semana, o NAT foi sendo reduzido gradualmente. Um pico de NAT foi observado na sexta semana, sendo seguido pela diminuição progressiva até o final.

O estímulo ao crescimento das bactérias heterotróficas, através da aplicação de fontes de carbono orgânico na água, reduz a concentração de amônia pela absorção bacteriana (AZIM; LITTLE, 2008; TOLEDO *et al*, 2016; WEI; LIAO; WANG, 2016). Entretanto, picos de amônia e nitrito na água poderão ocorrer durante o cultivo, em sistemas BFT para aquicultura. Os aumentos bruscos de amônia e nitrito na água podem ser devidos a mudanças na composição dos microrganismos presentes nos tanques (Avnimelech, 2009).

Figura 8 - Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.



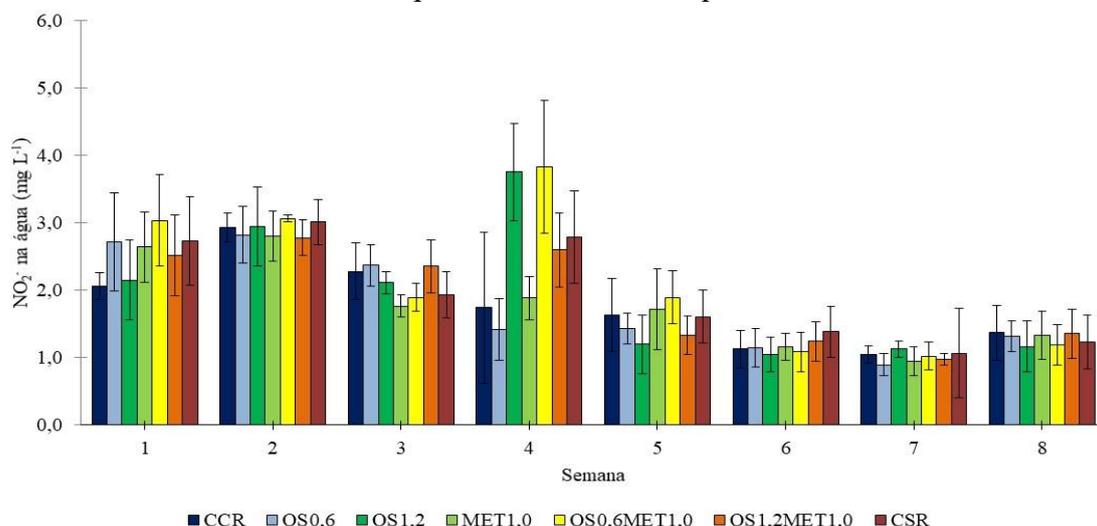
Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada *in loco* com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR}, a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média ± d.p.; n = 4¹). O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; C_{SR}: A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçamento recomendadas pela tabela de alimentação; O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA p<0,05).

O pico de NAT, ocorrido na sexta semana experimental, provavelmente se deveu à interrupção da aeração mecânica da água, por falta de energia elétrica. O produto utilizado para fazer a oxigenação química da água, de modo emergencial, Oxiaqua®, libera carbonato de sódio e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) para o meio. Além de ser fonte de O₂, o H₂O₂ atua como agente desinfetante. Assim, parte dos microrganismos pode ter sido afetado, tais como as bactérias heterotróficas e nitrificantes, o que teria levado ao acúmulo de NAT na água. Furtado *et al.* (2014) testaram diferentes dosagens de H₂O₂ em tanques BFT, tendo relatado que os elevados níveis de NAT, observados nos tanques que receberam as maiores dosagens de H₂O₂, foram devidos, em parte, aos efeitos tóxicos do peróxido de hidrogênio sobre os bioflocos.

Nas duas primeiras semanas de cultivo, as concentrações de nitrito (NO₂⁻) na água

foram superiores a $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 9). Após a quarta semana, as concentrações de NO_2^- na água foram reduzidas em todos os tanques, mantendo-se praticamente estáveis até o final do cultivo. Ao final da última semana experimental, as concentrações de NO_2^- na água variavam entre $1,16$ e $1,37 \text{ mg L}^{-1}$.

Figura 9 - Concentração de nitrito (NO_2^-) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.



Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada *in loco* com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; $n = 4^1$). O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; C_{SR} : A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçoamento recomendadas pela tabela de alimentação.

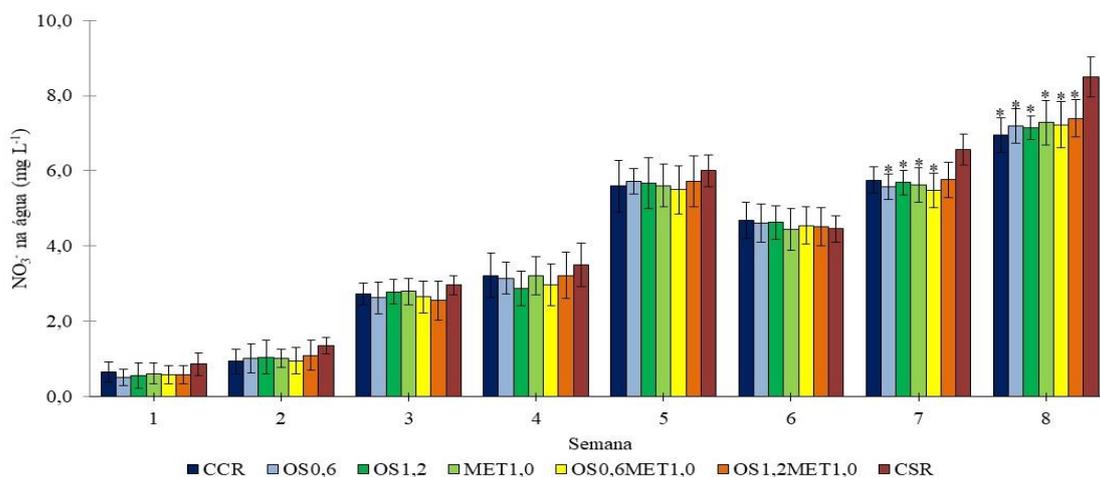
As concentrações mais elevadas de nitrito, no início do estudo, indicam que as bactérias *Nitrobacter* ainda não estavam bem estabelecidas nos tanques de cultivo. A inoculação de bioflocos vivos, realizada no início do cultivo, foi efetiva para evitar níveis elevados de NAT na água, mas não de nitrito. Como o tanque de maturação dos bioflocos foi mantido por 25 dias, as bactérias heterotróficas se desenvolveram satisfatoriamente, sendo capazes de remover amônia rapidamente. As bactérias nitrificantes, em especial as *Nitrobacter*, demandam um maior tempo para estabelecimento na água. Por isso, o amadurecimento completo de sistemas BFT para aquicultura requer de 30 a 50 dias (EMERENCIANO *et al.*, 2017). Por conta disso, é comum a ocorrência de nitrito, no início dos cultivos. As bactérias heterotróficas coexistem com as bactérias nitrificantes em tanques BFT (AZIM; LITTLE, 2008). No processo de nitrificação, as bactérias do gênero *Nitrosomonas* realizam a oxidação da amônia até nitrito, consumindo alcalinidade e O_2 (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). As concentrações de nitrito tenderão a diminuir com o estabelecimento das bactérias *Nitrobacter*, que oxidam o

nitrito até nitrato (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Azim e Little (2008) observaram oscilações nas concentrações de nitrito durante todo o cultivo de tilápia do Nilo, alimentada com dietas com 35 e 24% PB, em tanques BFT. Bakshi *et al.* (2018) relataram concentrações de NO_2^- na água superiores a 3 mg L^{-1} , em tanques BFT aos quais se aplicou diferentes fontes de carbono.

Concentrações de nitrito na água superiores a $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ já podem causar estresse aos animais aquáticos (SÁ, 2012). A aplicação de sal comum à água, para prevenir a toxicidade do nitrito, é uma prática já rotineira na aquicultura. O íon cloreto do sal é mais facilmente assimilável pelas branquias do que o nitrito, reduzindo a absorção do composto tóxico (GUTIÉRREZ *et al.*, 2019). De Alvarenga *et al.* (2018) indicaram que água de tanques BFT com salinidade $\approx 6 \text{ g L}^{-1}$ reduz o risco de toxicidade por nitrito e melhora o crescimento da tilápia do Nilo. Outra medida para reduzir as concentrações de nitrito na água é a utilização de substratos artificiais. As bactérias nitrificantes se fixam e crescem em substratos submersos, removendo amônia e nitrito da água (ZHANG *et al.*, 2016).

Em todos os tratamentos, as concentrações de nitrato (NO_3^-) na água apresentaram tendência de crescimento até a quinta semana (Figura 10).

Figura 10 - Concentração de nitrato (NO_3^-) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.



Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada *in loco* com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; $n = 4^1$). O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; C_{SR} : A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçamento recomendadas pela tabela de alimentação; O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA $p < 0,05$).

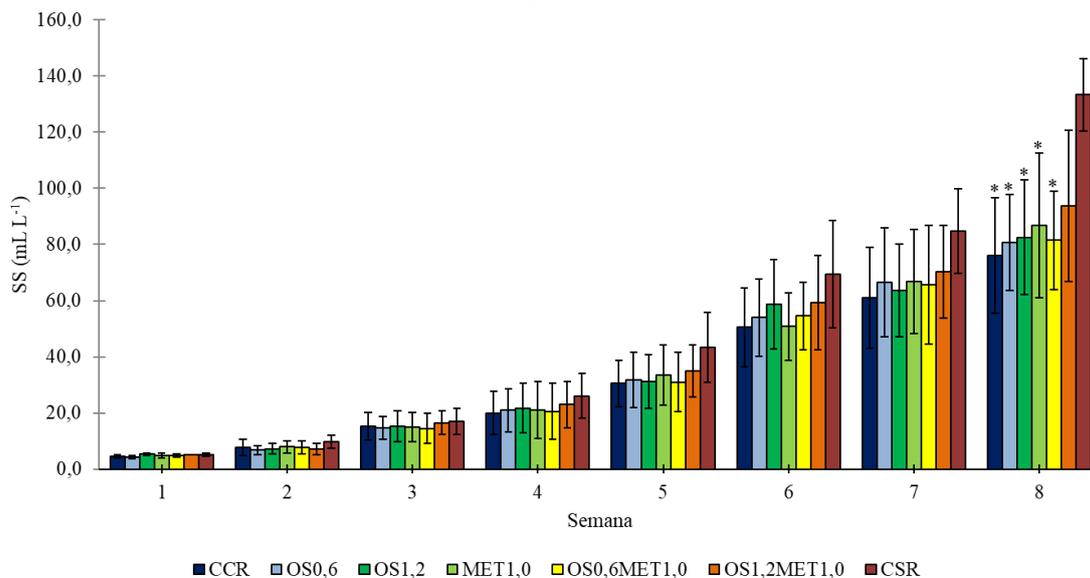
Foi observada uma redução nas concentrações de NO_3^- na sexta semana. Entretanto, as concentrações de nitrato voltaram a se elevar nas semanas seguintes. Na sétima semana, os

tanques do controle-positivo (C_{SR}) apresentavam significativamente mais nitrato que as unidades dos tratamentos $OS_{0,6}$, $OS_{1,2}$, $MET_{1,0}$ e $OS_{0,6}MET_{1,0}$. Ao final, as concentrações de NO_3^- em C_{SR} eram maiores do que os demais tratamentos ($p < 0,05$).

A presença de bactérias *Nitrobacter*, em tanques BFT, pode ser comprovada pelo surgimento do nitrato, uma vez que essas bactérias oxidam o nitrito até o referido composto (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Em sistemas de produção aquícola com troca mínima de água, tal como o BFT, a nitrificação bacteriana faz com que ocorra o acúmulo de nitrato na água (AZIM; LITTLE, 2008; RAJKUMAR *et al.*, 2016; BAKSHI *et al.*, 2018). Dependendo da concentração, o nitrato, que foi absorvido pelo peixe da água, poderá, indiretamente, causar oxidação do Fe^{+2} da molécula de hemoglobina, transformando-a em metahemoglobina, com prejuízo ao transporte de O_2 pelo organismo (VAN BUSSEL *et al.*, 2012). Juvenis de *Psetta maxima* tiveram o crescimento afetado quando expostos a níveis de $N-NO_3 \geq 125 \text{ mg L}^{-1}$ (VAN BUSSEL *et al.*, 2012). Concentrações de $N-NO_3$ superiores a 75 mg L^{-1} podem afetar o bem-estar e o crescimento do *L. vannamei* (FURTADO *et al.*, 2015). A salinidade da água afeta diretamente a toxicidade do nitrato. Kuhn *et al.* (2010) relataram que na salinidade de 11 g L^{-1} , a concentração de $N-NO_3$ de 220 mg L^{-1} afetou negativamente a sobrevivência e o crescimento do *L. vannamei*. Por outro lado, o desempenho dos camarões mantidos na salinidade de 30 g L^{-1} , mas concentração de $N-NO_3$ de 400 mg L^{-1} , não foi afetado. Se medidas de controle de qualidade água não forem realizadas, o nitrato poderá prejudicar o desempenho dos animais mantidos em sistemas BFT, por longos períodos. A remoção de sólidos suspensos na água pode ser empregada para reduzir os níveis de nitrato na água (GAONA *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2019).

A concentração de SS na água aumentou ao longo do período de cultivo, em todos os tratamentos (Figura 11). Na primeira semana, os SS variaram entre 4 e 5 mL L^{-1} . As maiores concentrações de SS foram observadas na última semana (76 a 133 mL L^{-1}). Nos tanques sem restrição alimentar (C_{SR}), as concentrações de SS foram significativamente maiores do que as observadas nos demais tratamentos, com exceção de $OS_{1,2}MET_{1,0}$. Ao longo do experimento, ocorreu elevação de sólidos suspensos totais (SST) em todos os tratamentos (Figura 12). Da terceira a oitava semana, C_{SR} apresentou maior SST do que os demais tratamentos ($p < 0,05$). Após a sexta semana, as concentrações de SS e SST foram superiores aos limites máximos indicados por Hargreaves (2013).

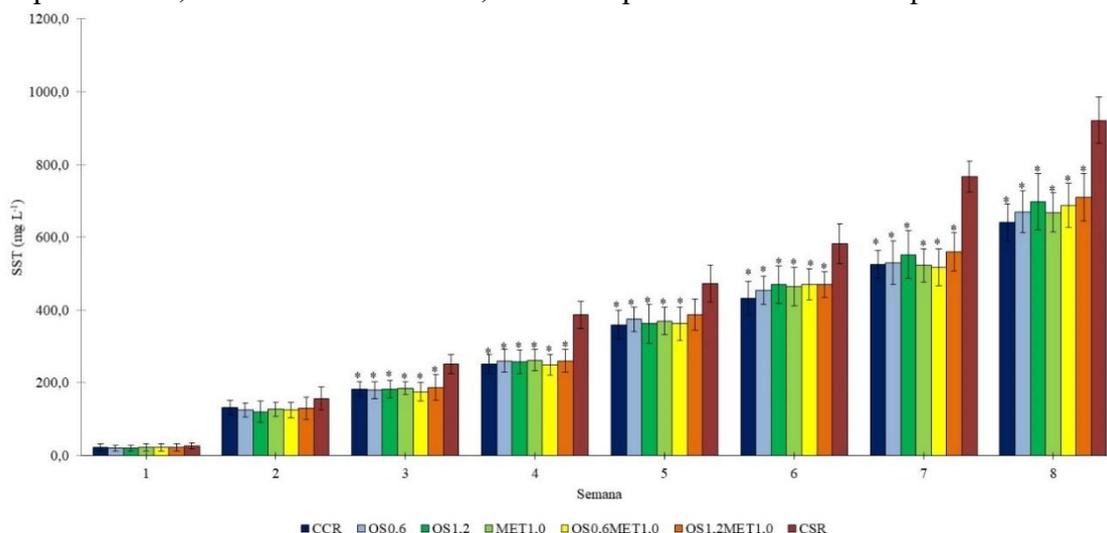
Figura 11 - Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.



Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada *in loco* com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; $n = 4^1$). O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; C_{SR} : A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçamento recomendadas pela tabela de alimentação; O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA $p < 0,05$).

É possível que o excesso de sólidos na água tenha prejudicado a taxa de crescimento dos peixes pela colmatagem das brânquias. Schweitzer *et al.* (2013) relataram que níveis de SST superiores a 200 mg L^{-1} prejudicaram o crescimento dos camarões *L. vannamei*. Com o decorrer do cultivo, o processo de remoção de sólidos suspensos da água, que foi realizado no presente estudo, não se mostrou eficiente, havendo maior demanda pela remoção de partículas. As concentrações de sólidos na água tendem a aumentar em tanques BFT pela entrada de ração, fezes dos peixes e pelo desenvolvimento dos microrganismos. Quando em excesso, os sólidos podem colmatar as brânquias de peixes e camarões, facilitar o crescimento de organismos patogênicos e demandar maior carga de aeração para manter os sólidos em suspensão na água (HARGREAVES, 2013). Semelhante ao presente estudo, Da Silva *et al.* (2020) encontraram concentração de SS próximas a 70 mg L^{-1} , após 56 dias de cultivo da tilápia do Nilo. Long *et al.* (2015) observaram níveis de SST próximos a 1000 mg L^{-1} , nas últimas duas semanas, em tanques BFT de tilápia do Nilo. Azim e Little (2008) observaram concentrações médias de SST de 597 e 560 mg L^{-1} , em tanques BFT de cultivo de tilápias que foram alimentadas com dois níveis de proteína na dieta (35 e 24% PB). Esses autores relataram valores de SST próximos a 1000 mg L^{-1} , mesmo com a utilização de separador de flocos, operando de 8 – 12 h por dia.

Figura 12 - Concentração de sólidos suspensos totais (SST) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L.



Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada *in loco* com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR} , a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média \pm d.p.; $n = 4^1$). O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; C_{SR} : A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arraçoamento recomendadas pela tabela de alimentação; O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA $p < 0,05$).

6.3.2 Composição centesimal dos bioflocos

A inclusão de DL-metionina e/ou óleo de soja na ração dos peixes não influenciaram a composição centesimal dos bioflocos (tabela 23; $p > 0,05$). Do mesmo modo, a restrição da dieta artificial não alterou a composição bromatológica do bioflocos. Em média, o teor de umidade do bioflocos foi de $85,05 \pm 1,80\%$, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos. O teor de cinzas do bioflocos foi semelhante entre os tratamentos (tabela 23; $p > 0,05$), apresentando média de $22,05 \pm 0,99\%$, com valores de mínimo e máximo iguais a 21,74 e 22,53%, respectivamente. A concentração de proteína bruta e extrato etéreo no bioflocos não foi afetada pelas incorporações isoladas e associadas de DL-metionina e óleo de soja na ração. O bioflocos seco continha teor médio de proteína bruta e extrato etéreo de $24,76 \pm 0,42\%$ e $1,39 \pm 0,14\%$, respectivamente.

Tabela 23 – Composição centesimal dos bioflocos, após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR}, a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média ± d.p.; n = 4¹).

Variável	DL-Met (%)	Óleo de soja (%)			C _{SR} ²	ANOVA unifatorial ³
		0,00	0,60	1,20		
Umidade (%)	0,0	84,87 ± 1,65	85,45 ± 2,40	85,28 ± 2,24	83,72 ± 1,80	ns ⁴
	1,0	84,79 ± 1,58	85,69 ± 2,14	85,52 ± 2,13		
Proteína bruta (%)	0,0	24,72 ± 0,32	24,56 ± 0,38	24,66 ± 0,42	25,13 ± 0,57	ns
	1,0	24,81 ± 0,51	24,88 ± 0,56	24,60 ± 0,31		
Extrato etéreo (%)	0,0	1,37 ± 0,13	1,35 ± 0,13	1,33 ± 0,14	1,48 ± 0,15	ns
	1,0	1,38 ± 0,10	1,32 ± 0,18	1,48 ± 0,20		
Cinzas (%)	0,0	21,74 ± 1,29	21,93 ± 0,90	22,19 ± 0,94	22,53 ± 1,31	ns
	1,0	22,05 ± 1,27	22,07 ± 1,16	21,85 ± 1,06		

ANOVA bifatorial				
Fator	Umidade	PB	EE	Cinzas
DL-Met	ns	ns	ns	ns
OS	ns	ns	ns	ns
DL-Met X OS	ns	ns	ns	ns

¹O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; ² C_{SR}: A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arrazoamento recomendadas pela tabela de alimentação; ³ Comparação entre as médias dos tratamentos com restrição alimentar e o controle-positivo C_{SR}; ⁴ Não significativo (ANOVA p>0,05);

Alterações na composição dos bioflocos, entre o início e meio do cultivo, não foram observadas por Yun *et al.* (2017), que avaliaram o efeito da substituição da farinha de peixe por farelo de soja, em dietas para alimentação do *L. vannamei*, com suplementação de metionina e lisina, em tanques BFT. Nesse estudo, os teores de PB, EE e cinzas, na base seca, foram de, aproximadamente, 27%; 0,3% e 48%, respectivamente. Um aumento na concentração de lipídios, em dietas para *L. vannamei*, não acarreta, necessariamente, em alterações na composição centesimal do bioflocos (TOLEDO *et al.*, 2016; HAMIDOGHLI *et al.*, 2020). Diferente do presente estudo, a taxa de alimentação influenciou a composição bromatológica do bioflocos, em estudo realizado por da Silva *et al.* (2020). Esses autores observaram que a redução da taxa de alimentação de 100% para 50% diminuiu, significativamente, o teor de PB dos bioflocos de 25 para 21%, respectivamente. Entretanto, foi relatado que o teor de extrato etéreo dos bioflocos não foi alterado pelas diferentes taxas de alimentação.

Apesar dos bioflocos serem considerada uma boa fonte de alimento suplementar,

os bioflocos não devem ser utilizados isoladamente na nutrição de peixes e camarões. A grande variabilidade na sua composição química e as deficiências em alguns aminoácidos e ácidos graxos essenciais, inviabilizam seu uso isolado como alimento. Diferentes combinações entre dieta artificial e bioflocos deveriam ser avaliadas para maximização da produção, nas diferentes fases de cultivo (WASIELESKY *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2020). Em alguns casos, os bioflocos apresentam teores de alguns aminoácidos e ácidos graxos abaixo dos requeridos pelos peixes e camarões cultivados (EKASARI *et al.*, 2014; DANTAS *et al.*, 2016; WEI; LIAO; WANG, 2016). A ração comercial utilizada no presente estudo apresentava os seguintes níveis de garantia: 40% de proteína, 8% extrato etéreo, 1,1% metionina e 1,4% de fósforo. Esses valores de PB e EE são bem superiores aos observados nos bioflocos do presente estudo. Para a criação da tilápia do Nilo, é possível se reduzir o teor de PB da dieta, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação com aminoácidos essenciais. Tilápias com peso corporal entre 0,8 e 15 g, podem ter a exigência de PB da dieta reduzida, se houver suplementação com lisina, metionina e treonina (BOMFIM *et al.*, 2008). Com a suplementação desses mesmos aminoácidos, Furuya *et al.* (2005) obtiveram sucesso na redução do teor de PB da dieta de juvenis de tilápia do Nilo de 30 para 27,5%. A tilápia do Nilo exige na dieta ácidos graxos da série linoleico (n-6) em 0,5% (NRC, 1993). Teores de lipídios abaixo de 1% foram encontrados em bioflocos de tanques BFT para aquicultura (KUHNS *et al.*, 2016; RAJKUMAR *et al.*, 2016).

Lima *et al.* (2021a) e Lima *et al.* (2021b, no prelo) avaliaram, respectivamente, a suplementação isolada de DL-metionina e óleo de soja em dietas para juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT, com restrição alimentar. Em ambos os estudos, as suplementações realizadas não influenciaram a composição centesimal dos bioflocos. Em Lima *et al.* (2021a), os teores médios de PB e EE dos bioflocos foram de 32% e 2,1%, respectivamente, nos tanques com suplementação com DL-metionina. Esses valores foram superiores aos do presente estudo e aos obtidos por Lima *et al.* (2021b, no prelo), que encontram 18,3 e 0,8% para PB e EE, respectivamente. Provavelmente, a interrupção da aeração mecânica da água e o uso de produtos à base de H₂O₂, no presente estudo e em Lima *et al.* (2021b, no prelo), ocasionaram mudanças na composição química dos bioflocos. Como a aeração mecânica ficou interrompida por quatro dias, o uso prolongado do produto químico Oxiaqua® pode ter deteriorado a qualidade dos bioflocos. A maior concentração de cinzas, nos bioflocos do presente estudo, também poderia ser efeito do uso prolongado do Oxiaqua®. Como esse produto apresenta carbonato de sódio, seu uso contínuo pode favorecer o aumento de cinzas no bioflocos.

Estudos mais detalhados deveriam ser realizados para determinar: 1 - se os bioflocos são capazes de incorporar metionina e ácidos graxos quando suplementados em dietas

comercial; 2 - até que ponto essa técnica se manteria economicamente viável. Especificamente sobre o óleo de soja, níveis maiores de incorporação na dieta poderiam ser avaliados para identificar se ocorrem alterações nas concentrações de lipídios e ácidos graxos dos bioflocos e quais seriam os benefícios disso para o crescimento da tilápia do Nilo.

6.3.3 Desempenho zootécnico

A sobrevivência dos peixes foi significativamente afetada pela suplementação de óleo de soja, não sendo influenciada, entretanto, pela inclusão de DL-metionina (Tabela 24). O óleo de soja favoreceu aumento significativo na sobrevivência dos peixes ($p < 0,05$). Lima *et al.* (2021b, no prelo), ao contrário, não encontraram efeito da suplementação do óleo de soja na sobrevivência da tilápia em tanques BFT, obtendo, em média, 81,7%. Como os bioflocos do presente trabalho continham maior teor de lipídios, a sobrevivência dos animais, em relação ao estudo de Lima *et al.* (2021b, no prelo), pode ter sido beneficiada. A sobrevivência da tilápia do Nilo tendeu a aumentar quando houve a inclusão de DL-metionina nas dietas, em restrição da dieta artificial. O mesmo pode ser observado no estudo realizado por Lima *et al.* (2021a), no qual a sobrevivência dos animais tendeu a aumentar com a suplementação de DL-metionina, sob restrição alimentar. Esses resultados sugerem que, em condições normais de cultivo e com a adoção de práticas de restrição alimentar, a suplementação da ração comercial com DL-metionina e óleo de soja pode aumentar a sobrevivência da tilápia do Nilo. A sobrevivência dos peixes, nos tanques do controle-positivo (C_{SR}), não diferiu ($p > 0,05$) em relação ao observado nos demais tratamentos. Esses resultados estão de acordo com outros estudos que também não observaram efeito negativo da restrição alimentar sobre a sobrevivência da tilápia do Nilo em tanques BFT (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Tabela 24 – Desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT de 100 L. Os peixes foram alimentados com ração comercial para peixes tropicais onívoros, suplementada, *in loco*, com níveis crescentes de DL-metionina e óleo de soja. Em todos os tratamentos, exceto C_{SR}, a oferta da ração comercial foi reduzida em 25%, tendo como referência o praticado em C_{SR} (média ± d.p.; n = 4¹).

Variável	DL-Met (%)	Óleo de soja (%)			C _{SR} ²	ANOVA unifatorial ³
		0,00	0,60	1,20		
Sobrevivência (%)	0,0	86,2 ± 7,5 a ¹¹	96,2 ± 2,5 b	98,7 ± 1,2 b	95,0 ± 4,5	ns ¹⁰
	1,0	88,7 ± 2,5 a	97,5 ± 2,5 b	93,7 ± 4,8 ab		
PCF ⁴ (g)	0,0	14,4 ± 0,7 * ¹²	15,2 ± 1,1	15,1 ± 1,1*	17,2 ± 1,5	<0,05
	1,0	15,6 ± 0,6	15,1 ± 0,5	15,7 ± 0,7		
TCE ⁵ (% dia ⁻¹)	0,0	3,05 ± 0,14	3,13 ± 0,13	3,13 ± 0,19	3,36 ± 0,16	ns
	1,0	3,18 ± 0,06	3,18 ± 0,14	3,18 ± 0,07		
GPS ⁶ (g)	0,0	1,48 ± 0,09 *	1,57 ± 0,13	1,56 ± 0,14 *	1,83 ± 0,19	<0,05
	1,0	1,62 ± 0,06	1,57 ± 0,07	1,63 ± 0,07		
Prod. ⁷ (g m ⁻³ dia ⁻¹)	0,0	44,4 ± 3,1*a	52,2 ± 4,2 b	53,3 ± 4,9 b	58,5 ± 7,0	<0,05
	1,0	49,5 ± 2,4 a	52,6 ± 2,5 a	52,5 ± 4,0 a		
FCA ⁸	0,0	1,58 ± 0,17 aA	1,38 ± 0,08*b	1,36 ± 0,11*b	1,72 ± 0,22	<0,05
	1,0	1,42 ± 0,06 aB	1,34 ± 0,11*a	1,37 ± 0,09*a		
TEP ⁹	0,0	1,59 ± 0,18 a	1,82 ± 0,11*ab	1,85 ± 0,14*b	1,48 ± 0,19	<0,05
	1,0	1,76 ± 0,08 a	1,87 ± 0,15*a	1,83 ± 0,12*a		

ANOVA bifatorial							
Fator	Sobrev.	PCF	TCE	GPS	PROD.	FCA	TEP
DL-Met	ns	ns	ns	ns	ns	<0,05	ns
OS	<0,05	ns	ns	ns	<0,05	<0,05	<0,05
DL-Met x OS	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹O grupo-controle positivo C_{SR} recebeu 6 repetições; ² C_{SR}: A ração comercial ofertada aos peixes não foi suplementada com DL-metionina, nem com óleo de soja. Além disso, a oferta de ração comercial foi regular, correspondendo a 100% das taxas de arrazoamento recomendadas pela tabela de alimentação; ³Comparação entre as médias dos tratamentos com restrição alimentar e o controle-positivo C_{SR}; ⁴ Peso Corporal Final; ⁵Taxa de crescimento específico; ⁶Ganho em peso semanal; ⁷Produtividade de Pescado; ⁸Fator de conversão alimentar; ⁹Taxa de eficiência proteica; ¹⁰Não significativo (ANOVA p>0,05); ¹¹Para uma mesma variável, médias com diferentes letras minúsculas e maiúsculas, na linha e na coluna, respectivamente, são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (ANOVA p<0,05); ausência de letras indica não há diferença significativa entre as médias (p>0,05); ¹²O asterisco indica que existe diferença significativa em relação ao controle C_{SR} (ANOVA p<0,05).

A suplementação da dieta com DL-metionina e óleo de soja não afetou (p>0,05) o peso corporal final (PCF), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho em peso semanal (GPS)

dos peixes cultivados (Tabela 24). Lima *et al.* (2021b, no prelo) não obtiveram benefícios no PCF e GPS da tilápia com a suplementação de óleo de soja em dietas restritivas para tilápia. Esses resultados, entretanto, estão em desacordo com Lima *et al.* (2021a), que relataram melhoria no PCF e GPS da tilápia quando se fez a suplementação da ração comercial com DL-metionina, a partir de 1%. A suplementação da dieta com fontes de nutrientes pode suprir parte das necessidades orgânicas dos peixes, quando sob restrição na oferta do alimento artificial. Além disso, haveria a ingestão dos bioflocos, que são fontes de aminoácidos e ácidos graxos. Provavelmente, a menor qualidade nutricional dos bioflocos, no presente estudo e em Lima *et al.* (2021b, no prelo), prejudicou o crescimento dos peixes ao não fornecer os nutrientes necessários para crescimento satisfatório. A criação da tilápia do Nilo, em sistemas baseados em bioflocos, pode produzir filés com teor lipídico aumentado (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2018). Esses autores sugerem que a presença de microalgas nos bioflocos pode ter elevado o teor de lipídios no músculo do peixe.

Nos tanques com restrição alimentar, houve tendência de redução do peso corporal final e o ganho em peso semanal dos peixes, mas apenas nos tanques sem suplementação com DL-metionina. Isso sugere que o fornecimento de DL-metionina foi capaz de suprir as deficiências do bioflocos para esse aminoácido, mantendo bom crescimento dos peixes. Segundo He *et al.* (2017), a inclusão de L-metionina, em 5,4 a 11,4 g kg⁻¹ na dieta para tilápia do Nilo, traz melhora nos índices de desempenho zootécnico.

Os peixes dos tanques C_{SR} apresentaram peso corporal final e ganho em peso semanal maiores (p<0,05) do que observado nos tratamentos C_{CR} e OS_{1,2}. Não houve diferença significativa entre C_{SR} e os demais tratamentos para TCE. Pérez-Fuentes *et al.* (2018) relataram que o peso final e o ganho de peso diário da tilápia do Nilo, mantida em tanques BFT, foram prejudicados quando a taxa de alimentação foi reduzida em 30%.

Em média, a TCE da tilápia do Nilo mantida nos tanques com suplementação de DL-metionina e óleo de soja foi de 3,16. Esse valor é inferior aos obtidos nos estudos com o óleo de soja (3,91; Lima *et al.*, 2021b, no prelo) e DL-metionina (3,40; Lima *et al.*, 2021a). Essas diferenças podem estar relacionadas ao tempo de cultivo, pois a taxa de crescimento animal diminui com o desenvolvimento biológico. Peixes com peso final de ≈ 11 g, ao final de seis semanas, encontrados por Lima *et al.* (2021b, no prelo), tendem a ter maior TCE do que outros trabalhos com peixes maiores e com mais tempo de cultivo. Cavalcante *et al.* (2017) avaliaram taxas de restrição alimentar de 0, 15 e 30% para tilápia do Nilo, com peso médio inicial de 1,22 g, mantidas em sistema BFT, tendo obtido valores de TCE de 5,6; 5,5 e 5,0, respectivamente.

A produtividade de pescado foi significativamente afetada pela suplementação com óleo de soja (Tabela 24). Quando não se adicionou DL-metionina à ração, a suplementação com óleo de soja proporcionou um aumento significativo na produtividade de pescado ($p < 0,05$). Esses resultados diferem de Lima *et al.* (2021b, no prelo), que não encontraram efeito da suplementação de óleo de soja sobre a produtividade da tilápia do Nilo em tanques BFT. O maior teor de lipídios nos bioflocos do presente estudo pode ter contribuído para elevar a sobrevivência dos peixes e proporcionar maiores taxas de produtividade.

Já na presença de DL-metionina, a incorporação de óleo de soja não afetou a produtividade dos tanques ($p > 0,05$). A produtividade de pescado em C_{SR} não diferiu dos demais tratamentos ($p > 0,05$), exceto pelo tratamento C_{CR} , que apresentou o menor valor.

O fator de conversão alimentar (FCA) foi influenciado de modo significativo tanto pela inclusão de DL-metionina como de óleo de soja na dieta (Tabela 8). Nos tratamentos sem suplementação com óleo de soja, os peixes alimentados com dietas suplementadas com 1,0% de DL-metionina apresentaram melhor FCA ($p < 0,05$), em relação aos tanques sem adição de DL-metionina. Já quando não se fez a suplementação com DL-metionina, a incorporação de 0,6 e 1,2% de óleo de soja na dieta reduziu significativamente o FCA. Por outro lado, o FCA não diferiu entre os diferentes níveis de inclusão de óleo de soja, quando havia suplementação de 1,0% de DL-metionina. Os resultados de FCA para $OS_{0,6}$, $OS_{1,2}$, $OS_{0,6}MET_{1,0}$ e $OS_{1,2}MET_{1,0}$ foram melhores em relação ao controle-positivo (C_{SR} ; $p < 0,05$). Quando não se fez a suplementação da dieta com DL-metionina, a taxa de eficiência proteica (TEP) foi significativamente maior nos tanques com maior nível de inclusão de óleo de soja (Tabela 8). Já quando a suplementação de DL-metionina foi de 1%, a incorporação de óleo de soja na dieta não afetou de modo significativo a TEP. A TEP dos peixes do controle-positivo (C_{SR}) foi significativamente menor, em relação aos tratamentos $OS_{0,6}$, $OS_{1,2}$, $OS_{0,6}MET_{1,0}$ e $OS_{1,2}MET_{1,0}$.

O FCA e a TEP melhoraram com a suplementação de óleo, mas apenas nos tanques que não receberam suplementação com DL-metionina, estando em desacordo com o observado por Lima *et al.* (2021b, no prelo). Essas diferenças provavelmente devem aos distintos teores de lipídios nos bioflocos, entre os trabalhos. Parte dos nutrientes retirados com a restrição da oferta de ração foi recuperada pelo consumo dos bioflocos. Com isso, o custo de produção da tilápia poderia ser reduzido com a suplementação da dieta com óleo. Segundo Dong *et al.* (2017), os peixes aproveitam melhor lipídios e aminoácidos essenciais em situação de restrição alimentar. Os peixes podem utilizar lipídios dos bioflocos como fonte de energia, permitindo uma redução na quantidade de ração fornecida (DONG *et al.*, 2017). Mais estudos precisariam ser realizados para esclarecer a interação existente entre suplementação da dieta com

aminoácidos e ácidos graxos sobre a qualidade dos bioflocos. Se faz necessário também determinar a composição corporal dos peixes cultivados para avaliar os fatores que afetam a assimilação dos nutrientes dos alimentos.

O FCA foi melhor nos tanques sem suplementação com óleo, mas aporte de DL-metionina, confirmando os resultados encontrados por Lima *et al.* (2021a). Esses resultados demonstram a contribuição do bioflocos na alimentação da tilápia. Com a menor entrada de ração, a tilápia passa a consumir mais bioflocos. Assim como relatado por Lima *et al.* (2021a), a suplementação da ração balanceada com metionina sintética pode ter corrigido a deficiência dos bioflocos nesse aminoácido essencial. A necessidade de metionina pode variar com a dieta e o peso da tilápia. Mohammed *et al.* (2020) avaliaram o crescimento da tilápia do Nilo (4,3 g), alimentada com dietas isonitrogenadas (32% PB) e isoenergéticas (14,5 kJ g⁻¹ energia bruta), com cinco níveis de suplementação de DL-metionina (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 g 100 g⁻¹). Esses autores concluíram que a suplementação ótima de DL-metionina para tilápia do Nilo é de 1,5 g 100 g⁻¹ dieta, obtendo-se FCA de TEP de 1,76 e 1,89, respectivamente. Oliveira *et al.* (2021) avaliaram os efeitos de diferentes taxas de alimentação (0%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% do peso corporal por dia) sobre o desempenho de juvenis de tilápia do Nilo (3,1 g) em sistema de bioflocos. Nesse estudo, o aumento na taxa de alimentação 2,5% para 10% reduziu a FCA de 1,64 para 0,55, respectivamente. Além disso, o uso de bioflocos como alimento pode ser limitado por sua composição de aminoácidos. O uso de biomassa seca de bioflocos, na alimentação de juvenis de *L. vannamei*, foi limitado em 25% da ração diária, por conta das deficiências dos bioflocos em lisina e metionina e pelo alto teor de cinzas (GAMBOA-DELGADO *et al.* 2017).

O conteúdo de proteína bruta dos bioflocos pode permitir uma redução no percentual de proteína das rações balanceadas utilizadas na alimentação da tilápia do Nilo, mantidas em tanques BFT. Hisano *et al.* (2020) determinaram que o teor de PB dos bioflocos utilizados no trabalho era próximo a 45%, o que permitiu a redução no teor de PB da ração comercial de 36% para 28%, sem prejuízo zootécnico, pela contribuição dos bioflocos como fonte de aminoácidos. Da Silva *et al.* (2018) sugeriram que 28% como o nível ótimo de proteína bruta das rações balanceadas utilizadas na produção de juvenis de tilápia entre 10 e 60 g, mantidos em tanques BFT. A concentração proteica dos bioflocos, nesse estudo, variou entre 15,1 a 20,3%.

Os resultados de desempenho da tilápia não mostraram efeito interativo entre as variáveis testadas, isto é, suplementação da ração comercial com DL-metionina e óleo de soja. Levando-se em consideração os tanques onde houve restrição da dieta artificial, a

suplementação da dieta com óleo e/ou DL-metionina tende a melhorar os índices zootécnicos da tilápia. Castro *et al.* (2021) observaram que a restrição no uso de farinha de peixe e/ou óleo de soja em dietas para *L. vannamei* causou menor crescimento dos animais. A retirada desses ingredientes nobres diminui o aporte de aminoácidos e ácidos graxos essenciais na dieta. A compensação nutricional a partir da ingestão dos bioflocos é limitada, de tal modo que o bioflocos servem apenas como fonte suplementar (CASTRO *et al.*, 2021).

6.3.4 Custo da alimentação

O preço unitário da ração utilizada foi de R\$ 6,48. A DL-metionina e o óleo de soja custaram R\$ 20,00/kg e R\$ 0,072/mL, respectivamente. Para os tratamentos C_{SR}, OS_{0,6}, OS_{1,2}, MET_{1,0}, OS_{0,6} MET_{1,0} e OS_{1,2} MET_{1,0}, o volume de ração utilizado durante o experimento foi de 466,23g; 328,63g; 331,78g; 319,08g; 326,53g; 328,91g, respectivamente. Com os valores inerentes aos insumos utilizados para alimentação (ração, DL-metionina e óleo de soja), o custo total por m³ foi de R\$ 30,21; R\$ 21,61; R\$ 22,23; R\$ 21,55; R\$ 22,41 e R\$ 22,94, para os respectivos tratamentos: C_{SR}, OS_{0,6}, OS_{1,2}, MET_{1,0}, OS_{0,6} MET_{1,0} e OS_{1,2} MET_{1,0}. Nos tratamentos com redução de 25% no fornecimento da dieta artificial houve uma diminuição dos custos em até R\$ 8,60/m³. Se os flocos microbianos apresentarem qualidade nutricional satisfatória, o produtor poderá fazer uso de manejos restritivos da dieta artificial, sem prejuízo no desempenho zootécnico dos peixes e com redução dos gastos com ração.

6.4 CONCLUSÃO

A restrição alimentar de 25% proporcionou melhoria na qualidade da água de cultivo de tilápia do Nilo em tanques de bioflocos. A suplementação de dietas artificiais com DL-metionina e óleo de soja, não causa prejudicaram a qualidade de água. Com isso, o produtor pode fazer uso dessas medidas sem prejuízo a qualidade de água. A suplementação da dieta artificial não ocasionou mudanças na composição bromatológica do bioflocos. O uso combinado de DL-metionina e óleo de soja em dietas artificiais melhora a sobrevivência de tilápia do Nilo em condição de restrição alimentar. A suplementação de DL-metionina em 1,0% e/ou óleo de soja em 0,6% em dietas artificiais, com restrição de 25%, evita piora dos índices de desempenho zootécnico.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos trabalhos realizados indicam que a qualidade dos bioflocos pode não satisfazer as exigências nutricionais dos juvenis de tilápia mantidos em tanques BFT, quando sob restrição na oferta de dieta artificial, sendo necessário suplementar à ração com fontes exógenas de nutrientes para compensar a restrição.

Juvenis de tilápia do Nilo, cultivados em tanques BFT, sob restrição na oferta de ração comercial de 25%, não têm o desempenho zootécnico prejudicado quando se faz a suplementação da ração com DL-metionina, em pelo menos 1,0%.

Quando a qualidade nutricional do bioflocos era baixa, a suplementação da ração com óleo de soja não evitou a redução significativa dos índices do desempenho da tilápia, mantida em tanques BFT com restrição alimentar de 25%. Já quando a qualidade nutricional dos bioflocos foi um pouco melhor, observou-se que as rações suplementadas com DL-metionina, em 1,0%, e/ou óleo de soja, em 0,6%, preveniram uma queda nos índices de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia, criados em tanques BFT com restrição alimentar de 25%.

A suplementação da ração comercial para tilápia com DL-metionina e/ou óleo de soja não ocasiona efeitos negativos sobre a qualidade de água. A redução na oferta de ração, pelo manejo da restrição alimentar, tem impacto positivo sobre a qualidade de água dos tanques de tilápia.

Os diferentes métodos empregados para suplementação da ração comercial com DL-metionina e/ou óleo de soja não interferiam na composição centesimal dos bioflocos, em termos das concentrações proteicas e lipídicas.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O uso da DL-metionina, como suplemento de rações comerciais, em regime de restrição alimentar, apresentou importantes resultados para o crescimento da tilápia do Nilo, mantida em tanques BFT. Seria relevante avaliar se tais benefícios ocorrem nas diferentes fases de crescimento da tilápia. Além da metionina, os bioflocos também podem ser deficientes em lisina, tendo em vista as exigências da tilápia. Portanto, seria válido realizar novas pesquisas para avaliar a suplementação de rações comerciais para tilápia do Nilo com lisina sintética, estando os animais em tanques BFT sob restrição na oferta de alimento artificial.

Embora a suplementação da ração comercial com óleo de soja não tenha beneficiado o desempenho zootécnico, quando sob restrição alimentar, avaliações futuras poderiam ser realizadas com o objetivo de testar níveis maiores de óleo de soja. Uma incorporação ainda maior de óleo de soja na ração poderia suprir as exigências por ácidos graxos do peixe, quando submetido à restrição na oferta de ração. Além disso, o modo de suplementação da ração com óleo de soja pode afetar, de modo significativo, o enriquecimento dos bioflocos com lipídios.

A composição nutricional dos bioflocos varia em função das espécies presentes na biomassa. A suplementação da dieta com óleo de soja, combinada com uma menor relação C:N da água, poderia favorecer o enriquecimento dos bioflocos com lipídios. Relações C:N menores favorecem o desenvolvimento de bioflocos mixotrófico, com mais microalgas, as quais apresentam maior capacidade para incorporar lipídios à biomassa, dependendo da espécie.

Alguns estudos ainda deveriam ser realizados para avaliar diferentes níveis de restrição da ração comercial, suplementação com aminoácidos e ácidos graxos que maximizassem o desempenho da tilápia do Nilo e promovessem melhor relação custo-benefício para o produtor.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-TAWWAB, M. *et al.* Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v. 298, n. 3-4, p. 267-274, 2010.
- ADINEH, H.; NADERI, M.; HAMIDI, M. K.; HARSIJ, M. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. **Fish & shellfish immunology**, v. 95, p. 440-448, 2019.
- AHMAD, I. *et al.* Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. **Aquaculture International**, v. 25, p. 1215-1226, 2017.
- AKKOYUNLU, A.; AKINER, M. E. Pollution evaluation in streams using water quality indices: a case study's from Tukey's Sapanca Lake basin. **Ecological Indicators**, v. 18, p. 201-211, 2012.
- ANAND, P. S. S.; KOHLI, M. P. S.; KUMAR, S.; SUNDARAY, J. K.; ROY, S. D.; VENKATESHWARLU, G.; SINHA, A.; PAILAN, G. H. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 418, p. 108-115, 2014.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**, 17th ed, Washington, D.C.USA, 2000.
- ASADUZZAMAN, M. *et al.* C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. **Aquaculture, Amsterdam**, v. 280, p. 117-123, 2008.
- ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M. A.; VERDEGEM, M. C. J.; BENERJEE, S.; AKTER, T.; HASAN, M. M.; AZIM, M. E. 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, Amsterdam**, v. 287, 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, Amsterdam**, v. 301, p. 37-46. 2010.
- ATWOOD, H. L. *et al.* Toxicity of nitrite to Nile tilapia: effect of fish size and environmental chloride. **North American Journal of Aquaculture**, v. 63, p. 49-51, 2001.
- AVNIMELECH, Y. Bio-filters. The need for a new comprehensive approach. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p. 172-178, 2006.
- AVNIMELECH, Y. **Biofloc technology: A practical guide book**. Baton Rouge, Louisiana, United States, The World Aquaculture Society. 2009, 182 p.

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

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

AVNIMELECH, Y. Tilapia production using biofloc technology - saving water, waste recycling improves economics. **Global Aquaculture Advocate**, p.66-68, may/june 2011.

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

BAKAR, N. S. A. *et al.* Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 102, p. 100-106, 2015.

BAKHSHI, F.; NAJDEGERAMI, E. H.; MANAFFAR, R.; TUKMECHI, A.; FARAH, K. R. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. **Aquaculture**, v. 484, p. 259-267, 2018.

BALLESTER, E. L. C.; ABREU, P. C.; CAVALLI, R. O.; EMERENCIANO, M.; DE ABREU, L.; WASIELESKY JR, W. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 163-172, 2010.

BALOI, M. F.; STERZELECKI, F. C.; SUGAI, J. K.; PASSINI, G.; CARVALHO, C. V. A.; CERQUEIRA, V. R. Growth performance, body composition and metabolic response to feeding rates in juvenile Brazilian sardine *Sardinella brasiliensis*. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 1458-1466, 2017.

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

BECERRIL-CORTÉS, D.; MONROY-DOSTA, M. D. C.; EMERENCIANO, M. G. C.; CASTRO-MEJÍA, G.; SOFIA, B.; BERMÚDEZ, S.; CORREA, G. V. Effect on nutritional composition of produced bioflocs with different carbon sources (Molasses, coffee waste and rice bran) in Biofloc system. **International Journal of fisheries and aquatic studies**, v. 6, n. 2, p. 541-547, 2018.

BELL, J.G. **Current aspects of lipid nutrition in fish farming**. In: BLACK, K. D., PICKERING, A. (Eds), *Biology of Farmed Fish*. Sheffield: Sheffield Academic Press, p.114-145, 1998.

BICUDO, A. J. A.; CYRINO, J. E. P. Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 40, p. 318-823, 2009.

BINGGUO, L. U. *et al.* Effect of C/N ratio on bioflocs formation and water quality in zero-water exchange grass carp tanks. **Journal of Fisheries of China**, v. 37, p. 1220-1228, 2013.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T. D.; RIBEIRO, F. B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1713-1720, 2008.

BOONANUNTANASARN, S.; JANGPRAI, A.; KUMKHONG, S.; PLAGNES-JUAN, E.; VERON, V.; BUREL, C.; MARANDEL, L.; PANSERAT, S. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates: New insights from a long term nutritional study. **Aquaculture**, v. 496, p. 58-65, 2018.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Apparent digestibility of the energy and nutrients of conventional and alternatives foods for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 539-545, 2002.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Ponds aquaculture water quality management**. Springer: Keuwer Academic Publishers, p. 700, 1998.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Water quality and pond soil analyses for aquaculture**. Auburn University, Opelika, USA, 1992. 183pp.

BOYD, C.; TUCKER, C. S.; SOMRIDHIVEJ, B. Alkalinity and hardness: critical but elusive concepts in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, n. 1, p. 6-41, 2016.

BUSACKER, G. P.; ADELMAN, I. R.; GOOLISH, E. M. Growth. In: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. **Methods for fish biology**. Bethesda: American Fisheries Society. P.363-387.

CALDINI, N. N.; CAVALCANTE, D. D. H.; ROCHA FILHO, P. R. N.; SÁ, M. V. D. C. Feeding Nile tilapia with artificial diets and dried bioflocs biomass. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, n. 4, p. 335-341, 2015.

CALDINI, N. N.; CAPISTRANO, H. H. D. A.; ROCHA, P. R. N.; SÁ, M. V. D. C. Partial replacement of artificial diets by wet bioflocs biomass in Nile tilapia culture tanks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 40, 2018.

CARDONA, E.; LORGEUX, B.; CHIM, L.; GOGUENHEIM, J.; LE DELLIOU, H.; CAHU, C. Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of eggs and larvae. **Aquaculture**, v. 452, p. 252-262, 2016.

CASTRO, L. F.; PINTO, R. C. C.; NUNES, A. J. P. Nutrient value and contribution of microbial floc to the growth performance of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed fatty acid and amino acid-restrained diets under a zero-water exchange intensive system. **Aquaculture**, v. 531, p. 735789, 2021.

CAVALCANTE, D. H.; LIMA, F. R. D. S.; REBOUÇAS, V. T.; SÁ, M. V. D. C. Association between periphyton and bioflocs systems in intensive culture of juvenile Nile tilapia. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, p. 119-125, 2016.

CAVALCANTE, D. H.; Nile tilapia culture under feeding restriction in bioflocs and bioflocs plus periphyton tanks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 39, n. 3, p. 223-228, 2017.

CAVALCANTE, D. H.; LIMA, F. R. D. S.; REBOUÇAS, V. T.; SÁ, M. V. D. C. Underwater structures for periphyton in bioflocs tanks for Nile tilapia submitted to feed restriction. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 39, n. 2, p. 117-122, 2017.

CHEN, J. *et al.* Regulation of growth, intestinal microbiota, non-specific immune response and disease resistance of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) in biofloc systems. **Fish & shellfish immunology**, v. 77, p. 175-186, 2018.

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

CRAB, R.; KOCHVA, M.; VERSTRAETE, W.; AVNIMELECH, Y. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. **Aquacultural Engineering**, v. 40, n. 3, p. 105-112, 2009.

CRAB, R.; CHIELENS, B.; WILLE, M.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 559-567, 2010.

DA COSTA, D. A.; DE SOUZA, C. L.; SALIBA, E. D. O. S.; CARNEIRO, J. D. By-products of sugar cane industry in ruminant nutrition. **Int. J. Adv. Agric. Res**, v. 3, p. 1-9, 2015.

DA SILVA, K. R.; WASIELESKY JR, W.; ABREU, P. C. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 44, n. 1, p. 30-41, 2013.

DA SILVA, M. A.; DE ALVARENGA, É. R.; ALVES, G. F. D. O.; MANDUCA, L. G.; TURRA, E. M.; DE BRITO, T. S.; SALES, S. C. M.; DA SILVA JUNIOR, A. F.; BORGES, W. J. M.; TEIXEIRA, E. D. A. Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 8, p. 2693-2703, 2018.

DA SILVA, M. A.; DE ALVARENGA, É. R.; COSTA, F. F. B. D.; TURRA, E. M.; ALVES, G. F. D. O.; MANDUCA, L. G.; SALES, S. C. M.; LEITE, N. R.; BEZERRA, V. M.; MORAES, S. G. S.; TEIXEIRA, E. D. A. Feeding management strategies to optimize the use of suspended feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in bioflocs. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 2, p. 605-615, 2020.

DANTAS JR, E. M.; VALLE, B. C. S.; BRITO, C. M. S.; CALAZANS, N. K. F.; PEIXOTO, S. R. M.; SOARES, R. B. Partial replacement of fishmeal with biofloc meal in the diet of postlarvae of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture nutrition**, v. 22, n. 2, p. 335-342, 2016.

- DE ALVARENGA, E. R.; ALVES, G. F. D. O.; FERNANDES, A. F. A.; COSTA, G. R.; DA SILVA, M. A.; TEIXEIRA, E. D. A.; TURRA, E. M. Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 9, p. 2919-2926, 2018.
- DE SCHRYVER, P. ; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, 2008.
- DENG, M.; CHEN, J.; GOU, J.; HOU, J.; LI, D.; HE, X. The effect of different carbon sources on water quality, microbial community and structure of biofloc systems. **Aquaculture**, v. 482, p. 103-110, 2018.
- DONG, G. F.; YANG, Y. O.; YAO, F.; CHEN, L.; YUE, D. D.; YU, D. H.; HUANG, F.; LIU, J.; LIU, L. H. Growth performance and whole-body composition of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson) under feeding restriction. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 101-110, 2017.
- DURIGON, E. G.; LAZZARI, R.; UCZAY, J.; DE ALCÂNTARA LOPES, D. L.; JERÔNIMO, G. T.; SGNAULIN, T.; EMERENCIANO, M. G. C. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. **Aquaculture and Fisheries**, 2019.
- EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 257, p. 346-358, 2006.
- EFFENDY, I.; AL DEEN, S.; CHITHAMBARAN, S. Semi Intensive and Semi Biofloc Methods for the Culture of Indian White Prawn, *Fenneropenaeus indicus* in High-density Polyethylene Liner Ponds. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 23, p. 106-110, 2016.
- EKASARI, J.; ANGELA, D.; WALUYO, S. H.; BACHTIAR, T.; SURAWIDJAJA, E. H.; BOSSIER, P.; DE SCHRYVER, P. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. **Aquaculture**, v. 426, p. 105-111, 2014.
- EL-HUSSEINY, O. M.; ABDUL-AZIZ, G. M.; GODA, A. M. S.; SULOMA, A. Effect of altering linoleic acid and linolenic acid dietary levels and ratios on the performance and tissue fatty acid profiles of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fry. **Aquaculture international**, v. 18, n. 6, p. 1105-1119, 2010.
- ELMADA, C. Z. ; HUANG, W.; JIN, M.; LIANG, X.; MAI, K.; ZHOU, Q. The effect of dietary methionine on growth, antioxidant capacity, innate immune response and disease resistance of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). **Aquac. Nutr**, v. 22, p. 1163-1173, 2016.
- EL-SAYED, A.F. M. **Tilapia culture**. Academic Press, 2019.
- EL-SHAFAI, S. A. *et al.* Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 232, n. 1, p. 117-127, 2004.

EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E. L.; CAVALLI, R. O.; WASIELESKY, W. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. **Aquaculture International**, v. 19, n. 5, p. 891-901, 2011.

EMERENCIANO, M. G. C.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MIRANDA-BAEZA, A. Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture. **Water quality**, v. 5, p. 92-109, 2017.

EMERENCIANO, M. G.; WASIELESKY JUNIOR, W. F. B.; SOARES, R. B.; BALLESTER, E. L. C.; IZEPPI, E. M.; CAVALLI, R. O. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Sc.** v.29. p1- 7. 2007.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. In: Matovic, M. D. (ed). **Biomass now - cultivation and utilization**. InTech, Rijeka, 2013. pp 301–328.

FAO - Food and Agricultural Organization. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) - Sustainability in Action**, Food and Agriculture Organization, Roma, FAO, 2020, 28 p.

FERNANDEZ, C.; RAIN-FRANCO, A.; ROJAS, C.; MOLINA, V. Ammonium release via dissolution and biological mineralization of food pellets used in salmon farming. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 2, p. 779-793, 2020.

FERREIRA, L. M. H. *et al.* Biofilm versus biofloc: Are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT system?. **Aquaculture international**, v. 24, p. 921-930, 2016.

FERREIRA, G. S.; SANTOS, D.; SCHMACHTL, F.; MACHADO, C.; FERNANDES, V.; BÖGNER, M.; SCHLEDER, D. D.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F. N. Heterotrophic, chemoautotrophic and mature approaches in biofloc system for Pacific white shrimp. **Aquaculture**, v. 533, p. 736099, 2021

FERREIRA, G. S.; BOLIVAR, N. C.; PEREIRA, S. A.; GUERTLER, C.; DO NASCIMENTO VIEIRA, F.; MOURIÑO, J. L. P.; SEIFFERT, W. Q. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 448, p. 273-279, 2015.

FIGUEIREDO-SILVA, C.; LEMME, A.; SANGSUE, D.; KIRIRATNIKOM, S. Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 234-241, 2015.

FLECKENSTEIN, L. J.; TIERNEY, T. W.; RAY, A. J. Comparing biofloc, clear-water, and hybrid recirculating nursery systems (Part II): Tilapia (*Oreochromis niloticus*) production and water quality dynamics. **Aquacultural Engineering**, v. 82, p. 80-85, 2018.

FRANCIS, D. S.; TURCHINI, G. M.; JONES, P. L.; DE SILVA, S. S. Effects of dietary oil

source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 547-556, 2006.

FURTADO, P. S.; SERRA, F. P.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. Acute toxicity of hydrogen peroxide in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology systems. **Aquaculture International**, v.22, n.2, p.653-659, 2014.

FURTADO, P. S.; CAMPOS, B. R.; SERRA, F. P.; KLOSTERHOFF, M.; ROMANO, L. A.; WASIELESKY, W. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture international**, v. 23, n. 1, p. 315-327, 2015.

FURTADO, P. S.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JR, W. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. **Aquaculture**, v. 321, n. 1-2, p. 130-135, 2011.

FURTADO, P. S.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture international**, v. 23, p. 345-358, 2015.

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; MACEDO, R. M. G. D.; SANTOS, V. G. D.; SILVA, L. C. R.; SILVA, T. D. C.; FURUYA, V. R. B.; SALES, P. J. P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1433-1441, 2005.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; PEZZATO, A. C.; FURUYA, V. R.; MIRANDA, E. C. Use of ideal protein concept for precise formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v.35, p.1110-1116, 2004.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para nutrição de Tilápias**. 21 ed. Toledo: GFM, 2010. 100 p.

FURUYA, W.M.; SILVA, L. C. R.; NEVES, P. R.; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; SAKAGUTI, E. S.; FURUYA, V. R. B. Exigência de metionina + cistina para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1933-1937, 2004.

GALLARDO-COLLÍ, A.; PÉREZ-FUENTES, M.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P. Compensatory growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L. subjected to cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 5, p. 1813-1823, 2020.

GALLARDO-COLLÍ, A.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P. Reuse of water from biofloc technology for intensive culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects on productive performance, organosomatic indices and body composition. **International Aquatic Research**, v. 11, n. 1, p. 43-55, 2019.

GAMBOA-DELGADO, J.; RODRÍGUEZ MONTES DE OCA, G. A.; ROMÁN REYES, J. C.; VILLARREAL-CAVAZOS, D. A.; NIETO-LÓPEZ, M.; CRUZ-SUÁREZ, L. E.

Assessment of the relative contribution of dietary nitrogen from fish meal and biofloc meal to the growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture research**, v. 48, n. 6, p. 2963-2972, 2017.

GAO, Z.; WANG, X.; TAN, C.; ZHOU, H.; MAI, K.; HE, G. Effect of dietary methionine levels on growth performance, amino acid metabolism and intestinal homeostasis in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v. 498, p. 335-342, 2019.

GAONA, C. A. P.; DA PAZ SERRA, F.; FURTADO, P. S.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JR, W. Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. **Aquacultural Engineering**, v. 72, p. 65-69, 2016.

GAONA, C. A. P.; DE ALMEIDA, M. S.; VIAU, V.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JR, W. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. **Aquac. Res.**, v. 48, p. 1070-1079, 2017.

GAONA, C. A. P. *et al.* The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. **IJRA**, v. 12, p. 54–73, 2011.

GATLIN, D. M.; BARROWS, F. T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T. G.; HARDY, R. W.; HERMAN, E.; HU, G.; KROGDAHL, A.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E. J.; STONE, D.; WILSON, R.; WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture research**, v. 38, n. 6, p. 551-579, 2007.

GODOY, A. C.; SANTOS, O. O.; OXFORD, J. H.; DE AMORIM MELO, I. W.; RODRIGUES, R. B.; NEU, D.; NUNES, R. V.; BOSCOLO, W. R. Soybean oil for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in finishing diets: Economic, zootechnical and nutritional meat improvements. **Aquaculture**, v. 512, p. 734324, 2019.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L.; MALDONADO-OTHÓN, C. A.; PEREZ-VELAZQUEZ, M. Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). **Aquaculture**, v. 454, p. 217-228, 2016.

GREEN, B. W.; SCHRADER, K. K.; RAWLES, S. D.; WEBSTER, C. D.; MCENTIRE, M. E. Comparison of unused water and year-old used water for production of channel catfish in the biofloc technology system. **Aquaculture**, v. 519, p. 734739, 2020.

GREEN, B. W.; RAWLES, S. D.; SCHRADER, K. K.; GAYLORD, T. G.; MCENTIRE, M. E. Effects of dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*) performance, common microbial off-flavor compounds, and water quality dynamics in an outdoor biofloc technology production system. **Aquaculture**, v. 503, p. 571-582, 2019.

GROSS, A.; BOYD, C. E.; WOOD, C. W. Ammonia volatilization from freshwater fish ponds. **Journal of Environmental Quality**, v. 28, p. 793-797, 1999.

GUO, T. Y.; HE, J. Y.; LIAO, S. Y.; XIE, J. J.; XIE, S. W.; MASAGOUNDER, K.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; NIU, J. Dietary dl-methionyl-dl-methionine supplementation increased growth performance, antioxidant ability, the content of essential amino acids and improved the

diversity of intestinal microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **British Journal of Nutrition**, v., 123, n. 1, p. 72-83, 2020.

GUTIÉRREZ, S. M.; DOSTA, M. D. C. M.; PARTIDA, A. H.; MEJÍA, J. C.; RODRÍGUEZ, G. A.; DE OCA, M. Effect of two carbon sources in microbial abundance in a Biofloc culture system with *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 4, n. 3, p. 421-427, 2016.

GUTIÉRREZ, X. A.; KOLAREVIC, J.; TAKLE, H.; BAEVERFJORD, G.; YTTEBORG, E.; FYHN TERJESEN, B. Effects of chronic sub-lethal nitrite exposure at high water chloride concentration on Atlantic salmon (*Salmo salar*, Linnaeus 1758) parr. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 9, p. 2687-2697, 2019.

GUTIERREZ-WING, M. T.; MALONE, R. F. Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 163–171, 2006.

HAMIDOGHLI, A.; WON, S.; AYA, F. A.; YUN, H.; BAE, J.; JANG, I. K.; BAI, S. C. Dietary lipid requirement of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles cultured in biofloc system. **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 3, p. 603-612, 2020.

HARAZ, Y. G.; EL-HAWARRY, W. N.; SHOURBELA, R. M. Culture Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) raised in a biofloc based intensive system. **Alexandria Journal for Veterinary Sciences**, v. 58, p. 166-172, 2018.

HARIDAS, H. *et al.* Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 8, p. 4346-4355, 2017.

HARGREAVES, J. A. **Biofloc Production Systems for Aquaculture**. Southern Regional Aquaculture Centre, No. 4503, 2013.

HARGREAVES, J. A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 344–363, 2006.

HASSAN, B.; EL-SALHIA, M.; KHALIFA, A.; ASSEM, H.; AL BASOMY, A.; EL-SAYED, M. Environmental isotonicity improves cold tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Egypt. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, n. 1, p. 59-65, 2013.

HE, J. Y.; LONG, W. Q.; HAN, B.; TIAN, L. X.; YANG, H. J.; ZENG, S. L.; LIU, Y. J. Effect of dietary l-methionine concentrations on growth performance, serum immune and antioxidative responses of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture research**, v. 48, n. 2, p. 665-674, 2017.

HISANO, H.; PARISI, J.; CARDOSO, I. L.; FERRI, G. H.; FERREIRA, P. M. Dietary protein reduction for Nile tilapia fingerlings reared in biofloc technology. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 2, p. 452-462, 2020.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

IZQUIERDO, M.; FORSTER, I.; DIVAKARAN, S.; CONQUEST, L.; DECAMP, O.; TACON, A. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 192-202, 2006.

JU, Z. Y.; FORSTER, I.; CONQUEST, L.; DOMINY, W.; KUO, W. C.; DAVID HORGAN, F. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 2, p. 118-133, 2008.

KAMILYA, D.; DEBBARMA, M.; PAL, P.; KHETI, B.; SARKAR, S.; SINGH, S. T. Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. **Chemosphere**, v. 182, p. 8-14, 2017.

KHANJANI, M. H.; SAJJADI, M. M.; ALIZADEH, M.; SOURINEJAD, I. Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 4, p. 1491– 1501, 2017.

KRUMMENAUER, D.; SEIFERT JUNIOR, C. A.; POERSCH, L. H. D. S.; FOES, G. K.; LARA, G. R. D.; WASIELESKY JUNIOR, W. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. **Atlântica**, Rio Grande, v. 34, n. 2, p. 103-111, 2012.

KRUMMENAUER, D.; SAMOCHA, T.; POERSCH, L.; LARA, G.; WASIELESKY JR, W. The reuse of water on the culture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 1, p. 3-14, 2014.

KRUMMENAUER, D.; POERSCH, L. H.; FÓES, G.; LARA, G.; WASIELESKY, W. Survival and growth of *Litopenaeus vannamei* reared in Bft System under different water depths. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 465, p. 94–99, 2016.

KUHN, D. D.; SMITH, S. A.; BOARDMAN, G. D.; ANGIER, M. W.; MARSH, L.; FLICK JR, G. J. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. **Aquaculture**, v. 309, n. 1-4, p. 109-114, 2010.

KUHN, D. D.; LAWRENCE, A. L.; CROCKETT, J.; TAYLOR, D. Evaluation of bioflocs derived from confectionary food effluent water as a replacement feed ingredient for fishmeal or soy meal for shrimp. **Aquaculture**, v. 454, p. 66-71, 2016.

KUHN, D. D.; BOARDMAN, G. D.; LAWRENCE, A. L.; MARSH, L.; FLICK JR, G. J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, v. 296, n. 1-2, p. 51-57, 2009.

KUHN, D. D.; LAWRENCE, A. L.; CROCKETT, J. Dietary toxicity of manganese to shrimp and its accumulation in bioflocs. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1121-1127, 2017.

- KUHN, D. D.; LAWRENCE, A. L.; CROCKETT, J.; TAYLOR, D. Evaluation of bioflocs derived from confectionary food effluent water as a replacement feed ingredient for fishmeal or soy meal for shrimp. **Aquaculture**, v. 454, p. 66-71, 2016.
- KUMAR, V. S.; PANDEY, P. K.; ANAND, T.; BHUVANESWARI, G. R.; DHINAKARAN, A.; KUMAR, S. BIOFLOC improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. **Journal of Environmental Management**, V. 215, p. 206-215, 2018.
- LALL, S. P.; TIBBETTS, S. M. Nutrition, feeding, and behavior of fish. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 12, n. 2, p. 361-372, 2009.
- LARA, G.; KRUMMENAUER, D.; ABREU, P. C.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. **Aquaculture international**, v. 25, n. 1, p. 147-162, 2017.
- LARA, G. *et al.* Addition of sodium nitrite and biofilm in a *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, p. 760-768, 2016.
- LEFRANÇOIS, P.; PUIGAGUT, J.; CHAZARENCO, F.; COMEAU, Y. Minimizing phosphorus discharge from aquaculture earth ponds by a novel sediment retention system. **Aquacultural Engineering**, v. 43, n. 3, p. 94-100, 2010.
- LI, H. D.; HAN, D.; ZHU, X. M.; YANG, Y. X.; JIN, J. Y.; XIE, S. Q.; LIU, H. K. Effect of biofloc technology on water quality and feed utilization in the cultivation of gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Aquaculture research**, v. 49, n. 8, p. 2852-2860, 2018a.
- LI, J.; LIU, G.; LI, C.; DENG, Y.; TADDA, M. A.; LAN, L.; LIU, D. Effects of different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. **Aquaculture**, v. 495, p. 919-931, 2018b.
- LI, L.; REN, W.; LIU, C.; DONG, S.; ZHU, Y. Comparing trace element concentrations in muscle tissue of marbled eel *Anguilla marmorata* reared in three different aquaculture systems. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 10, p. 13-20, 2018.
- LIANG, W. *et al.* Efficiency of biofloc technology in suspended growth reactors treating aquacultural solid under intermittent aeration. **Aquacultural engineering**, v. 59, p. 41-47, 2014.
- LIM, C. *et al.* Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. **Aquaculture**, v. 298, n. 1-2, p. 76-82, 2009.
- LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIOUS, P. Lipid and fatty acid requirements of tilapias. **North American Journal of Aquaculture**, v. 73, n. 2, p. 188-193, 2011.
- LIMA, E. C. R. de. *et al.* Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, p. 948-957, 2015.

- LIMA, E. C. R. de *et al.* Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of carbon. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, p. 458-466, 2018.
- LIMA, F. R. S.; APOLIANO, M. L. S.; CAVALCANTE, D. H.; SÁ, M. V. C. Suplementação da dieta de juvenis de tilápia criados em tanques BFT (bioflocos) com DL-metionina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 22, 2021a.
- LIMA, F. R. S.; APOLIANO, M. L. S.; CAVALCANTE, D. H.; SÁ, M. V. C. Suplementação da dieta de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos em tanques BFT com restrição na oferta de ração balanceada, com óleo de soja. *No prelo*. 2021b.
- LIU, G.; ZHU, S.; LIU, D.; YE, Z. Effect of the C/N ratio on inorganic nitrogen control and the growth and physiological parameters of tilapias fingerlings, *Oreochromis niloticus* reared in biofloc systems. **Aquaculture research**, v. 49, n. 7, p. 2429-2439, 2018.
- LIU, L. *et al.* Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 418-419, p. 79-86, 2014.
- LIU, G. *et al.* Effects of stocking density of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against *Vibrio harveyi* in a biofloc system. **Fish & shellfish immunology**, v. 67, p. 19-26, 2017.
- LIU, W.; WEN, H.; LUO, Z. Effect of dietary protein levels and feeding rates on the growth and health status of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture International**, v. 26, n. 1, p. 153-167, 2018.
- LONG, L.; YANG, J.; LI, Y.; GUAN, C.; WU, F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 448, p. 135-141, 2015.
- LORENZO, M. A. *et al.* Hatchery performance of the pacific white shrimp in biofloc system using different stocking densities. **Aquacultural Engineering**, Essex, v. 75, p. 46-50, 2016.
- LUO, G.; CHEN, X.; TAN, J.; ABAKARI, G.; TAN, H. Effects of carbohydrate addition strategy and biofloc levels on the establishment of nitrification in biofloc technology aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 514, p. 734441, 2020.
- LUO, G.; GAO, Q.; WANG, C.; LIU, W.; SUN, D.; LI, L.; TAN, H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. **Aquaculture**, v. 422, p. 1-7, 2014.
- LUO, G. Z. *et al.* Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. **Aquacultural Engineering**, Essex, v. 53, p. 73-79, 2013.
- LUO, G.; ZHANG, N.; CAI, S.; TAN, H.; LIU, Z. Nitrogen dynamics, bacterial community composition and biofloc quality in biofloc-based systems cultured *Oreochromis niloticus* with

poly- β -hydroxybutyric and polycaprolactone as external carbohydrates. **Aquaculture**, v. 479, p. 732-741, 2017.

MALPARTIDA PASCO, J. J. *et al.* Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* grown in BFT using two aeration systems. **Aquaculture Research**, v. 49, p. 222-231, 2018.

MANSOUR, A. T.; ESTEBAN, M. A. Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & shellfish immunology**, v. 64, p. 202-209, 2017.

MARENGONI, N. G. Produção de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.

MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R. *et al.* Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. **Reviews in Aquaculture**, v. 7, n. 2, p. 131-148, 2015.

MARTINEZ-PORCHAS, M.; EZQUERRA-BRAUER, M.; MENDOZA-CANO, F.; HIGUERA, J. E. C.; VARGAS-ALBORES, F.; MARTINEZ-CORDOVA, L. R. 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.

MARTINS, G. B.; TAROUCO, F.; ROSA, C. E.; ROBALDO, R. B. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 468, p. 10-17, 2017.

MARTINS, T. G.; ODEBRECHT, C.; JENSEN, L. V.; D'OCA, M. G.; WASIELESKY JR, W. The contribution of diatoms to bioflocs lipid content and the performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a BFT culture system. **Aquaculture research**, v. 47, n. 4, p. 1315-1326, 2016.

MICHELATO, M.; FURUYA, W. M.; GATLIN, D. M. Metabolic responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to methionine and taurine supplementation. **Aquaculture**, v. 485, p. 66-72, 2018.

MIRZAKHANI, N.; EBRAHIMI, E.; JALALI, S. A. H.; EKASARI, J. Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C:N ratios. **Aquaculture**, p. 734235, 2019.

MOHAMMED, F. A.; YOUSIF, R.; HILAL, F. M.; ADAM, R. A.; AHMED, T. K. The effect of dietary methionine levels on growth, feed conversion and protein retention efficiency of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Nusantara Bioscience**, v. 12, n. 1, 2020.

MORENO-ARIAS, A.; LÓPEZ-ELÍAS, J. A.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMÍREZ-SUÁREZ, J. C.; CARVALLO-RUIZ, M. G.; GARCÍA-SÁNCHEZ, G.; MIRANDA-BAEZA, A. Effect of fishmeal replacement with a vegetable protein mixture on the amino acid and fatty acid profiles of diets, biofloc and shrimp cultured in BFT system. **Aquaculture**, v. 483,

p. 53-62, 2018.

NAJDEGERAMI, E. H.; BAKHSHI, F.; LAKANI, F. B. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio*L.) fingerlings in zero-water exchange system. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, n. 2, p. 457-465, 2016.

NGUYEN, T. N.; DAVIS, D. A. Methionine requirement in practical diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the world aquaculture society**, v. 40, n. 3, p. 410-416, 2009.

NGUYEN, T. P.; HANKINS, N. P.; HILAL, N. A comparative study of the flocculation behaviour and final properties of synthetic and activated sludge in wastewater treatment. **Desalination**, v. 204, n. 1-3, p. 277-295, 2007.

NHI, N. H. Y.; DA, C. T.; LUNDH, T.; LAN, T. T.; KIESSLING, A. Comparative evaluation of Brewer's yeast as a replacement for fishmeal in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*), reared in clear water or biofloc environments. **Aquaculture**, v. 495, p. 654-660, 2018.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National Academy Press, Washington, District of Columbia, USA, 2011.

NRC. National Research Council. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy, 1993. 114p

OLIVEIRA, L. K.; PILZ, L.; FURTADO, P. S.; BALLESTER, E. L. C.; DE ALMEIDA BICUDO, Á. J. Growth, nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates. **Aquaculture**, p. 736830, 2021.

OTOSHI, C. A.; RODRIGUEZ, N.; MOSS, S. M. Establishing nitrifying bacteria in super-intensive biofloc shrimp production. **Glob. Aquacult. Advocate**, v. 14, p. 24-26, 2011.

PANIGRAHI, A.; SUNDARAM, M.; CHAKRAPANI, S.; RAJASEKAR, S.; SYAMA DAYAL, J.; CHAVALI, G. Effect of carbon and nitrogen ratio (C:N) manipulation on the production performance and immunity of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc-based rearing system. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 1, p. 29-41, 2019.

PRANGNELL, D. I. *et al.* Some limiting factors in superintensive production of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in no-water-exchange, biofloc-dominated systems. **J. World Aquacult. Soc.**, v. 47, p. 396-413, 2016.

PÉREZ-FUENTES, J. A.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; FOGEL, I. C. N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. **Aquaculture**, v. 452, p. 247-251, 2016.

PÉREZ-FUENTES, J. A.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; MONROY-DOSTA, M. D. C. Variation of the bacterial composition of biofloc and the

intestine of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivated using biofloc technology, supplied different feed rations. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 11, p. 3658-3668, 2018.

PERRY, S. F.; TZANEVA, V. The sensing of respiratory gases in fish: Mechanisms and signalling pathways. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 224, p. 71-79, 2016.

PIEDRAHITA, R. H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v. 226, n. 1-4, p. 35-44, 2003.

PINHEIRO, I.; ARANTES, R.; DO ESPÍRITO SANTO, C. M.; DO NASCIMENTO VIEIRA, F.; LAPA, K. R.; GONZAGA, L. V.; SEIFFERT, W. Q. Production of the halophyte *Sarcocornia ambigua* and Pacific white shrimp in an aquaponic system with biofloc technology. **Ecological engineering**, v. 100, p. 261-267, 2017.

PINHO, S. M.; MOLINARI, D.; DE MELLO, G. L.; FITZSIMMONS, K. M.; EMERENCIANO, M. G. C. Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties. **Ecological engineering**, v. 103, p. 146-153, 2017.

PINTO, P. H. O.; ROCHA, J. L.; DO VALE FIGUEIREDO, J. P.; CARNEIRO, R. F. S.; DAMIAN, C.; DE OLIVEIRA, L.; SEIFFERT, W. Q. Culture of marine shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in biofloc technology system using artificially salinized freshwater: Zootechnical performance, economics and nutritional quality. **Aquaculture**, v. 520, p. 734960, 2020.

POPPI, D. A.; MOORE, S. S.; GLENCROSS, B. D. Redefining the requirement for total sulfur amino acids in the diet of barramundi (*Lates calcarifer*) including assessment of the cystine replacement value. **Aquaculture**, v. 471, p. 213-222, 2017.

PRANGNELL, D. I.; CASTRO, L. F.; ALI, A. S.; BROWDY, C. L.; SAMOCHA, T. M. The performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed commercial diets of differing protein content, in a super-intensive biofloc-dominated system. **Journal of Applied Aquaculture**, p. 1-22, 2020.

PROMTHALE, P.; PONGTIPPATEE, P.; WITHYACHUMNARNKUL, B.; WONGPRASERT, K. Bioflocs substituted fishmeal feed stimulates immune response and protects shrimp from *Vibrio parahaemolyticus* infection. **Fish & shellfish immunology**, v. 93, p. 1067-1075, 2019.

RAJKUMAR, M.; PANDEY, P. K.; ARAVIND, R.; VENNILA, A.; BHARTI, V.; PURUSHOTHAMAN, C. S. Effect of different biofloc system on water quality, biofloc composition and growth performance in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 11, p. 3432-3444, 2016.

RAY, A. J.; DILLON, K. S.; LOTZ, J. M. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture system with two levels of biofloc management. **Aquaculture Engineering**, v. 45, p.127-136, 2011.

RAY, A. J.; DRURY, T. H.; CECIL, A. Comparing clear-water RAS and biofloc systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc nutritional contributions estimated using stable isotopes. **Aquacult. Eng.**, v. 77, p. 9-14, 2017.

RAY, J. A. *et al.* Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, v. 299, p. 89–98, 2010.

RAY, A. J.; SEABORN, G.; LEFFLER, J. W.; WILDE, S. B.; LAWSON, A.; BROWDY, C. L. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, v. 310, n. 1-2, p. 130-138, 2010a.

RAY, A. J.; LEFFLER, J. W.; BROWDY, C. L. The effects of a conventional feed versus a fish-free feed and biofloc management on the nutritional and human sensory characteristics of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture International**, v. 27, n. 1, p. 261-277, 2019.

RAY, J. A.; LEWIS, B. L.; BROWDY, C. L.; LEFFLER, J. W. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, v. 299, p. 89–98, 2010b.

RAY, A. J., LOTZ, J. M. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. **Aquac. Eng.**, v. 63, p. 54–61, 2014.

REBOUÇAS, V. T.; LIMA, F. R. D. S.; CAVALCANTE, D. D. H.; SÁ, M. V. D. C. Reassessment of the suitable range of water pH for culture of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. in eutrophic water. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 4, p. 361-368, 2016.

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.

REZENDE, P. C. *et al.* Prenursery of the Pacific white shrimp in a biofloc system using different artificial substrates. **Aquacultural Engineering**, v. 82, p. 25-30, 2018.

RIDHA, M. T.; HOSSAIN, M. A.; AZAD, I. S.; SABUROVA, M. EFFECTS of three carbohydrate sources on water quality, water consumption, bacterial count, growth and muscle quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4225-4237, 2020.

RODRIGUES, R. B. *et al.* Tecnologia de bioflocos no cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Tecnológica**, v.10, p. 75-89, 2015.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. D.; LOPES, D. C.; EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**, v. 2, p. 186, 2011.

SÁ, M. V. C.; PEZZATO, L. E.; LIMA, M. M. B. F.; DE MAGALHÃES PADILHA, P. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles

diets. **Aquaculture**, v. 238, n. 1-4, p. 385-401, 2004.

SÁ, M. V. C. **Limnocultura: limnologia para aquicultura**. Fortaleza: Edições UFC, 2012. 218 p.

SÁ, M. V. C. **Manual de práticas laboratoriais em limnocultura - água e solo**. 1. ed. Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2015. v. 1. 56p.

SABRY NETO, H.; SANTAELLA, S. T.; NUNES, A. J. P. Bioavailability of crude protein and lipid from biofloc meals produced in an activated sludge system for white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 8, p. 269-275, 2015.

SAMOCHA, T. M. *et al.* Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, v. 36, p. 184-191, 2007.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **The journal of nutrition**, v.118, p. 1540-1546, 1988.

SANTOS, S. A. **Capacidade de suporte produtiva e ecológica de tanques experimentais de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo**. 2014. 36 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

SCHNEIDER, O.; SERETI, V.; EDING, E. H.; VERRETH, J. A. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. **Aquaculture**, v. 261, n. 4, p. 1239-1248, 2006.

SCHVEITZER, R.; ARANTES, R.; COSTÓDIO, P. F. S.; DO ESPÍRITO SANTO, C. M.; ARANA, L. V.; SEIFFERT, W. Q.; ANDREATA, E. R. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, v. 56, p. 59-70, 2013.

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, Essex**, v. 54, p. 93-103, 2013.

SÉITÉ, S.; MOURIER, A.; CAMOUGRAND, N.; SALIN, B.; FIGUEIREDO-SILVA, A. C.; FONTAGNÉ-DICHARRY, S.; SEILIEZ, I. Dietary methionine deficiency affects oxidative status, mitochondrial integrity and mitophagy in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

SERRA, F. P. *et al.* Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture international**, v. 23, p. 1325-1339, 2015.

SGNAULIN, T. *et al.* Biofloc technology (BFT): An alternative aquaculture system for piracanjuba *Brycon orbignyianus*? **Aquaculture**, v. 485, p. 119-123, 2018.

SHEARER, K. D. Experimental design, statistical analysis and modeling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. **Aquaculture Nutrition**, v.6, p.91-102, 2000.

SOBECK, D. C.; HIGGINS, M.J. Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation. **Water research**, v. 36, n. 3, p. 527-538, 2002.

SOUZA, J.; CARDOZO, A.; WASIELESKY JR, W.; ABREU, P. C. Does the biofloc size matter to the nitrification process in Biofloc Technology (BFT) systems?. **Aquaculture**, v. 500, p. 443-450, 2019.

SUITA, S. M. *et al.* Development of the hepatopancreas and quality analysis of post-larvae Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* produced in a BFT system. **Aquaculture International**, v. 23, p. 449-463, 2015.

TACON, A.G.J.; MACIOCCI, G. **The nutrition and feeding of farmedfish and shrimp—a Training Manual. 3. Feeding Methods.** FAO Field Document. 1988.

TAKEUCHI, T. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 49, p. 1127-1134, 1983.

TANSEL, B. Morphology, composition and aggregation mechanisms of soft bioflocs in marine snow and activated sludge: A comparative review. **Journal of environmental management**, v. 205, p. 231-243, 2018.

TAW, N. Biofloc technology expanding at white shrimp farms. **Global Advocate**, may/june, p. 24–26, 2010.

TEITELBAUM, J. E.; WALKER, W. A. the role of omega 3 fatty acids in intestinal inflammation. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 12, n. 1, p. 21-32, 2001.

TOLEDO, T. M.; SILVA, B. C.; VIEIRA, F. D. N.; MOURIÑO, J. L. P.; SEIFFERT, W. Q. Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: water quality, biofloc composition, growth and health. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 6, p. 1841-1851, 2016.

TRAN-NGOC, K. T. *et al.* Salinity and diet composition affect digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 469, p. 36-43, 2017.

TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; NG, W. K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, n. 1, p. 10-57, 2009.

VALLE, B. C. S.; DANTAS JR, E. M.; SILVA, J. F. X.; BEZERRA, R. S.; CORREIA, E. S.; PEIXOTO, S. R. M.; SOARES, R. B. Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 105-112, 2015.

VAN BUSSEL, C. G. J.; SCHROEDER, J. P.; WUERTZ, S.; SCHULZ, C. The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v. 326, p. 163-167, 2012.

VAN BUSSEL, C. G. J. *et al.* Aquatic accumulation of dietary metals (Fe, Zn, Cu, Co, Mn) in recirculating aquaculture systems (RAS) changes body composition but not performance and

health of juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquacultural engineering**, v. 61, p. 35-42, 2014.

VAN RIJN, J.; TAL, Y.; SCHREIER, H. J. Denitrification in recirculating systems: theory and applications. **Aquacultural engineering**, v. 34, n. 3, p. 364-376, 2006.

VIAU, V. E. *et al.* Biofilm feeding by postlarvae of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda, Penaeidae). **Aquaculture Research**, v. 44, p. 783-794, 2013.

VILANI, F. G. *et al.* Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. **Aquacultural Engineering**, v. 74, p.70-75, 2016.

WALL, R.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. **Nutrition reviews**, v. 68, n. 5, p. 280-289, 2010.

WASIELESKY JR., W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C. L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1-4, p. 396-403, 2006.

WEI, Y. F.; LIAO, S. A.; WANG, A. L. The effect of diferente carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture**, v. 465, p. 88-93, 2016.

WIDANARNI, J. E.; MARYAM, S. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. cultured at different stocking densities. **Hayati journal of Biosciences**, v. 19, n. 2, p. 73-80, 2012.

WU, G. **Amino Acids: Biochemistry and Nutrition**. Florida: CRC Press, 2013. 458p.

WU, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 34, p. 1-12, 2014.

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.

XU, W. J.; MORRIS, T. C.; SAMOCHA, T. M. Effects of two commercial feeds for semi-intensive and hyper-intensive culture and four C/N ratios on water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles at high density in biofloc-based, zero-exchange outdoor tanks. **Aquaculture**, v. 490, p. 194-202, 2018.

XU, W. J.; PAN, L. Q. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 11, p. 1842-1851, 2014.

XU, W. J.; PAN, L. Q. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. **Aquaculture**, v. 356, p. 147-152, 2012.

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

YUAN, Y. C.; GONG, S. Y.; YANG, H. J.; LIN, Y. C.; YU, D. H.; LUO, Z. Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture**, v. 316, n. 1-4, p. 31-36, 2011.

YUN, H.; SHAHKAR, E.; HAMIDOGHLI, A.; LEE, S.; WON, S.; BAI, S. C. Evaluation of dietary soybean meal as fish meal replacer for juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc system. **International Aquatic Research**, v. 9, n. 1, p. 11-24, 2017.

ZAPATA-LOVERA, K. P. *et al.* Cultivo de alevines de tilapia en sistema biofloc bajo diferentes relaciones carbono/nitrógeno. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, V. 43, p. 399 - 407, 2017.

ZHANG, J.; CHEN, L.; DONG, H.; DUAN, Y.; LI, Z.; WEN, G.; XIE, J. Artificial substrates in zero-water-exchange culture system regulate the rearing performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) under the winter indoor condition. **Aquaculture research**, v. 47, p. 91-100, 2016.

ZHAO, D.; PAN, L.; HUANG, F.; WANG, C.; XU, W. Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, n. 4, p. 566-576, 2016.

ZHANG, N. *et al.* Growth, digestive enzyme activity and welfare of tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc-based system with poly- β -hydroxybutyric as a carbon source. **Aquaculture**, v. 464, p. 710–717, 2016.

APÊNDICE A - CULTIVO INTENSIVO, SUPERINTENSIVO E HIPERINTENSIVO DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO, *Oreochromis niloticus*, EM TANQUES BFT

RESUMO – O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da densidade super e hiperintensivas de estocagem de juvenis de tilápia do Nilo, em tanques BFT, sobre a qualidade da água, a composição centesimal de bioflocos e o desempenho zootécnico. Os juvenis de tilápia foram mantidos por dez semanas em 30 tanques de 100 L, onde foram avaliadas quatro densidades de estocagem, em dois sistemas distintos de cultivo (Convencional - CV e Bioflocos - BFT). A densidade de estocagem de referência (intensivo) foi empregada nos tratamentos CV1 e BFT1, sendo igual a 13,8 g peixe tanque⁻¹ de 100 L. A partir daí o dobro, o triplo e o quádruplo da densidade de estocagem empregada em CV1 e BFT1 foi utilizado nos tratamentos CV2 e BFT2 (superintensivo baixo); CV3 e BFT3 (superintensivo alto); CV4 e BFT4 (hiperintensivo), respectivamente. Isso representou a estocagem inicial de 6; 12; 18 e 24 juvenis de tilápia de 2,4 ± 0,1 g por tanque de 100 L. O aumento na densidade de estocagem reduziu a concentração de oxigênio dissolvido e a alcalinidade total. A intensificação do cultivo, nos tanques BFT, promoveu aumento significativo nas concentrações de gás carbônico, fósforo reativo, ferro dissolvido, matéria orgânica, sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis na água. Houve aumento nas concentrações de amônia e nitrito, nas primeiras semanas, e posterior declínio, ao final do cultivo. Os percentuais de proteína bruta e extrato etéreo dos bioflocos foram afetados pela densidade de estocagem. A densidade de estocagem inicial de 55,2 g peixe 100 L⁻¹ foi empregada, com segurança, nos tanques BFT, não tendo se observado redução nos índices de desempenho animal.

Palavras-chave: superintensivo, hiperintensivo, bioflocos, aquicultura

ABSTRACT - The present work aimed at assessing the effects of super and hyperintensive Nile tilapia stocking densities, in BFT tanks, on variables of water quality, bioflocs' proximal composition and growth performance. Tilapia juveniles were maintained for 10 weeks in 30 indoor 100-L tanks where four fish stocking densities were evaluated, in two distinct culture systems (conventional – CV and bioflocs – BFT). The fish stocking density of reference was 13.8 g fish/100-L tank and it was used in the CV1 and BFT1 tanks (intensive tanks). From that, the double, triple and four times the fish stocking density of reference were employed in CV2 and BFT2 (low superintensive tanks), CV3 and BFT3 (high superintensive tanks); and CV4 and BFT4 (hyperintensive tanks) tanks, respectively. That design represented the stocking of 6, 12,

18 and 24 tilapia juveniles of 2.4 ± 0.1 g per 100-L tank. Higher fish stocking densities have lowered the DO₂ and total alkalinity concentrations. The culture intensification has led to significant increases of CO₂, reactive phosphorus, dissolved iron, organic matter, total suspended solids and settleable solids in BFT tanks. Ammonia and nitrite have increased in the first experimental weeks but decreased near the end of the period. The bioflocs biomass composition, regarding crude protein and ether extract, was affected by intensification. The hyperintensive initial fish stocking level employed in the present work, that is, 55.2 g fish 100 L⁻¹, was considered safe for BFT tanks because it has not led to growth performance impairment.

Keywords: superintensive, hiperintensive, bioflocs, aquaculture

INTRODUÇÃO

O sistema de produção de organismos aquáticos cultivados, baseado no ajuste da relação C:N da água (BFT), visa estabelecer as condições necessárias para o desenvolvimento de abundante comunidade microbiana heterotrófica, no meio de cultivo, tendo em vista o controle da qualidade de água de tanques superintensivos. Para isso, adiciona-se à água uma fonte suplementar de carbono orgânico, que seja pobre em N, geralmente carboidratos. Para que os agregados microbianos, denominados bioflocos, permaneçam em suspensão na coluna d'água, os tanques BFT devem ser providos de aeração e agitação intensas e contínuas da água (AVNIMELECH, 2007; De SCHRYVER *et al.*, 2008). Ao crescerem, as bactérias heterotróficas assimilam amônia da água para produção de proteína microbiana, que pode servir como fonte alimentar para os animais cultivados (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; KUMAR *et al.*, 2018).

Em tanques BFT de aquicultura, diferentemente dos tanques tradicionais, ocorre pouca ou mesmo nenhuma troca de água durante o ciclo de produção. Com isso, o risco da entrada de agentes patogênicos em tanques BFT é baixo, além do que há mínima ou descarga zero de efluentes para o meio ambiente (LORENZO *et al.*, 2016). Logo, o volume de água utilizado em tanques BFT é menor, quando comparado aos sistemas convencionais, o que propicia aumento na eficiência da utilização dos recursos hídricos pela aquicultura (KRUMMENAUER *et al.*, 2016). Os benefícios da tecnologia BFT para aquicultura se tornam mais evidentes quando as densidades de estocagem dos tanques são muito elevadas ou quando se faz restrição no fornecimento de dietas artificiais (CAVALCANTE *et al.*, 2017a).

Entretanto, a aplicação da tecnologia BFT para aquicultura, em larga escala, ainda é limitado. Por ser um sistema de cultivo mais complexo e dispendioso e relativamente novo,

os potenciais produtores ainda carecem de maiores informações para que possam investir e trabalhar com segurança. Para instalação do sistema BFT em aquicultura, deve-se adquirir considerável número de equipamentos para aeração e movimentação da água. Além disso, os viveiros escavados precisam ser revestidos com geomembrana para evitar a erosão do solo. A mão-de-obra, necessária para operacionalizar os tanques de produção, deverá ter treinamento específico para manejo de tanques superintensivos. Um outro agravante para uso em larga escala da tecnologia BFT para aquicultura é a percepção, por parte dos potenciais produtores, de que o pescado produzido, em tanques com alta carga de matéria orgânica, teria baixa aceitação no mercado consumidor (RODRIGUES *et al.*, 2015).

O cultivo superintensivo de peixes e camarões, em tanques BFT, requer o monitoramento sistemático e cuidadoso da qualidade de água. A água de cultivo, quando não manejada devidamente, deteriora de modo rápido. As elevadas concentrações de sólidos em suspensão na água podem prejudicar a respiração e, com isso, o crescimento dos animais cultivados (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006; HARGREAVES, 2006; RAY; DILLON; LOTZ, 2011). Zapata-Lovera *et al.* (2017) relataram que o ajuste da relação C:N para apenas 10:1 seria melhor do que para níveis mais elevados porque haveria menor concentração de sólidos sedimentáveis na água.

As variáveis de qualidade de água mais impactadas pelo sistema BFT de cultivo, e que, por isso, merecem monitoramento constante, são as seguintes: oxigênio dissolvido (O_2), gás carbônico livre (CO_2), potencial hidrogeniônico (pH), alcalinidade e nitrito (NO_2^-). Tanques BFT demandam muito O_2 dissolvido por conta das altas densidades de estocagem e do abundante crescimento bacteriano. Bactérias autotróficas, que vivem associadas aos bioflocos, consomem formas de carbono inorgânico dissolvido, reduzindo a alcalinidade e pH da água (MARTINS *et al.*, 2017). A intensa liberação de CO_2 para o meio também promove maior acidificação da água (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Devido ao desenvolvimento mais lento das bactérias *Nitrobacter*, o acúmulo de nitrito em tanques BFT de aquicultura é um problema frequente (LIU *et al.*, 2014; e LUO *et al.*, 2014).

Por se tratar de um sistema superintensivo de produção, que exige maior investimento de capital e possui maiores custos operacionais, os tanques BFT devem ser operados em níveis próximos ao da capacidade de suporte para que o negócio se torne economicamente viável e, por consequência, sustentável. Existe, portanto, uma tendência de se empregar densidades hiperintensivas de estocagem de animais, em tanques BFT de aquicultura. Nessa situação, entretanto, as alterações limnológicas do meio de cultivo serão, provavelmente, expressivas e impactantes, sendo necessário a compreensão de sua dinâmica para que se possa

manejar corretamente essas unidades produtivas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de densidades super e hiperintensivas de estocagem de juvenis de tilápia do Nilo, em tanques BFT, sobre a qualidade da água de cultivo, a composição centesimal de bioflocos e o desempenho zootécnico.

MATERIAL E MÉTODOS

Sistema de cultivo e população experimental

O estudo foi realizado no Laboratório de Ciência e Tecnologia Aquícola – LCTA, unidade de pesquisa pertencente ao Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará). O experimento foi realizado em sistema *indoor* de cultivo, que está instalado em sala abrigada, não havendo, portanto, a incidência de luz solar sobre as unidades experimentais. Foram utilizados 30 tanques circulares de polietileno de 100 L cada, todos providos de aeração mecânica ininterrupta.

Juvenis masculinizados de tilápia do Nilo, com peso corporal médio de $1,91 \pm 0,05$ g foram obtidos na fazenda São Pedro Aquicultura Ltda (Itaitinga, Ceará) e transportados até as instalações do laboratório. Ao chegar ao laboratório, os animais foram estocados em um tanque circular de polietileno de 1000 L para aclimação às condições laboratoriais por cinco dias. Inicialmente, os peixes foram submetidos a desinfecção com permanganato de potássio na água, aplicado na concentração de 4 mg L^{-1} . Os animais permaneceram na água contendo permanganato por 48 horas. Em seguida, foi aplicado tiosulfato de sódio, na concentração de 4 mg L^{-1} , para neutralizar a ação residual do permanganato de potássio.

Durante a fase de aclimação, os animais foram alimentados quatro vezes ao dia, às 8 h, 11 h, 14 h e 17 h, com ração comercial balanceada para peixes tropicais onívoros (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará), contendo 40% de proteína bruta, na taxa de 10% do peso vivo dia^{-1} . Terminada a fase de aclimação, os animais foram distribuídos nos tanques experimentais, de acordo com o delineamento experimental, descrito a seguir.

Sistema de aeração e agitação da água

Os tanques de cultivo receberam aeração contínua, a partir do uso de um soprador de ar com potência de 2,5 CV, que estava conectado a tubulações de PVC. Para cada unidade

experimental, existiam válvulas reguladoras de vazão de ar, unidas aos canos de PVC, às quais foram inseridas mangueiras de silicone. Na extremidade livre da mangueira, foram conectadas três ramais com pedras porosas para fornecimento de ar forçado e movimentação da água. Não houve troca de água nos tanques de cultivo durante todo o período experimental, apenas reposição de água para manutenção do nível inicial.

Delineamento experimental

Ao longo de dez semanas, juvenis de tilápia do Nilo ($2,30 \pm 0,06$ g) foram mantidos em 30 tanques experimentais de 100 L. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 4 x 2. Foram avaliadas quatro densidades de estocagem, em dois sistemas distintos de cultivo (Convencional - CV e Bioflocos - BFT), totalizando oito grupos experimentais (Tabela 1). Os tratamentos CV1 e BFT1 receberam três repetições cada; os demais tratamentos, isto é, CV2, CV3, CV4, BFT2, BFT3 e BFT4, receberam quatro repetições cada. A densidade de estocagem empregada nos tratamentos de referência, isto é, CV1 e BFT1 (tanques intensivos), foi a mesma apontada por Santos (2014) como sendo a densidade de estocagem inicial, ideal para o sistema *indoor* do laboratório, isto é, 13,8 g tanque 100 L^{-1} . A partir daí, utilizou-se, nos tratamentos CV2 e BFT2 (tanques superintensivos - baixo); CV3 e BFT3 (tanques superintensivos - alto); CV4 e BFT4 (tanques hiperintensivos), o dobro, o triplo e o quádruplo da densidade de estocagem empregada em CV1 e BFT1, respectivamente. Com isso, as densidades de estocagem nos tratamentos CV2 e BFT2; CV3 e BFT3; CV4 e BFT4 foram iguais a 27,6, 41,4 e 55,2 g tanque 100 L^{-1} , respectivamente. O número de peixes estocado em cada tanque foi obtido pela divisão da biomassa total inicial, isto é, 13,8; 27,6; 41,4 e 55,2 g, a depender do tratamento, pelo peso corporal inicial médio dos peixes (2,30 g). Com isso, foram estocados 6, 12, 18 e 24 juvenis de tilápia nos tanques CV1 e BFT1; CV2 e BFT2; CV3 e BFT3; CV4 e BFT4, respectivamente.

Tabela 1 - Delineamento experimental

Sistema de cultivo	Densidade de estocagem ¹			
	1x	2x	3x	4x
Convencional	CV1	CV2	CV3	CV4
Bioflocos	BFT1	BFT2	BFT3	BFT4
Classificação	Intensivo	Superintensivo baixo	Superintensivo alto	Hiperintensivo

¹ A densidade de estocagem 1x correspondeu a 13,8 g peixe tanque 100 L⁻¹. As densidades de estocagem 2x, 3x e 4x corresponderam ao dobro, triplo e quádruplo da densidade empregada em 1x, respectivamente.

Manejo da relação C:N da água e correção da alcalinidade e pH

Em todos os tanques experimentais BFT, foi realizado o ajuste diário da relação C:N da água para 15:1, pela aplicação de melaço em pó (Indumel, Biosev S.A., Sertãozinho, SP) à água de cultivo. A quantidade de melaço, aplicada em cada unidade experimental, foi determinada em função da quantidade de ração fornecida aos tanques, utilizando-se da fórmula apresentada por Avnimelech (1999). Quando necessário, quantidades determinadas de bicarbonato de sódio foram aplicadas aos tanques para ajustar a alcalinidade total e o pH da água, com objetivo de manter essas variáveis sempre em valores iguais ou superiores a 100 mg L⁻¹ CaCO₃ eq. e 7,0, respectivamente. Para isso, a seguinte expressão matemática foi utilizada: $y = 0,0015x + 0,0044$, onde x = aumento desejado na alcalinidade total da água (mg L⁻¹); e y = quantidade de NaHCO₃ a ser adicionada em 1 L de água (em gramas). Essa equação foi obtida em trabalho anteriormente realizado no laboratório, com a diferença de se ter utilizado o Na₂CO₃, no lugar do NaHCO₃, como composto alcalinizante.

Manejo alimentar

As taxas de arraçoamento empregadas no trabalho obedeceram ao apresentado na Tabela 2. O ajuste da quantidade de ração ofertada aos peixes foi realizado quinzenalmente, por ocasião das biometrias dos animais. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia, as 8 h, 11 h, 14 h e 17 h. Nas seis primeiras semanas, os peixes foram alimentados com ração em pó para peixes tropicais (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará); nas semanas posteriores, os animais receberam ração peletizada de 2-3 mm (Aquamix AL-10, Integral Mix, Fortaleza, Ceará). Amostras das rações comerciais foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal

(Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará), para determinação do teor de proteína bruta (PB). As rações comerciais, em pó e extruzada, referidas acima, apresentavam 39,6% e 31,7% PB, respectivamente.

Tabela 2 - Programa alimentar empregado no presente trabalho

Peso do juvenil (g)	% biomassa/dia
2,0 - 2,5	10,5
2,5 - 3,0	9,8
3,0 - 3,5	9,0
3,5 - 4,5	8,3
4,5 - 5,5	7,5
5,5 - 7,0	6,8
7,0 - 9,0	6,0
9,0 - 16,0	5,6
16,0 - 20,0	5,3
20,0 - 25,0	4,5
25,0 - 30,0	3,8
30,0 - 35,0	3,8
35,0 - 40,0	3,8

Monitoramento de variáveis limnológicas

Variáveis físico-químicas de qualidade de água foram monitoradas, ao longo do experimento, da seguinte forma: pH (medidor de pH mPA210 - MS Tecnopon®), temperatura, condutividade elétrica (condutivímetro CD-850) e oxigênio dissolvido (oxímetro 55 - YSI), diariamente, as 9:00 h; alcalinidade total (titulação com solução-padrão de H₂SO₄), nitrogênio amoniacal total (NAT; método do indofenol), nitrito (método da sulfanilamida) e nitrato (método da coluna redutora de Cádmio), semanalmente; dióxido de carbono livre (CO₂ livre; titulação com solução-padrão de Na₂CO₃), dureza total (titulação com solução-padrão de EDTA), fósforo reativo (método do azul de molibdênio), ferro dissolvido II (método colorimétrico de Herapath)

e matéria orgânica (método do oxigênio consumido), quinzenalmente.

A concentração de NH_3 foi obtida através de cálculo, pela aplicação dos valores de NAT, pH e temperatura da água à fórmula de Emerson (EL-SHAFAI *et al.*, 2004). As determinações de qualidade de água referidas acima foram realizadas conforme as metodologias descritas por Sá (2015). Semanalmente, determinou-se as concentrações de sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis, segundo Boyd e Tucker (1992).

Monitoramento de variáveis zootécnicas

O desempenho zootécnico dos juvenis de tilápia foi avaliado pelo monitoramento dos seguintes indicadores (BUSACKER *et al.*, 1990; CAVALCANTE *et al.*, 2017): sobrevivência, peso corporal final, ganho em peso semanal, taxa de crescimento específico ($\text{TCE} = [\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})]/\text{dias de cultivo} \times 100$), produtividade de pescado, fator de conversão alimentar ($\text{FCA} = \text{ração ofertada}/\text{ganho em peso corporal}$) e taxa de eficiência proteica ($\text{TEP} = \text{ganho em peso}/\text{proteína ofertada}$). Para isso, realizou-se biometrias quinzenais dos animais cultivados.

Determinação da composição centesimal dos bioflocos

A composição centesimal dos bioflocos foi determinada no Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEP), pertencente ao Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará). A análise da composição centesimal seguiu os procedimentos indicados pela AOAC (2000). As seguintes variáveis químico-bromatológicas foram determinadas: proteína bruta (método Kjeldahl), lipídeos (método Soxhlet), cinzas (incineração em forno mufla) e umidade (secagem a $105^\circ\text{C}/24$ h). Foi determinado o teor de cinzas do melaço em pó seguindo a metodologia anteriormente citada.

Três litros de água foram coletados de cada tanque experimental e colocados em três cones *Imhoff*, por 30 min, para sedimentação do bioflocos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e os bioflocos sedimentados foram filtrados em filtro com abertura de malha de $40\mu\text{m}$. A biomassa de bioflocos concentrada na malha foi então utilizada nas determinações de composição centesimal.

Para as determinações de lipídios e proteína bruta, as amostras de bioflocos foram previamente secas em estufas a 105°C , por doze horas para, em seguida, foram maceradas. O

teor de umidade das amostras foi determinado através da secagem de 2 g de bioflocos concentrados em estufa, a 105°C, por 24 h. A diferença observada no peso da amostra, antes e depois da secagem, foi expressa em porcentagem. A determinação do teor de cinzas foi realizada pela queima da amostra em forno mufla, a 550°C, durante 4 h. Em seguida, o material foi resfriado em dessecador e pesado em balança de precisão. As determinações químico-bromatológicas foram realizadas, em triplicata, para todas as variáveis.

Análise estatística

Os resultados de qualidade de água e desempenho produtivo foram analisados por ANOVA bifatorial para experimentos inteiramente casualizados. Para as variáveis químico-bromatológicas, os resultados foram comparados através de ANOVA unifatorial. Existindo diferenças significativas entre as médias, as mesmas foram comparadas, duas a duas, através do teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5%. As pressuposições de distribuição normal e de homogeneidade de variância foram checadas antes da aplicação da ANOVA. Os dados em porcentagem e razão foram analisados após transformação para arcosseno. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

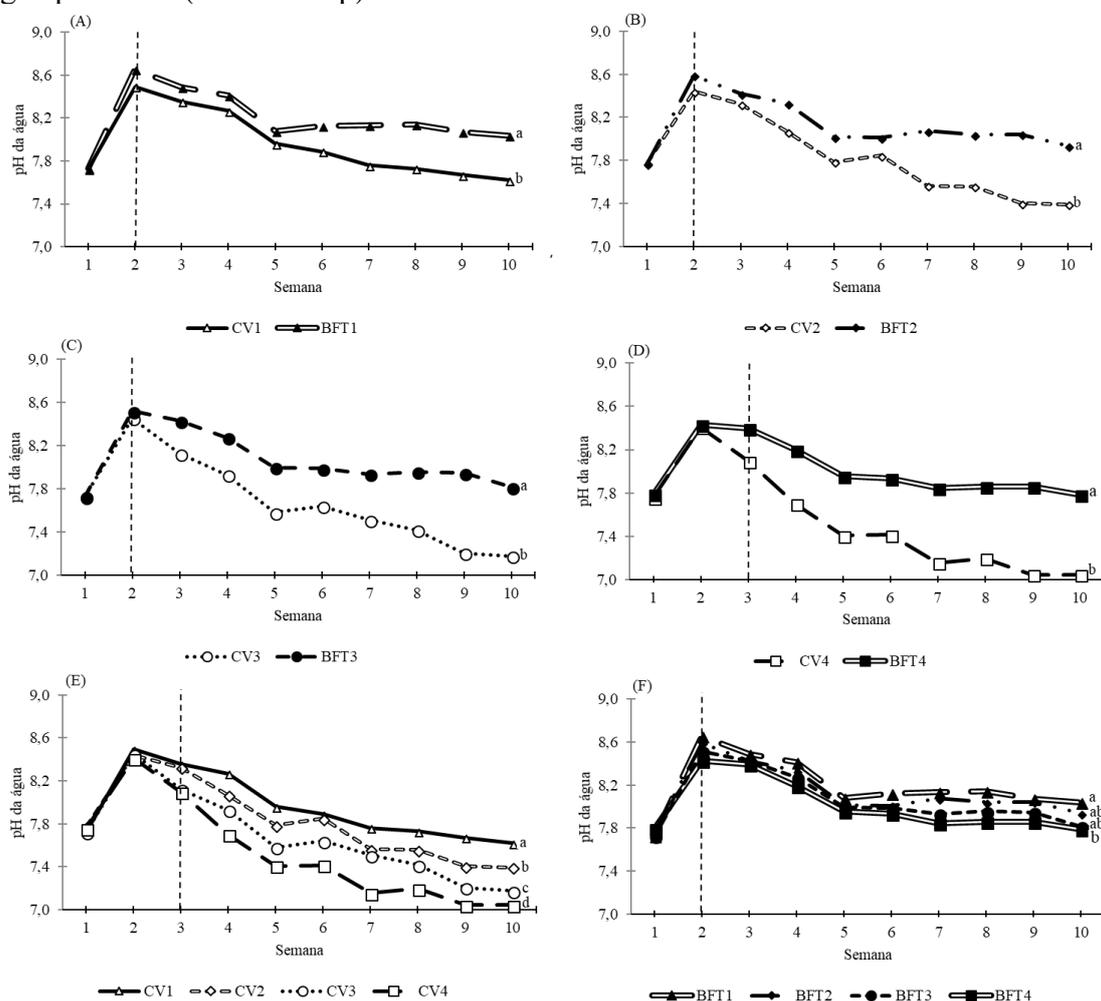
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade de água

No início do período experimental, houve aumento no pH da água, em todos os tratamentos (Figura 1). A partir da segunda semana, o pH da água caiu continuamente até o final, mas de forma diferenciada entre tanques convencionais (CV) e alternativos (BFT). O processo de acidificação da água foi mais intenso nos tanques CV. Após 10 semanas, o pH da água dos tanques CV foi significativamente menor do que dos tanques BFT, independentemente da densidade de estocagem. Como melaço em pó, foi utilizado um produto comercial que, provavelmente, era constituído por uma mistura de melaço de cana-de-açúcar com calcário ou cal agrícola. O elevado teor de cinzas no produto utilizado, isto é, $22,8 \pm 0,3\%$, e seu pH de 8,3, reforçam essa sugestão. O melaço utilizado por Vilani *et al.* (2016) também continha teor de cinzas elevado (22,1%). Com isso, a aplicação desse produto na água serviu a duplo propósito: 1 – ajustou a relação C:N da água e 2 – corrigiu o pH da água. Os produtos comercializados

como “melaço em pó” são comumente usados na alimentação de ruminantes, como fonte energética e palatabilizante, apresentando aditivos minerais na sua composição (DA COSTA *et al.*, 2015).

FIGURA 1 – pH da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

Nos tanques CV, a queda no pH da água foi maior nas unidades com maior densidade de estocagem de peixes (CV3, CV4 – superintensivo alto e hiperintensivo). Nos tanques BFT, ao final de 10 semanas de cultivo, o pH da água foi menor em BFT4

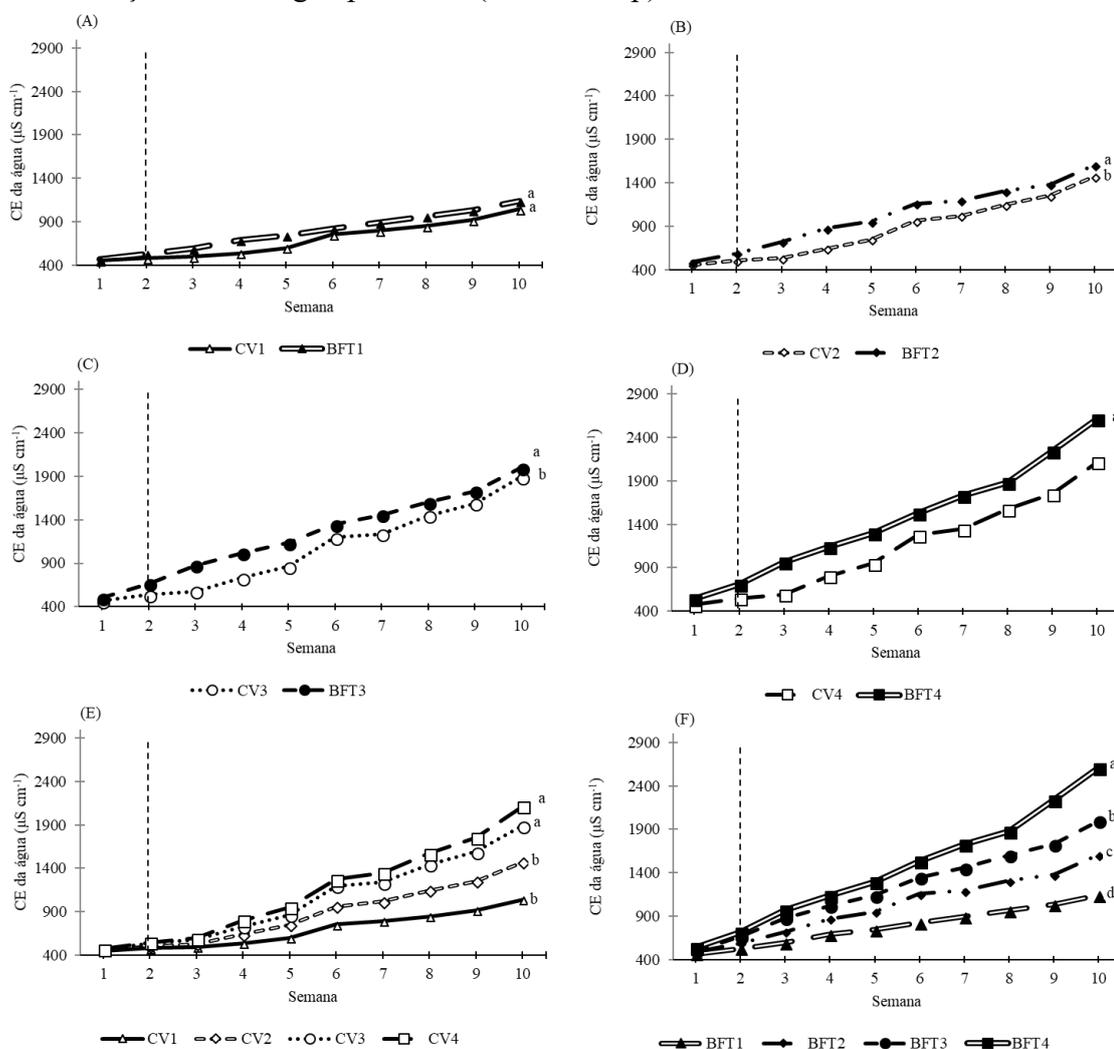
(hiperintensivo), quando comparado aos tanques BFT1 (intensivo; $p < 0,05$; Figura 1). Com o aumento na densidade de estocagem de peixes, o monitoramento do pH e da AT da água de cultivo deveria ser mais frequente, já que o processo de acidificação, nesse caso, é mais intenso. Em tanques BFT, vários fatores reduzem a alcalinidade e o pH da água. Bactérias heterotróficas e, principalmente, autotróficas consomem carbonatos e bicarbonatos, liberando CO_2 para o meio (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Portanto, a calagem da água, em tanques BFT de maior densidade de estocagem, deveria ser maior e/ou mais frequente. Lima *et al.* (2015) avaliaram diferentes densidades de estocagem de juvenis de tilápia, em tanques BFT, tendo observado redução significativa na AT da água. De igual modo, Lorenzo *et al.* (2016) observaram redução no pH da água nos tanques BFT com maior densidade de estocagem de pós-larvas de camarão *Litopenaeus vannamei*.

A condutividade elétrica (CE) da água aumentou progressivamente durante todo o cultivo, mas de modo diferenciado entre tanques CV e BFT (Figura 2). A partir da segunda semana de cultivo, já havia diferenças significativas entre os tratamentos para CE. Ao final de 10 semanas, os valores de CE dos tanques BFT2, BFT3 e BFT4 foram significativamente maiores que os valores observados em CV2, CV3 e CV4, respectivamente ($p < 0,05$).

A qualidade da água de cultivo é mais impactada em tanques BFT do que em tanques convencionais. Daí o sistema BFT exigir maior atenção e conhecimento técnico para que se possa operacionalizar, com sucesso, os tanques. O correto gerenciamento da qualidade da água de tanques BFT impõe ao produtor o desafio de superar diversos fatores limitantes, tal como acúmulo de nitratos e fosfatos, que contribuem para elevação da CE da água (PRANGNELL *et al.*, 2016). O aumento na CE da água pode estar relacionado com a elevação da concentração de íons dissolvidos, pela entrada de melão e maior mineralização da matéria orgânica, nos tanques com bioflocos.

Não houve diferença significativa entre os tanques CV1 e BFT1 para CE. Os tanques CV3 e CV4 (superintensivo alto e hiperintensivo) apresentaram leituras finais de CE maiores que aquelas observadas em CV1 e CV2 (intensivo e superintensivo baixo; $p < 0,05$; Figura 2). Nos tanques BFT, a CE da água aumentou de modo significativo com o aumento na densidade de estocagem. Com o aumento na CE da água, nos tanques mais adensados com peixe, alterações significativas, e talvez estressantes, poderão ocorrer na atividade osmorregulatória dos animais cultivados. Apesar da sua reconhecida rusticidade, a digestibilidade da tilápia do Nilo pode ser afetada pelo aumento nas concentrações de sais ou íons dissolvidos na água (TRAN-NGOC *et al.*, 2017). Essa questão mereceria ser investigada em trabalhos futuros.

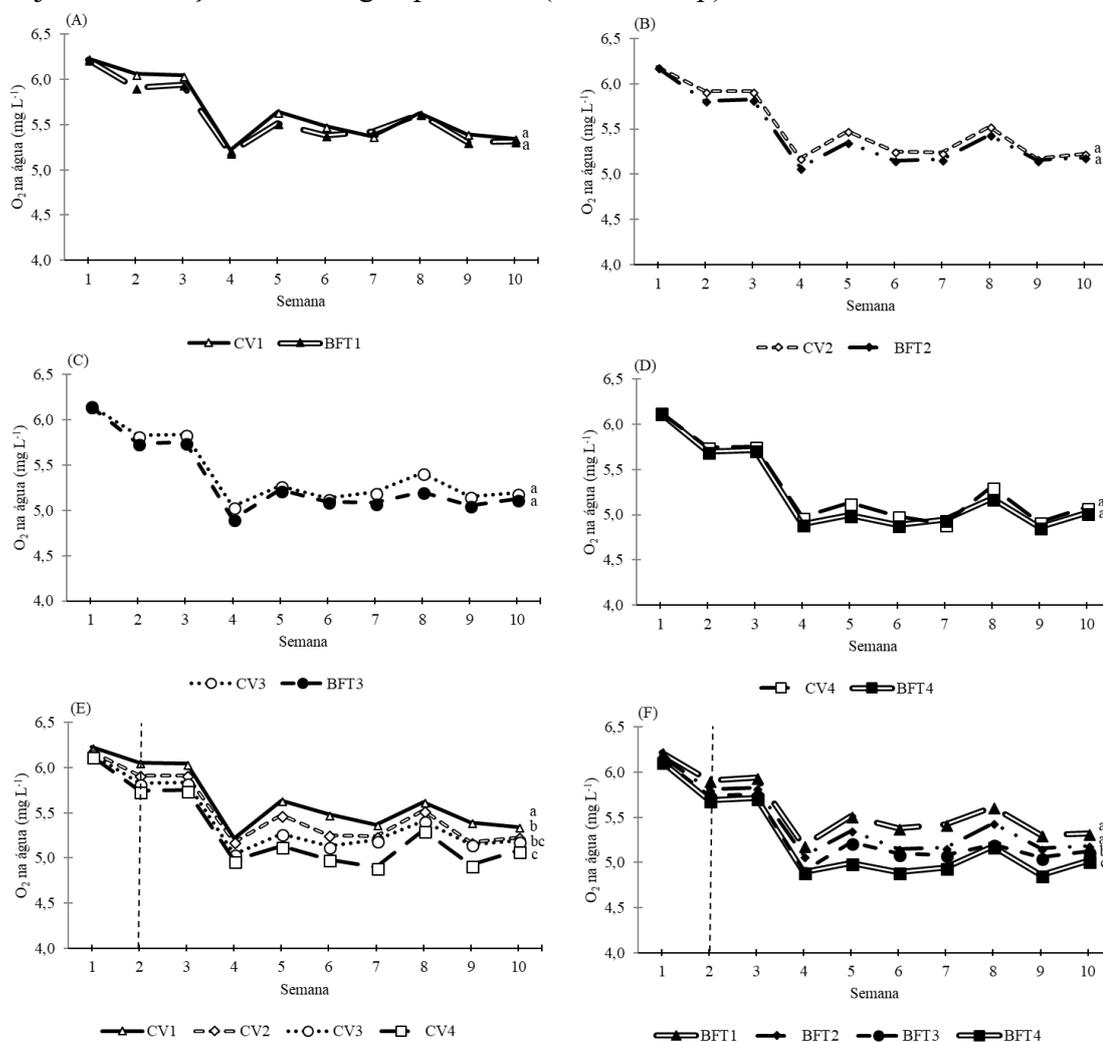
FIGURA 2 – Condutividade elétrica (CE) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

A concentração de O_2 dissolvido na água diminuiu até a quarta semana de cultivo, mantendo-se relativamente constante a partir daí (Figura 3). A queda do O_2 sugere que o regime de aeração dos tanques experimentais do laboratório estava subdimensionado para suportar o aumento na DBO. Em trabalhos futuros, espera-se prevenir essas reduções no O_2 , com a instalação das mangueiras microporosas, nos tanques. Ray, Drury e Cecil (2017) destacam a dificuldade para operar tanques BFT devido à alta demanda por aeração da água.

FIGURA 3 – Concentração de oxigênio dissolvido na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



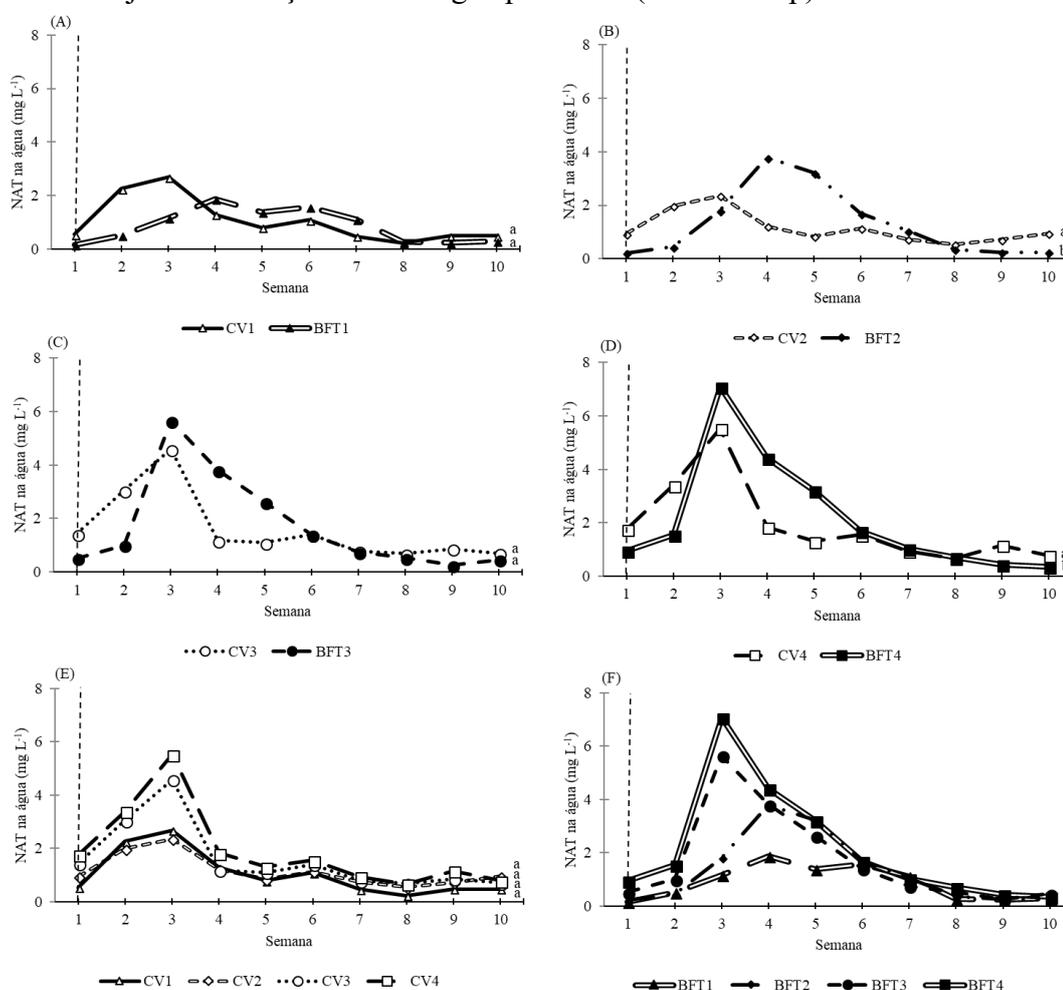
¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

Ao final, as diferenças existentes para concentração de O_2 na água, entre tanques CV e BFT, em cada densidade de estocagem, não foram significativas ($p > 0,05$). Com o aumento na densidade de estocagem, tanto em CV como em BFT, a concentração de O_2 caiu de modo significativo. Desse modo, menores concentrações de O_2 na água foram observadas, ao final, em CV4 (hiperintensivo), quando comparado a CV1 (intensivo); e em BFT4 (hiperintensivo), quando comparado a BFT1 (intensivo; $p < 0,05$; Figura 3). À medida que a biomassa estocada de peixes e camarões aumenta, ou seja, à medida que o cultivo BFT se torna cada vez mais intensivo, deve-se tomar as medidas e precauções necessárias, em relação à aeração e

movimentação da água, para manter as concentrações de O_2 dissolvido na água de cultivo acima de $5 - 6 \text{ mg L}^{-1}$, inclusive no fundo. O O_2 é o fator que mais limita a produção aquícola, em sistemas intensivos (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Em tanques BFT, a alta demanda por O_2 se deve à maior concentração de matéria orgânica (SCHVEITZER *et al.*, 2013) e à alta taxa de respiração microbiana (FERREIRA *et al.*, 2015). LIU *et al.* (2017) verificaram redução da concentração de O_2 dissolvido na água, em tanques BFT, quando a densidade de estocagem de *L. vannamei* passou de 300 para 500 camarões m^{-3} .

De modo geral, ocorreu aumento na concentração de NAT até a terceira semana experimental, tanto em tanques CV como BFT, havendo redução a partir daí (Figura 4).

FIGURA 4 – Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

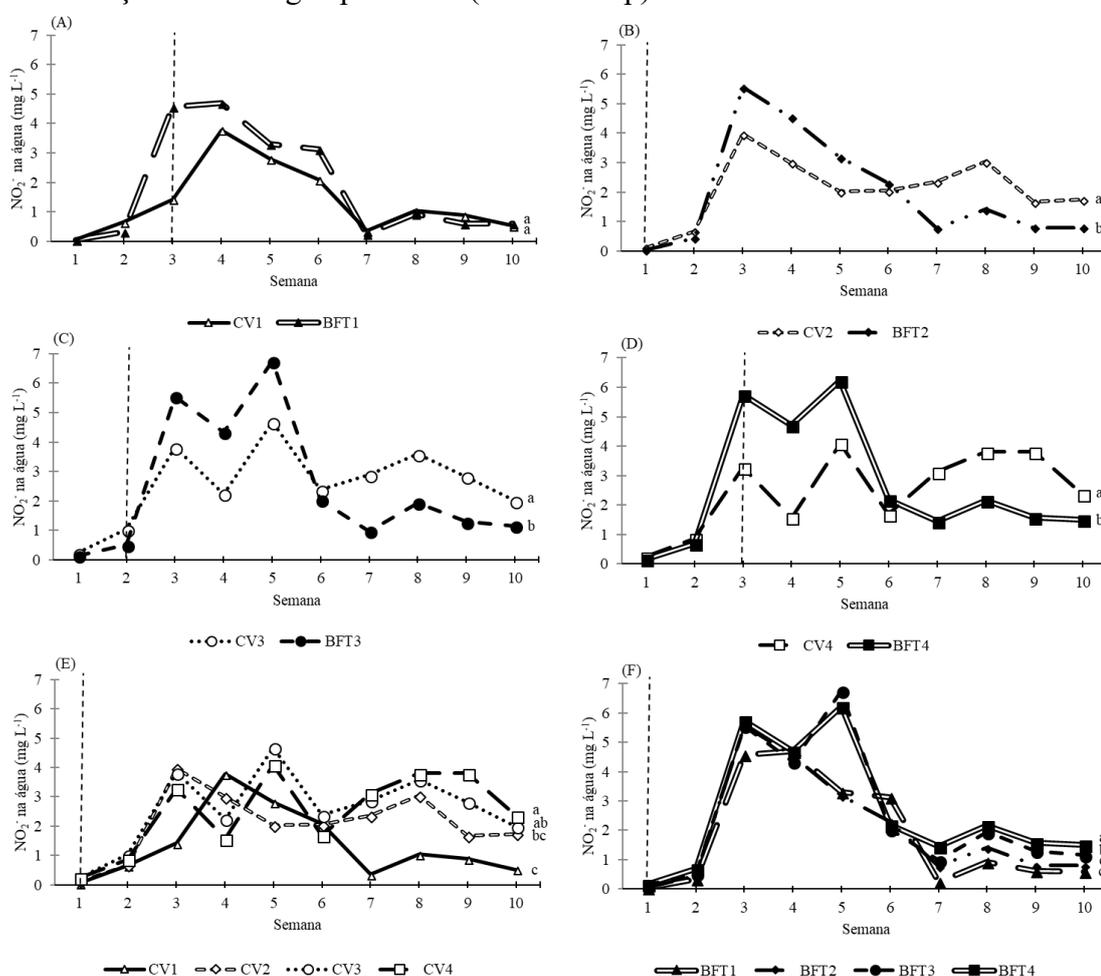
Sugere-se, portanto, que foram necessários vinte e um dias para formação e amadurecimento das populações bacterianas autotróficas e heterotróficas, respectivamente, nos tanques experimentais. Esse intervalo de tempo está dentro do período observado por Bakar *et al.* (2015), que obtiveram a redução de 93,6% do NAT, após 12 dias, e a remoção quase total, após 30 dias. Variações no intervalo de tempo necessário para formação e amadurecimento de comunidades bacterianas são devidas à ação de diferentes fatores, tais como fonte de carbono, relação C:N, concentração de O₂ e temperatura da água.

As variações nas concentrações de NAT da água, ao longo do tempo, foram semelhantes entre tanques CV e BFT, em cada densidade de estocagem. Nas três semanas iniciais, os tanques CV e BFT, com maiores densidades de estocagem, isto é, CV3, CV4; BFT3 e BFT4 (superintensivo alto e hiperintensivo), apresentavam maiores concentrações de NAT na água que os tanques com menores densidades de estocagem, isto é, CV1, CV2; BFT1 e BFT2 (intensivo e superintensivo baixo), respectivamente. Desse ponto até o final, as concentrações de NAT, entre os diferentes tratamentos, foram sendo reduzidas em todos os tanques, não se observando diferenças significativas entre eles ($p > 0,05$; Figura 4). O produtor de peixes e camarões, em tanques BFT superintensivos e hiperintensivos, deveria adotar alguma estratégia para controlar as concentrações de NAT no início do ciclo de produção, período no qual os bioflocos ainda não estão maduros. Uma sugestão é o preenchimento parcial do tanque com água rica em bioflocos produzidos em outra unidade. Serra *et al.* (2015) recomendaram a inoculação da água de cultivo, de tanques-berçários BFT de carcinicultura, nos tanques principais, para obtenção de maior estabilidade físico-química do meio de cultivo. Krummenauer *et al.* (2012) verificaram que a inoculação de água oriunda de um cultivo em bioflocos, na taxa de 2,5%, acelerou a formação de agregados microbianos e ajudou na manutenção da qualidade de água, em cultivos subsequentes.

As concentrações de nitrito na água dos tanques cresceram em todos os tratamentos, aproximando-se de 7 mg L⁻¹, após três semanas (Figura 5). Entre a 3^a e 4^a semana, as concentrações de nitrito na água de cultivo começaram a decrescer, alcançando valores inferiores a 2 mg L⁻¹, ao final. Assim como discutido para a amônia, dever-se-ia empregar alguma estratégia, no início do ciclo de produção, para o controle do nitrito na água, no período que antecede o desenvolvimento das bactérias autotróficas. Uma sugestão seria a aplicação de sal comum, em tanques preenchidos com água doce ou oligohalina, tal como na criação de camarão marinho com a utilização de água de poço (ATWOOD *et al.*, 2001). Uma outra medida seria a aplicação de nitrito de sódio, em fase preparatória ao cultivo, para favorecer o

crescimento de bactérias *Nitrobacter*, em tanques BFT (OTOSHI; RODRIGUEZ; MOSS, 2011).

FIGURA 5 – Concentração de nitrito (NO_2^-) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

Exceto pelos tanques CV1 e BFT1, que não diferiram entre si, as concentrações finais de nitrito nos tanques BFT foram menores que os respectivos valores observados nos tanques CV ($p < 0,05$). Tanto em CV como BFT, os tanques com maiores densidades de estocagem, isto é, CV3, CV4; BFT3 e BFT4 (superintensivo alto e hiperintensivo), apresentaram concentrações finais de nitrito na água significativamente maiores que os tanques com menores densidades de estocagem, isto é, CV1, CV2; BFT1 e BFT2 (intensivo e superintensivo baixo), respectivamente ($p < 0,05$; Figura 5). O produtor, que deseja aumentar a

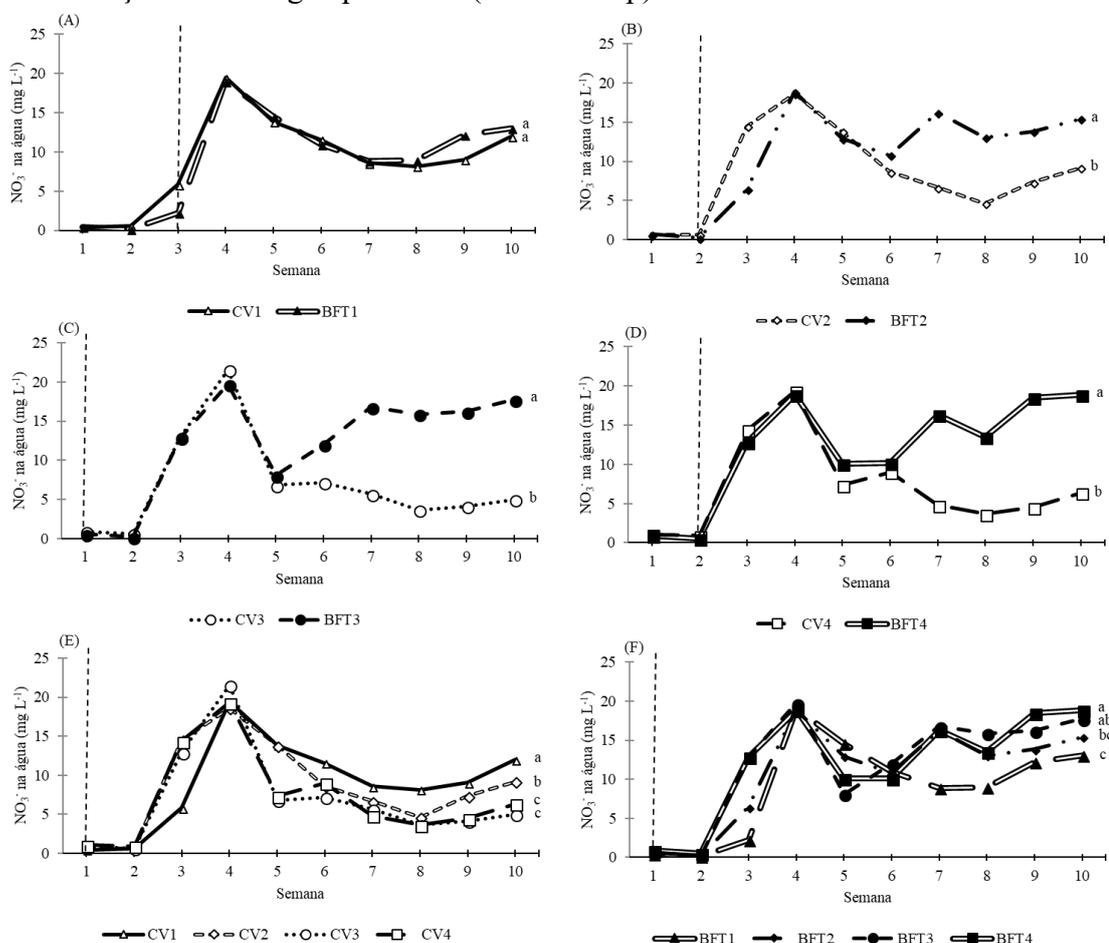
produtividade de seus tanques BFT, deverá se precaver quanto à toxicidade do nitrito. Trabalhos realizados indicaram que o acúmulo de nitrito é comum em tanques BFT de aquicultura (AZIM; LITTLE, 2008; RAY; DRURY; CECIL, 2017; LIU *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2014). A solução para essa questão ainda não foi devidamente equacionada pela ciência. Entretanto, bons resultados no controle do nitrito em tanques BFT têm sido obtidos com o uso de substratos submersos, destinados a promover aumento na taxa de nitrificação bacteriana (ASADUZZAMAN *et al.*, 2008; ASADUZZAMAN *et al.*, 2009). O uso de substrato artificial facilita a aderência de microrganismos que auxiliam na redução de amônia e nitrito na água (VIAU *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2016), servem de alimentos para os animais (LARA *et al.*, 2016) e reduzem o estresse dos animais em sistemas com alta densidade de estocagem (SCHVEITZER *et al.*, 2013).

Exceto pelos tanques CV1 e BFT1, as concentrações de nitrato na água de cultivo foram maiores, ao final do período experimental, nos tanques BFT ($p < 0,05$; Figura 6). Esse é um problema recorrente em tanques BFT de aquicultura, isto é, o acúmulo de nitrato na água (HARGREAVES, 2013; EFFENDY, AL DEEN, CHITHAMBARAN, 2016; AHMAD *et al.*, 2017). Embora o nitrato apresente baixa toxicidade aos animais aquáticos, as concentrações desse composto poderão alcançar níveis muito elevados com o tempo, capazes de provocar estresse (VAN RIJN; TAL; SCHREIER, 2006). Em baixas salinidades, o acúmulo de nitrato no sistema pode ter um impacto ainda maior sobre os animais cultivados. Kuhn *et al.* (2010) observaram que a associação de altas concentrações de nitrato e baixas salinidades favoreceram aumento na taxa de mortalidade de camarões *L. vannamei*. O processo de clarificação da água, cujo principal objetivo é a redução da concentração de sólidos suspensos na água, pode ser eficientemente empregado para diminuir as concentrações de nitrato (GAONA *et al.* 2011).

As diferenças nas concentrações finais de nitrato foram maiores entre os tanques com maiores densidades de estocagem, isto é, CV3 x BFT3 (superintensivo alto); CV4 x BFT4 (hiperintensivo). Nos tanques CV, maiores concentrações finais de nitrato na água foram observadas nos tanques com menores densidades de estocagem, isto é, CV1 e CV2 ($p < 0,05$). Já nos tanques BFT, ocorreu o inverso, ou seja, as maiores concentrações finais de nitrato na água foram observadas nos tanques com maiores densidades de estocagem, isto é, BFT3 e BFT4 (superintensivo alto e hiperintensivo; $p < 0,05$; Figura 6). O aumento no nível de intensificação do cultivo BFT demanda do produtor, entre outras providências, o uso mais frequente de equipamentos clarificadores da água, que previnam a ocorrência de concentrações muito elevadas de nitrato. Ray *et al.* (2010) afirmaram que o excesso de sólidos suspensos na água pode prejudicar o crescimento dos animais, em sistemas BFT de cultivo. Gaona *et al.* (2017)

sugeriram, como ação preventiva, tendo em vista à manutenção da qualidade da água do sistema BFT, o uso de clarificadores para reduzir o excesso de SST, no meio de cultivo.

FIGURA 6 – Concentração de nitrato (NO_3^-) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.

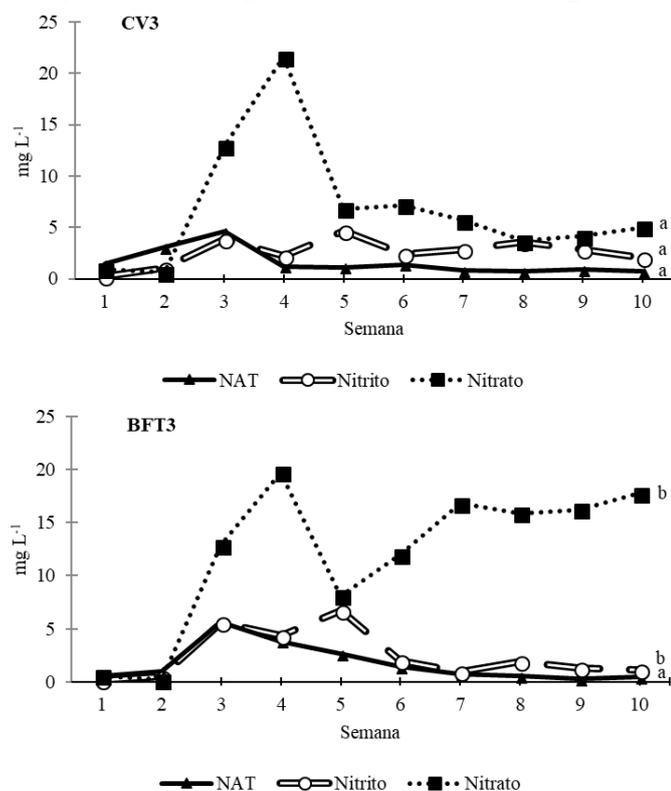


¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

Exceto pela concentração de nitrato (NO_3^-) na água, os tanques CV e BFT, representados pelas unidades CV3 e BFT3, apresentaram variações semelhantes para compostos nitrogenados dissolvidos na água (NAT e NO_2^-), ao longo do cultivo (Figura 7). Como não se fez o ajuste da relação C:N da água nos tanques CV, essa semelhança de resultados entre tanques CV e BFT sugere que o processo de nitrificação bacteriana teve um papel importante no controle das concentrações de compostos nitrogenados, nos tanques BFT. Nos bioflocos em suspensão na água, coexistem bactérias heterotróficas, que convertem NAT em

biomassa microbiana, e autotróficas, que oxidam NAT em nitrito e depois para nitrato. Daí o sistema BFT para aquicultura ser considerado “mixotrófico” (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2018).

FIGURA 7 – Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito e nitrato na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV3), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT3), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.

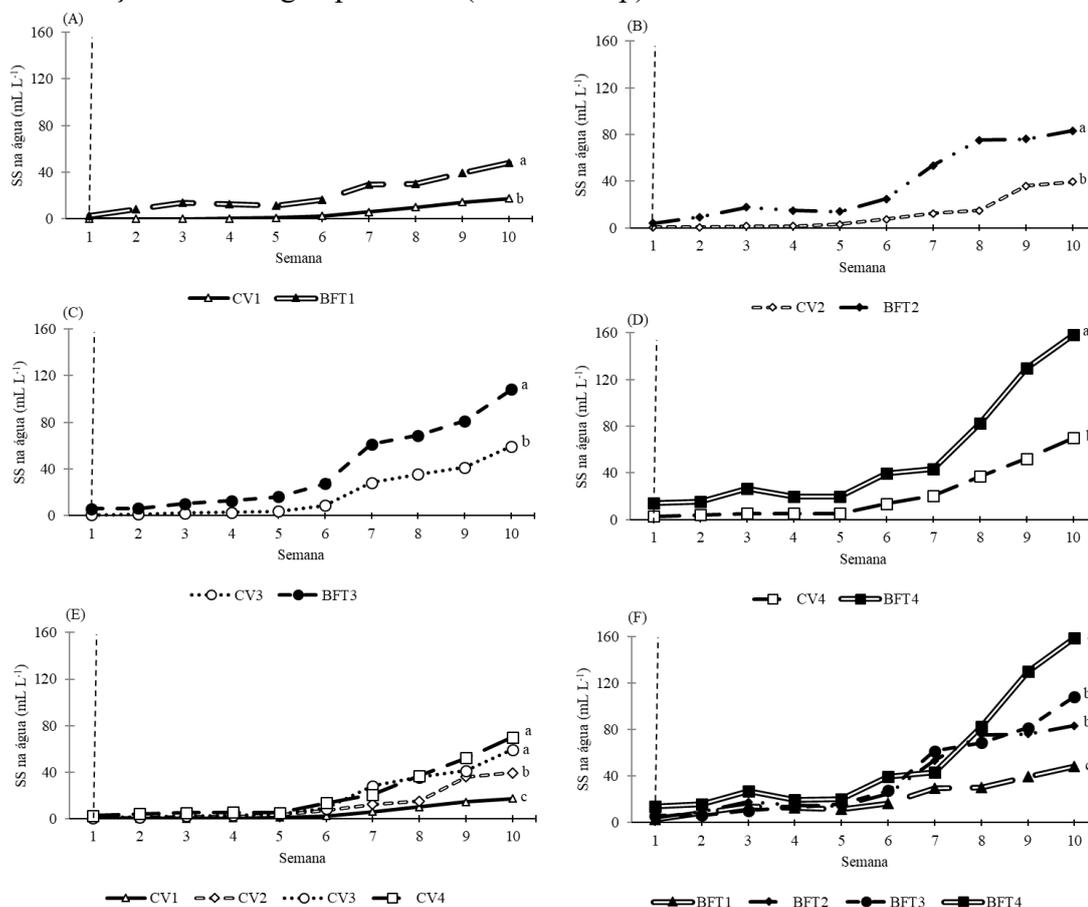


¹ O número 3, que se segue a cada acrônimo, isto é, CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas para uma mesma variável são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tanto em tanques CV como BFT, as concentrações de NAT e NO_2^- se elevaram no início do período de observação, até a 3ª semana de cultivo, sendo reduzidas a partir daí para níveis próximos a zero. As concentrações de NO_3^- foram semelhantes entre tanques CV e BFT, somente até a 5ª semana experimental. A partir daí a concentração de NO_3^- na água foi sendo reduzida nos tanques CV, mas se elevou nos tanques BFT, voltando aos níveis de pico anteriormente observados. Ao final, as concentrações médias de nitrato nos tanques CV3 e BFT3 foram iguais a $5,0 \pm 0,3 \text{ mg L}^{-1}$ e $17,7 \pm 0,7 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A redução nas concentrações de nitrato na água, nos tanques CV, a partir da 5ª semana experimental, é de difícil explicação, já que se tratavam de tanques sem fitoplâncton e sem troca de água.

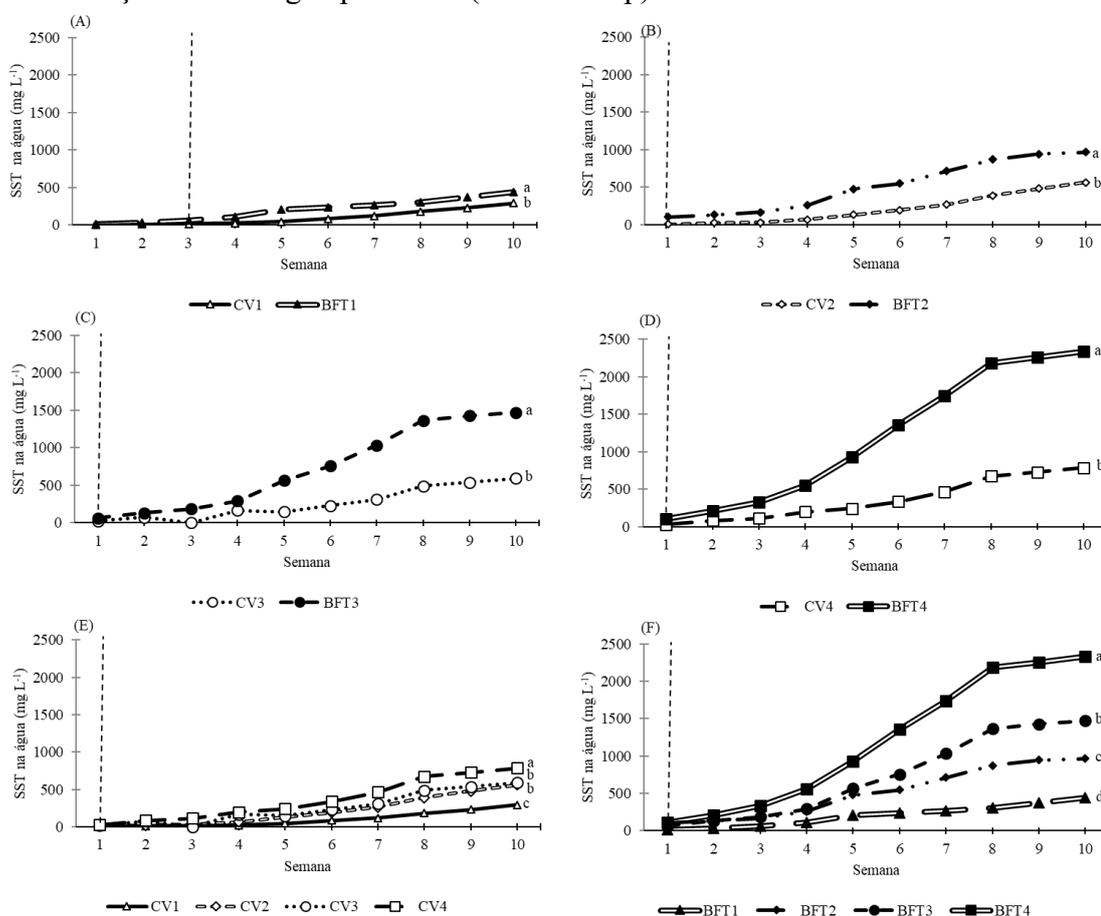
Nos tanques BFT, as concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) foram maiores ($p < 0,05$) em relação aos tanques CV, independentemente da densidade de estocagem (Figuras 8 e 9).

FIGURA 8 – Sólidos sedimentáveis (SS) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

FIGURA 9 – Sólidos suspensos totais (SST) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p)¹.



¹ O número que se segue a cada acrônimo, isto é, 1, 2, 3 e 4, após CV e BFT, indica o fator de multiplicação que foi aplicado sobre o valor da densidade de estocagem de referência (13,8 g peixe/tanque 100 L). Na última semana experimental, médias com letras distintas são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha vertical tracejada indica a semana a partir da qual já havia diferenças significativas entre as médias.

As diferenças entre tanques CV e BFT, para SS e SST, foram maiores nas unidades estocadas com maior número de peixes (CV3 x BFT3 – superintensivo alto; CV4 x BFT4 – hiperintensivo). Independentemente do sistema de cultivo (CV e BFT), o aumento na densidade de estocagem favoreceu uma maior ($p < 0,05$) concentração de SS e SST na água, principalmente nos tanques BFT. As concentrações finais de SS nos tanques BFT4 (hiperintensivo) foram maiores ($p < 0,05$) que as demais, não se observando diferenças entre BFT2 e BFT3 (Figura 8). Já as concentrações finais de SST, em tanques BFT, diferiram de modo significativo entre todos os tratamentos, tendo-se observado destacado efeito direto da densidade de estocagem sobre essa variável (Figura 9). Concentrações muito elevadas de SS e SST poderão ser observadas em tanques BFT de aquicultura, capazes de causar estresse respiratório e, com isso, retardar o

crescimento animal (SAMOCHA *et al.*, 2007). Gaona *et al.* (2017) sugeriram concentrações de SST variando entre 100 - 300 mg L⁻¹ para melhor funcionamento do sistema BFT. Portanto, o produtor de peixes e camarões em tanques BFT, que deseja aumentar a produtividade de seus tanques, deve dispor de um eficiente sistema de remoção de sólidos, capaz de controlar as concentrações de SS e SST, sob pena de sofrer expressivos prejuízos econômicos.

Independentemente da densidade de estocagem, a alcalinidade total (AT) da água foi maior ($p < 0,05$) nos tanques BFT do que nos tanques CV (Tabela 1). Embora o fabricante informe no rótulo da sacaria de que o produto seria constituído apenas por melaço em pó, esse e outros resultados obtidos no laboratório sugerem de que se trata, na verdade, de uma mistura entre melaço em pó e alguma substância alcalinizante, tais como calcário agrícola e cal hidratada. Daí a explicação para a aplicação do melaço em pó ter elevado a AT nos tanques BFT. Considera-se que, em sistemas BFT, a manutenção da AT da água acima de 150 mg L⁻¹ favorece uma melhor formação de bioflocos e o estabelecimento de bactérias nitrificantes (FURTADO; POERSCH; WASIELESKY, 2015). Nos tanques CV, o aumento na densidade de estocagem ocasionou redução progressiva na AT da água. Nos tanques BFT, somente a maior densidade de estocagem, isto é, BFT4 (hiperintensivo), foi capaz de reduzir de modo significativo a AT. Sabe-se que o sistema BFT para aquicultura é forte consumidor de alcalinidade da água e que, por isso, deve-se aplicar produtos alcalinizantes que sejam capazes de recuperar a AT inicial (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Como a intensificação do cultivo BFT resultou em maior queda na AT da água, o produtor que deseja operar em condições hiperintensivas deverá realizar calagem mais frequentes, e em maiores taxas de aplicação, para que possa obter êxito no controle da AT da água.

A dureza total (DT) da água dos tanques BFT foi maior ($p < 0,05$) que dos tanques CV (Tabela 1). De modo contrário ao observado para AT, a DT da água cresceu significativamente com o aumento na densidade de estocagem, em ambos os tanques (CV e BFT). A concentração de CO₂ livre foi maior ($p < 0,05$) nos tanques BFT do que nos tanques CV (Tabela 1). A densidade de estocagem não influenciou a concentração de CO₂ nos tanques CV, mas afetou significativamente essa variável nos tanques BFT, a qual se elevou ($p < 0,05$) com o aumento na densidade de estocagem.

Tabela 3 - Concentrações finais de alcalinidade total, dureza total (AT, DT, mg L⁻¹ CaCO₃ eq.), CO₂, P reativo, ferro solúvel (Fe⁺²) e matéria orgânica (MO; mg L⁻¹) da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média ± d. p; n = 3 ou 4).

Variável	Sistema de cultivo	Densidade de estocagem ¹					
		1	2	3	4		
AT	CV	72,9 ± 2,5 Aa ²	66,0 ± 2,5 Aa	59,1 ± 1,5 Aab	50,8 ± 3,7 Ab		
	BFT	122,4 ± 8,3 Ba	124,7 ± 8,4 Ba	126,7 ± 6,5 Ba	110,2 ± 9,2 Bb		
DT	CV	154,3 ± 1,5 Ad	182,7 ± 1,2 Ac	208,3 ± 2,7 Ab	222,4 ± 5,2 Aa		
	BFT	263,9 ± 10,9 Bd	310,4 ± 1,0 Bc	393,5 ± 2,0 Bb	466,2 ± 6,0 Ba		
CO ₂	CV	1,64 ± 0,08 A	1,86 ± 0,17 A	2,57 ± 0,09 A	2,45 ± 0,05 A		
	BFT	3,74 ± 1,88 Bb	6,93 ± 1,19 Ba	7,72 ± 0,75 Ba	8,23 ± 1,04 Ba		
P reativo	CV	1,61 ± 0,05 Ad	2,60 ± 0,08 Ac	3,20 ± 0,17 Ab	3,85 ± 0,05 Aa		
	BFT	2,75 ± 0,26 Bc	3,00 ± 0,20 Bc	3,64 ± 0,07 Bb	4,17 ± 0,05 Ba		
Fe ⁺²	CV	1,19 ± 0,20 c	1,47 ± 0,05 Abc	1,60 ± 0,09 Ab	1,98 ± 0,09 Aa		
	BFT	1,38 ± 0,11 d	1,95 ± 0,14 Bc	3,31 ± 0,19 Bb	4,22 ± 0,11 Ba		
MO	CV	194 ± 7,8 Ac	231 ± 2,0 Ab	256 ± 6,4 Ab	289 ± 8,8 Aa		
	BFT	327 ± 14,0 Bd	575 ± 9,5 Bc	798 ± 16,5 Bb	978 ± 16,8 Ba		
Probabilidade da ANOVA bifatorial							
Fator		AT	DT	CO ₂	P reativo	Fe ⁺²	MO
Densidade		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Bioflocos		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
D x B		ns	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

¹ A densidade de estocagem, em gramas de peixe por tanque de 100 L, é obtida pela multiplicação do fator apresentado na tabela, isto é, 1, 2, 3 e 4, por 13,8;

² Para uma mesma variável, médias em uma mesma linha e coluna, com letras minúsculas e maiúsculas distintas, respectivamente, são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Em sistema BFT, o aumento na concentração de CO₂ na água é motivada pela decomposição do melaço em pó (RAY; DILLON; LOTZ, 2011), decomposição das fezes dos peixes e ração não-consumida (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006) e atividade bacteriana (FLECKENSTEIN; TIERNEY; RAY, 2018). Concentrações excessivas de CO₂ na água podem causar estresse respiratório nos animais cultivados, mesmo em meio normóxico

(PERRY; TZANEVA, 2016). Logo, a movimentação e circulação da água de cultivo, em sistema BFT para aquicultura, são tão importantes quanto a oxigenação e aeração. Sob condições adequadas de movimentação da água, é esperada a transferência do excesso de CO₂ da água para a atmosfera. Portanto, em condições hiperintensivas de cultivo BFT, dever-se-ia aplicar condições otimizadas, tanto de aeração como de movimentação da água, para obtenção de taxas elevadas de crescimento animal.

As concentrações de fósforo reativo e matéria orgânica na água dos tanques BFT foram maiores do que nos tanques CV ($p < 0,05$; Tabela 1). Nos dois sistemas de cultivo, o aumento na densidade de estocagem resultou em concentrações significativamente maiores de fósforo reativo e matéria orgânica na água. O acúmulo de fosfato e matéria orgânica se deve, provavelmente, a alimentação dos peixes, adição de melão, acúmulo de fezes dos animais e crescimento de microrganismos no sistema de cultivo. A concentração de fósforo reativo do grupo BFT4, tanques hiperintensivos, foi semelhante ao encontrado por Luo *et al.* (2014), que cultivaram juvenis de tilápia do Nilo em sistema BFT e em sistema de recirculação, obtendo concentrações de $4,0 \pm 0,3 \text{ mg L}^{-1}$ e $45,0 \pm 1,2 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. O produtor que opera tanques BFT de aquicultura deve ter a consciência do altíssimo impacto ambiental que seria causado caso fosse feito o lançamento de efluentes dos tanques de cultivo, diretamente em corpos de água receptores (LIANG *et al.*, 2014; CAVALCANTE *et al.*, 2016). Isso se torna ainda mais crítico para os tanques hiperintensivos de cultivo, nos quais as concentrações de fosfato e matéria orgânica são extremamente elevadas.

Exceto para os tanques CV1 e BFT1, as concentrações de ferro dissolvido (Fe^{+2}) na água foram maiores ($p < 0,05$) nos tanques BFT do que nos tanques CV (Tabela 1). As concentrações de Fe^{+2} na água não diferiram de modo significativo entre tanques CV1 e BFT1. Em ambos os tanques, as concentrações de Fe^{+2} cresceram ($p < 0,05$) com o aumento na densidade de estocagem. Segundo van Bussel *et al.* (2014), o suplemento mineral, presente na ração, é a principal fonte de ferro e de outros metais, em sistemas de cultivo com reduzida troca de água. Li *et al.* (2018) observaram acúmulo de ferro na carne da enguia (*Anguilla marmorata*), em tanques operados dentro do sistema BFT. Além disso, houve acúmulo de alumínio e altos níveis de chumbo nas enguias cultivadas. Bakhshi *et al.* (2018) encontraram uma maior concentração de ferro, no corpo de carpas (*Cyprinus carpio* L.) cultivadas em sistema BFT, do que no grupo controle (sistema de recirculação). Por isso, Li *et al.* (2018) afirmaram que mais estudos deveriam ser direcionados para esclarecer a dinâmica de elementos-traços em tanques BFT de aquicultura.

Composição bromatológica de bioflocos

O percentual de matéria seca da biomassa de bioflocos não foi afetado pela densidade de estocagem (ANOVA $p > 0,05$). Em média, o teor de matéria seca dos bioflocos formados nos tanques foi de $8,5 \pm 0,6\%$. A densidade de estocagem também não afetou ($p > 0,05$) o percentual de cinzas dos bioflocos (Tabela 2). O teor médio de cinzas da biomassa de bioflocos foi igual a $3,4 \pm 0,5\%$.

Tabela 4 - Composição centesimal de bioflocos produzidos em tanques de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (base matéria seca; média \pm d. p; n = 3).

Variável (%)	Densidade de estocagem ¹				P-valor
	1	2	3	4	
Proteína bruta	26,9 \pm 0,7 a ³	25,4 \pm 0,5 b	25,0 \pm 0,3 b	24,2 \pm 0,1 b	<0,05
Extrato etéreo	1,42 \pm 0,03 b	1,43 \pm 0,05 b	1,43 \pm 0,03 b	1,56 \pm 0,05 a	<0,05
Cinzas	3,2 \pm 0,3	3,3 \pm 0,3	3,5 \pm 0,5	3,7 \pm 0,8	ns

¹ A densidade de estocagem, em gramas de peixe por tanque de 100 L, é obtida pela multiplicação do fator apresentado na tabela, isto é, 1, 2, 3 e 4, por 13,8;

² Não significativo (ANOVA $P > 0,05$);

³ Para uma mesma variável, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (ANOVA $p < 0,05$); ausência de letras indica que não há diferenças significativas entre as médias ($p > 0,05$).

Estudos anteriores demonstraram que os flocos microbianos, em sistemas BFT, podem apresentar boa qualidade nutricional e servir como importante fonte de alimento aos animais cultivados (AZIM; LITTLE, 2008; LONG *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2018; BAKHSHI *et al.*, 2018). Sabe-se que diferenças nas condições de cultivo, fontes de carbono orgânico e na comunidade microbiana afetam diretamente a composição nutricional dos bioflocos (WEI; LIAO; WANG, 2016; CHEN *et al.*, 2018). Ekasari *et al.* (2014) concluíram que o tamanho do floco pode afetar a qualidade do bioflocos, em termos de composição nutricional.

As concentrações de proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) dos bioflocos foram influenciadas pela densidade de estocagem, mas de modo distinto. O percentual de PB na biomassa dos bioflocos foi reduzido com o aumento na densidade de estocagem de 13,8 g peixe 100 L⁻¹ (intensivo) para 27,6 g peixe 100 L⁻¹ (superintensivo baixo) ou maior ($p < 0,05$; Tabela 2). As densidades de estocagem acima de 27,6 g peixe 100 L⁻¹ já não afetaram o %PB dos bioflocos, em relação ao observado nos tanques superintensivos - baixo. Já o percentual de EE na biomassa de bioflocos foi maior na densidade de estocagem de 55,2 g peixe 100 L⁻¹ (hiperintensivo), quando comparado às demais densidades ($p < 0,05$; Tabela 2). O %EE dos

bioflocos não diferiu ($p>0,05$) entre as densidades de estocagem 13,8 - 41,4 g peixe 100 L⁻¹ (intensivo – superintensivo alto). Com o aumento na densidade de estocagem dos peixes nos tanques, a qualidade centesimal dos bioflocos foi significativamente alterada. Nos tanques BFT mais adensados de peixe, os bioflocos apresentavam menor concentração de PB, mas maior concentração de EE. Portanto, do ponto de vista nutricional, ganhou-se por um lado (mais EE), mas perdeu-se por outro (menos PB). O desejável seria bioflocos com mais PB e EE. Esses resultados carecem da realização de novos trabalhos para que possam ser confirmados.

Segundo alguns autores, bioflocos produzidos em tanques de cultivos de tilápia do Nilo podem apresentar teor de proteína bruta entre 13 e 33%; lipídios entre 0,8 e 2,6% e cinzas entre 10 e 44% (MARTINS *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2018; SGNAULIN *et al.*, 2018). Juvenis de tilápia do Nilo exigem, no mínimo, na dieta, 35% PB (ABDEL-TAWWAB *et al.*, 2010) e 5 – 12% (LIM *et al.*, 2009). O percentual de cinzas da dieta deve ser inferior a 13% (TACON; MACIOCCI, 1988). Assim, a concentração de EE dos bioflocos, nos tanques experimentais do presente trabalho, estão abaixo do nível mínimo, exigido por juvenis de tilápia. Esse resultado vem ao encontro das observações de Kamilya *et al.* (2017) e Luo *et al.* (2014). Kamilya *et al.* (2017), trabalhando com juvenis de *Labeo rohita*, constataram apenas 3% de EE nos bioflocos. Luo *et al.* (2014) registraram baixo teor de lipídios (1,27%) nos bioflocos produzidos nos tanques de cultivo da tilápia do Nilo. Por outro lado, os resultados de composição bromatológica dos bioflocos estão em desacordo com os obtidos por Widanarni e Maryam (2012). Esses últimos autores não encontraram diferenças significativas entre a composição de bioflocos produzidos em diferentes densidades de estocagem de tilápia vermelha.

Desempenho zootécnico

As taxas de sobrevivência dos peixes não diferiram de modo significativo entre os tratamentos ($p>0,05$; Tabela 3). A sobrevivência média foi igual a $91,7 \pm 2,8\%$, com valores de mínimo e máximo iguais a 87% e 94%, respectivamente. Vários estudos que foram realizados com a tilápia, em tanques BFT, obtiveram taxas de sobrevivência superiores a 80% (LUO *et al.*, 2014; LONG *et al.*, 2015; HARIDAS *et al.*, 2017; FLECKENSTEIN; TIERNEY; RAY, 2018).

Tabela 5 - Desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (peso corporal inicial = $2,40 \pm 0,06$ g/peixe), mantidos por 10 semanas em tanques convencionais (CV), nos quais a relação C:N da água variou livremente, e em tanques alternativos (BFT), nos quais se fez o ajuste da relação C:N da água para 15:1 (média \pm d. p; n = 3 ou 4).

Variável ¹	Sistema de cultivo	Densidade de estocagem ²			
		1	2	3	4
Sobrevivência (%)	CV	94,4 \pm 5,5	94,4 \pm 4,8	92,5 \pm 6,4	90,2 \pm 6,3
	BFT	88,8 \pm 9,6	91,6 \pm 8,3	87,0 \pm 6,4	94,4 \pm 2,4
Peso corporal final (g)	CV	25,2 \pm 2,3 Ab ³	27,7 \pm 0,1 Aab	29,9 \pm 0,5 Aa	27,9 \pm 2,2 Aab
	BFT	28,8 \pm 1,0 Bb	28,1 \pm 1,6 Ab	33,5 \pm 0,7 Ba	30,5 \pm 1,4 Bab
TCE (% dia ⁻¹)	CV	3,38 \pm 0,08 Ab	3,47 \pm 0,02 Aab	3,54 \pm 0,04 Aa	3,52 \pm 0,11 Aab
	BFT	3,57 \pm 0,04 Bb	3,50 \pm 0,04 Ab	3,72 \pm 0,03 Ba	3,66 \pm 0,08 Bab
Ganho em peso semanal (g)	CV	2,29 \pm 0,22 Ab	2,52 \pm 0,00 Aab	2,74 \pm 0,05 Aa	2,55 \pm 0,22 Aab
	BFT	2,65 \pm 0,10 Bb	2,56 \pm 0,15 Ab	3,10 \pm 0,06 Ba	2,81 \pm 0,14 Bab
Produtividade de pescado (g m ⁻³ dia ⁻¹)	CV	14,5 \pm 1,9 c	30,6 \pm 0,9 b	47,1 \pm 7,1 a	56,5 \pm 8,9 a
	BFT	14,6 \pm 1,0 d	30,4 \pm 0,3 c	48,9 \pm 5,2 b	61,6 \pm 6,1 a
FCA	CV	1,61 \pm 0,18 A	1,48 \pm 0,05 A	1,43 \pm 0,07 A	1,54 \pm 0,15 A
	BFT	1,42 \pm 0,07 B	1,42 \pm 0,08 A	1,31 \pm 0,03 A	1,38 \pm 0,07 A
TEP	CV	1,78 \pm 0,18 A	1,92 \pm 0,06 A	1,99 \pm 0,10 A	1,85 \pm 0,20 A
	BFT	1,99 \pm 0,09 B	1,93 \pm 0,02 A	2,17 \pm 0,06 A	2,06 \pm 0,11 A

Probabilidade da ANOVA bifatorial							
Fator	Sobrev.	Peso	TCE	Ganho	Produt.	FCA	TEP
Densidade	ns ⁴	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	ns	ns
Sistema de cultivo	ns	<0,05	<0,05	<0,05	ns	<0,05	<0,05
D x SC	ns	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

¹ TCE: taxa de crescimento específico = $[\ln \text{ peso corporal final} - \ln \text{ peso corporal inicial}] / n^\circ \text{ de dias de cultivo} \times 100$; FCA: fator de conversão alimentar aparente = quantidade de ração ofertada (g)/ganho em peso animal (g); TEP: taxa de eficiência proteica = ganho em peso animal (g)/proteína ofertada na ração (g);

² A densidade de estocagem, em gramas de peixe por tanque de 100 L, é obtida pela multiplicação do fator apresentado na tabela, isto é, 1, 2, 3 e 4, por 13,8;

³ Para uma mesma variável, médias em uma mesma linha e coluna, com distintas letras minúsculas e maiúsculas, respectivamente, são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A ausência de letras indica que as diferenças existentes entre as médias não são estatisticamente significativas;

⁴ Não significativo (ANOVA $p > 0,05$).

O peso corporal final, TCE e ganho em peso semanal foram influenciados ($p < 0,05$) tanto pelo sistema de cultivo (CV e BFT), como pela densidade de estocagem empregada, havendo interação significativa entre esses fatores. Exceto pelos tanques superintensivos - baixo, o peso corporal final, a TCE e o ganho em peso semanal dos peixes foram maiores nos tanques BFT, quando comparado aos tanques CV ($p < 0,05$). Em ambos os sistemas de cultivo,

o aumento na densidade de estocagem não prejudicou o crescimento animal, obtendo-se resultados similares de peso corporal, TCE e ganho em peso, entre os diferentes tratamentos (Tabela 3). A produtividade de pescado, em $\text{g m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$, não diferiu ($p > 0,05$) entre tanques CV e BFT. Haridas *et al.* (2017) cultivaram tilápia GIFT, em tanques BFT sob diferentes densidades de estocagem, tendo observado os melhores resultados de peso corporal final e TCE, nos tanques estocados com 200 e 250 peixes m^{-3} . Esses mesmos autores sugeriram que densidades maiores de até 300 - 350 peixes m^{-3} poderiam ser usadas, sem comprometimento do crescimento e imunidade dos animais.

Nos tanques CV, a produtividade de pescado cresceu até CV3 (superintensivo – alto), que não diferiu de modo significativo de CV4 (hiperintensivo). Já nos tanques BFT, a produtividade de pescado cresceu linearmente com a aumento na densidade de estocagem, tendo-se obtido a maior ($p < 0,05$) produtividade em BFT4 (hiperintensivo; Tabela 3). Cavalcante *et al.*, (2017b) obtiveram produtividade de pescado de $19,1 \text{ g m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$, em cultivo de juvenis de tilápia, em tanques BFT. Nesse trabalho, a densidade de estocagem empregada foi de 36 peixes m^{-3} .

Como, no presente trabalho, não houve redução nos indicadores de desempenho zootécnico, com o aumento na densidade de estocagem, sugere-se que a capacidade de suporte dos tanques BFT não foi ultrapassada. Essa suposição é apoiada pelos resultados de FCA e TEP, apresentados a seguir. A máxima produtividade de peixe, que, provavelmente, coincidirá com a máxima lucratividade, será alcançada somente quando se operar com densidades de estocagem, em níveis próximos ao da capacidade de suporte do sistema de cultivo. Nessa situação, entretanto, o produtor deverá dispor de toda a cautela possível, já que o risco de colapso do sistema é bastante elevado.

Os resultados de FCA e TEP não foram afetados ($p > 0,05$) pela densidade de estocagem, apenas pelo sistema de cultivo (CV, BFT), havendo interação significativa entre essas variáveis (Tabela 3). Para ambos os sistemas de cultivo, os grupos CV3 e BFT3 apresentaram os melhores valores de FCA e TEP. Os resultados de FCA e TEP dos tanques BFT1 (intensivos) foram significativamente melhores do que aqueles observados nos tanques CV1 (intensivos). Por outro lado, as diferenças de FCA e TEP, entre tanques CV e BFT, nas demais densidades (superintensivos e hiperintensivos), não foram significativas ($p > 0,05$; Tabela 3). Cavalcante *et al.* (2016) cultivaram juvenis de tilápia do Nilo ($1,56 \pm 0,07 \text{ g}$), em tanques com ou sem ajuste da relação C:N, que possuíam ou não estrutura submersa para perifíton, tendo observado menor FCA nos tanques BFT. Haridas *et al.* (2017) registraram valores de TEP iguais a 2,43; 2,65; 2,44 e 2,32, para juvenis de tilápia estocados em tanques

BFT, nas densidades de 200, 250, 300 e 350 peixes m^{-3} , respectivamente, acima do observado para o grupo-controle. Há indicação, portanto, de que a tilápia pode utilizar, de modo eficiente, os bioflocos como fonte proteica.

CONCLUSÕES

Com o aumento no nível de intensificação do cultivo da tilápia do Nilo, em tanques BFT, as seguintes alterações na qualidade da água do cultivo foram verificadas no presente trabalho: queda na alcalinidade total, elevação na condutividade elétrica, queda na concentração de O_2 , aumento nas concentrações de CO_2 livre, amônia, nitrito, nitrato, fósforo reativo, sólidos sedimentáveis, sólidos suspensos totais e ferro dissolvido. Essas alterações de qualidade de água poderão prejudicar o desempenho zootécnico, caso não se tome as medidas cabíveis, em cada situação, para readequação dessas variáveis limnológicas.

Além disso, verificou-se alteração na composição centesimal dos bioflocos, com o aumento na densidade de estocagem dos peixes nos tanques. As alterações observadas, entretanto, não foram claras, havendo a necessidade da realização de novos estudos para esclarecimento dessa questão.

Nas condições do presente trabalho, o aumento na densidade de estocagem de peixes, até o nível considerado hiperintensivo ($55,2 \text{ g } 100 \text{ L}^{-1}$), não prejudicou o desempenho zootécnico de juvenis da tilápia do Nilo, em tanques BFT.

APÊNDICE B - TEMPO MÍNIMO PARA MATURAÇÃO DE BIOFLOCOS EM TANQUES EXPERIMENTAIS

RESUMO - O presente trabalho teve por objetivo determinar o tempo mínimo necessário para maturação de bioflocos, em tanques experimentais, povoados ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N da água ajustada. O trabalho foi dividido em duas fases consecutivas, com duração de 30 dias cada. Na primeira fase, os tanques não tinham peixes e foram inoculados com 0,5 L de água verde, rica em fitoplâncton. A partir daí os tanques de maturação receberam ou não aplicações diárias de melação em pó e 2,5 g de ração comercial. Na segunda fase, os tanques dos grupos-controle apresentavam as seguintes características: 1 - tanques sem peixes, com ajuste da relação C:N; 2 - tanques com peixes (tilápia), sem ajuste da relação C:N. Os tanques do grupo experimental possuíam peixes e receberam o ajuste da relação C:N da água. Nas duas fases experimentais, os tanques com ajuste da relação C:N apresentaram pH e alcalinidade maiores do que os tanques sem ajuste. Na primeira fase, os tanques com ajuste da relação C:N apresentaram menor concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) e maiores de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST). Na segunda fase, os tanques com ajuste da relação C:N, sem peixes, apresentaram mais NAT e NO_2^- e menos SS e SST. Concluiu-se que são necessários de duas a três semanas, no mínimo, para formação e desenvolvimento de concentrações elevadas de bioflocos, em tanques com ajuste da relação C:N da água, povoados com peixes.

Palavras-chave: Aquicultura. Piscicultura. Superintensivo. Tilápia.

ABSTRACT - The present work has aimed at determining the minimum period necessary to mature bioflocs in experimental tanks stocked or not with fish and that received or not molasses to adjust the C:N ratio of water. The study was divided in two back-to-back phases, each one with 30 days. In the first phase, the tanks had no fish and were initially inoculated with 0.5 L of phytoplankton-rich green water. Daily applications of dry molasses were or not made to adjust or not the water's C:N ratio. Besides, all tanks received daily allowances of 2.5 g manufactured fish feed. In the 2nd phase, the control tanks had the following features: 1 – tanks without fish but adjusted for the C:N ratio; 2 – tanks with fish (tilapia) but no adjustment of the C:N ratio of water. The experimental tanks had fish and received daily application of dry molasses. In both phases, tanks with the C:N ratio adjusted had higher pH and alkalinity. In the 1st phase, the C:N-ratio adjusted tanks exhibited lower concentrations of total ammonia nitrogen

(TAN), but higher levels of settleable solids (SS) and total suspended solids (TSS). In the 2nd phase, the C:N-ratio adjusted tanks, with no fish, showed higher concentrations of TAN, nitrite, but lower ones of SS and TSS. It was concluded that a minimum period of 2 – 3 weeks is required to make up and produce plenty bioflocs in tanks stocked with fish and adjusted for the C:N ratio of water.

Keywords: Aquaculture. Fish culture. Superintensive. Tilapia.

INTRODUÇÃO

Os sistemas de cultivo superintensivo em aquicultura exigem um rígido controle da qualidade de água para que possam obter sucesso na criação animal. Tanques superintensivos que utilizam a tecnologia de bioflocos (BFT) removem eficientemente amônia da água pela absorção por bactérias heterotróficas. No sistema BFT para aquicultura, deve-se adicionar uma fonte de carbono de alta biodegradabilidade à água e, com isso, elevar a relação C:N. Além disso, deve-se fornecer O₂ de forma abundante para água para viabilizar o desenvolvimento dos bioflocos. A grande demanda por O₂ de tanques BFT se deve às suas elevadas densidades de estocagem (RAY; DRURY; CECEIL, 2017) e a consideravelmente maior taxa de respiração microbiana na coluna d'água (FERREIRA *et al.*, 2015). Outro aspecto da qualidade da água de tanques BFT que merece atenção é o monitoramento do pH e alcalinidade, os quais são reduzidos significativamente pela atividade microbiana (FURTADO; POERSCH; WASIELESKY, 2015). Quando os tanques BFT estão corretamente ajustados, a concentração de amônia na água pode ser zerada em poucas horas, mantendo-se assim de forma estável. Em tanques BFT, os processos de nitrificação e absorção heterotrófica de amônia ocorrem simultaneamente (ASADUZZAMAN *et al.*, 2010; LUO *et al.*, 2013). Daí o sistema BFT para aquicultura ser considerado mixotrófico, ao invés de simplesmente heterotrófico.

Em tanques convencionais de aquicultura, ou seja, aqueles cujas águas são verdes, as microalgas assimilam amônia da água para uso no seu metabolismo, tal como na síntese de aminoácidos. Nesses tanques, a absorção vegetal representa um importante sumidouro de amônia da água (RAY; LOTZ, 2014). Em tanques ricos em fitoplâncton, entretanto, a qualidade de água sofre significativas flutuações diárias, motivadas pelas variações na luminosidade natural (EBELING, 2006). Desse modo, tanques ricos em microalgas são quimicamente instáveis, apresentando consideráveis oscilações diárias e semanais na taxa de absorção de amônia, concentração de O₂ e pH da água (HARGREAVES, 2006). Já em tanques de aquicultura baseados em bioflocos (BFT), as bactérias heterotróficas são as principais

responsáveis pelo controle da concentração de amônia da água (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; KAMILYA *et al.*, 2017; SGNAULIN *et al.*, 2018). Em tanques BFT, há maior estabilidade físico-química do meio de cultivo porque as bactérias heterotróficas são menos sensíveis que o fitoplâncton, às alterações na luminosidade ambiental. Tanques BFT externos, ou seja, aqueles instalados em ambientes abertos, favorecem a coexistência de bactérias heterotróficas, autotróficas (nitrificantes) e microalgas (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016). Trata-se do chamado “sistema mixotrófico” de aquicultura. Já em tanques BFT internos, ou seja, aqueles abrigados da luz solar, ocorre desenvolvimento apenas de bactérias na água. Em ambos os casos, bactérias heterotróficas e autotróficas nitrificantes têm um papel importante no controle das concentrações de amônia e nitrito da água (AZIM; LITTLE, 2008). Em tanques de aquicultura com recirculação de água, a principal via de remoção de amônia é a nitrificação. Entretanto, as bactérias heterotróficas apresentam maior eficiência na remoção de amônia da água, com capacidade de assimilação até dez vezes maior do que o observado pela ação das bactérias nitrificantes (AZIM; LITTLE, 2008; SCHVEITZER *et al.*, 2013). O aumento da relação C:N da água é capaz de interferir diretamente no crescimento dos diferentes grupos de bactéria, visto que relações C:N > 10: 1 beneficiam as bactérias heterotróficas, em detrimento das autotróficas (AVNIMELECH, 1999; EBELING *et al.*, 2006).

O estabelecimento dos bioflocos, nos tanques de aquicultura, demanda certo tempo até alcançar um estágio satisfatório de maturidade (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016). Frequentemente, a remoção total de amônia da água, em tanques BFT, de forma estável, somente é observada após 30 dias do início do manejo da relação C:N da água (BAKAR *et al.*, 2015). Diversos trabalhos relataram que tanques BFT podem apresentar altas concentrações de amônia e nitrito, nos primeiros dias de cultivo (LUO *et al.*, 2014; BAKSHI *et al.*, 2018; REN *et al.*, 2019). Ren *et al.* (2019) observaram picos de amônia, em tanques BFT, nos primeiros 14 dias, e acúmulo de nitrito do 7º ao 49º dia de cultivo. Bakshi *et al.* (2018), trabalhando com a carpa comum, avaliaram diferentes fontes de carbono no ajuste da relação C:N de tanques BFT. Esses autores observaram concentrações elevadas de NAT e NO_2^- na água, superiores a 3 mg L^{-1} , até a quinta semana experimental.

A inoculação de bioflocos maduros, em fase prévia ao início do cultivo, pode acelerar o desenvolvimento dos flocos microbianos, prevenindo picos de nitrogênio amoniacal total (NAT) e nitrito na água (GAONA *et al.*, 2011; KRUMMENAUER *et al.*, 2012; SERRA *et al.*, 2015). Com isso, haveria maior estabilidade físico-química nos tanques de cultivo BFT de peixes e camarões. Malpartida Pasco *et al.* (2018) afirmaram que a inoculação prévia da água de cultivo de tanques de tilápia do Nilo, com bioflocos, na proporção de 45% (v : v),

possibilitou o controle das concentrações de NAT na água, desde o início do ciclo de produção. Krummenauer *et al.* (2014) demonstraram que o uso de diferentes proporções de água rica em bioflocos (25-100%), como inóculo inicial, favoreceu o rápido desenvolvimento de novos flocos e, com isso, o controle da amônia e nitrito na água de cultivo do *L. vannamei*. A concentração de nitrito na água de tanques BFT, especificamente, poderia também ser controlada, desde o início, pela aplicação prévia de nitrito de sódio à água, com o objetivo de estimular, precocemente, o crescimento de bactérias *Nitrobacter* (OTOSHI; RODRIGUEZ; MOSS, 2011). Uma das questões ainda em aberto sobre a maturação de bioflocos em tanques BFT é o tempo mínimo exigido para formação e desenvolvimento de bioflocos na água, em concentrações capazes de prevenir a ocorrência dos perigosos picos iniciais de amônia e nitrito. O presente trabalho de pesquisa teve por objetivo determinar o tempo mínimo necessário para maturação de bioflocos, em tanques experimentais *indoor*, povoados ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N da água ajustada.

MATERIAL E MÉTODOS

Sistema de cultivo e população experimental

O trabalho foi realizado na sala *indoor* do Laboratório de Ciência e Tecnologia Aquícola - LCTA, unidade de pesquisa do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus Universitário do Pici, Fortaleza, Ceará). As unidades experimentais eram formadas por tanques circulares de polietileno de 100 L cada. Um compressor radial (soprador de ar) de 2,5 CV foi utilizado para manter suspensa a matéria orgânica adicionada ao tanque, assim como a matéria orgânica produzida no interior das unidades (bioflocos). Cada tanque de maturação recebeu três pontos de aeração, constituídos por pedras porosas conectadas às mangueiras de silicone. Não foi realizada troca de água nos tanques experimentais, apenas reposição de água para manutenção do nível inicial.

Delineamento experimental

O trabalho foi dividido em duas fases consecutivas, com duração de 30 dias cada, como descrito a seguir.

1ª fase – Tanques de maturação de bioflocos, sem peixes

Na montagem da primeira fase experimental, dez tanques de maturação foram preenchidos com 50 L de água doce, cada um, tendo-se utilizado a água do abastecimento municipal, após descanso para eliminação do cloro residual. Na primeira fase, não se fez o povoamento dos tanques de maturação com peixes. Posteriormente, cada unidade foi inoculada com 0,5 L de água verde, rica em fitoplâncton, oriunda de um dos tanques de cultivo de peixes, pertencente à Estação de Piscicultura Prof. Dr. Raimundo Saraiva da Costa do Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. A partir daí os tanques de maturação receberam ou não aplicações diárias de melação em pó, para ajuste da relação C:N da água, a depender do tratamento em questão. Foram constituídos dois grupos, sendo um controle, no qual não se fez o ajuste da relação C:N, e o experimental, no qual a relação C:N da água foi ajustada para 15:1 (Tabela 1). Cada grupo foi constituído por cinco repetições, que foram arranjadas em delineamento experimental inteiramente casualizado. Diariamente, pela manhã, todos os tanques recebiam a aplicação de 2,5 g de ração comercial em pó para peixes tropicais, com 40% de proteína bruta (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará).

Tabela 1 - Delineamento experimental

Grupo	Ajuste da relação C:N
Controle	Não
Experimental	Sim

2ª fase – tanques de maturação de bioflocos, com peixes

Na segunda fase do trabalho, foram utilizados quinze tanques de maturação abastecidos totalmente com água doce (100 L tanque⁻¹). Nessa fase, não se fez inoculação de água verde nos tanques experimentais. Foram constituídos dois grupos-controle e um grupo experimental, cada um com cinco repetições, arranjados em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os tanques de maturação dos grupos-controle apresentavam as seguintes características: tanques sem peixes, mas com ajuste da relação C:N da água; tanques

com peixes, mas sem ajuste da relação C:N (Tabela 2). Todos os tanques de maturação do grupo experimental possuíam peixes e receberam o ajuste da relação C:N da água.

Tabela 2 - Delineamento experimental

Grupo	Peixamento	Ajuste da relação C:N
Controle	Não	Sim
Controle	Sim	Não
Experimental	Sim	Sim

A relação C:N da água foi ajustada para 15:1 pela aplicação diária de melão em pó. Os tanques que receberam peixes foram estocados, cada um, no início do experimento, com 15 juvenis de tilápia do Nilo (peso corporal = $3,05 \pm 0,08$ g). Em todos os tanques, forneceu-se, diariamente, ração comercial em pó para peixes tropicais com 40% PB (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará). A quantidade de ração fornecida aos peixes seguiu as orientações apresentadas na Tabela 3. O fornecimento de ração comercial e a entrada de melão foram ajustados, a cada 14 dias, em função das biometrias realizadas. As quantidades de ração e de melão aplicadas aos ‘tanques C:N ajustado, sem peixe’ e ‘C:N ajustado, com peixe’ foram iguais entre si. O experimento teve duração de 30 dias.

Tabela 3 – Taxas de arraçoamento empregadas nos tratamentos ‘C:N não-ajustada, com peixe’ e ‘C:N ajustada, com peixe’ (2ª fase).

Peso do juvenil (g)	% biomassa/dia
2,5 - 3,0	9,8
3,0 - 3,5	9,0
3,5 - 4,5	8,3
4,5 - 5,5	7,5
5,5 - 7,0	6,8
7,0 - 9,0	6,0
9,0 - 16,0	5,6
16,0 - 20,0	5,3

Relação C:N e variáveis de qualidade de água

Realizou-se o ajuste diário da relação C:N da água para 15:1, pela aplicação de melão em pó (Indumel, Biosev S.A., Sertãozinho, SP) à água de cultivo, utilizando-se da

fórmula apresentada por Avnimelech (1999). Para manutenção da alcalinidade total da água, em valores iguais ou superiores a 100 mg. L⁻¹ CaCO₃ eq., foi aplicado bicarbonato de sódio (NaHCO₃) à água.

Nas duas fases experimentais, foram realizadas determinações das variáveis físico-químicas da seguinte forma: pH (medidor de pH mPA210 - MS Tecnopon®) e oxigênio dissolvido (oxímetro 55 - YSI), diariamente, as 9:00 h; nitrogênio amoniacal total (NAT; método do indofenol) e nitrito (método da sulfanilamida), três vezes por semana; e alcalinidade total (titulação com solução-padrão de H₂SO₄), semanalmente. Essas determinações de qualidade de água foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por Sá (2015). As concentrações de sólidos sedimentáveis e sólidos suspensos totais foram determinadas três e duas vezes por semana, respectivamente, seguindo-se as metodologias apresentadas por Boyd e Tucker (1992).

Análise estatística

Na primeira fase do trabalho, os resultados de qualidade de água foram analisados pelos testes *t* de *Student*, simples e pareado. Na segunda fase do trabalho, os resultados foram analisados pelos testes *t* de *Student*, simples e pareada, ANOVA unifatorial e teste de Tukey. Adotou-se o nível de significância de 5%, em todos os casos. As pressuposições de distribuição normal e de homogeneidade de variância foram checadas antes da aplicação da ANOVA. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fase 1 – Tanques de maturação de bioflocos sem peixes

No início do trabalho, as diferenças existentes entre os tanques, com ou sem ajuste da relação C:N, para O₂, pH e alcalinidade total da água não foram significativas (Tabela 4; $p > 0,05$).

Tabela 4. pH, O₂ (mg L⁻¹) e alcalinidade total (AT; mg L⁻¹ CaCO₃ eq.) de tanques de maturação de bioflocos, desprovidos de peixes, que tiveram ou não a relação C:N da água ajustada para 15:1 (média ± d.p.; n = 5).

Variável	Ajuste C:N ¹	Tempo		P-valor ³
		Início	Fim ²	
O ₂	Não	7,61 ± 0,03 Aa	6,75 ± 0,08 Ab	<0,05
	Sim	7,59 ± 0,04 Aa	6,69 ± 0,08 Ab	<0,05
	P-valor ⁴	ns	ns	
pH	Não	7,52 ± 0,03 Aa	7,78 ± 0,10 Aa	ns
	Sim	7,51 ± 0,02 Aa	8,33 ± 0,12 Bb	<0,05
	P-valor	ns	<0,05	
AT	Não	84,1 ± 0,5 Aa	95,1 ± 5,4 Ab	<0,05
	Sim	83,8 ± 0,4 Aa	159,0 ± 6,3 Bb	<0,05
	P-valor	ns	0,05	

¹ Aplicação diária de melão em pó à água para relação C:N = 15:1 (Avnimelech, 1999);

² Após 30 dias;

³ Médias com distintas letras minúsculas, em uma mesma linha, diferem significativamente entre si pelo teste *t* pareado ($p < 0,05$);

⁴ Para uma mesma variável, médias com distintas letras maiúsculas, em uma mesma coluna, são significativamente diferentes entre si pelo teste de *t* de Student ($p < 0,05$).

Após 30 dias, entretanto, o pH e a alcalinidade total dos tanques com relação C:N ajustada foram significativamente maiores do que os respectivos valores observados nos tanques sem ajuste. O melão em pó é um produto comercial que apresenta características alcalinizantes, elevando o pH e a alcalinidade, após ser aplicado na água. O melão de cana é um subproduto da fabricação do açúcar de mesa. Antes da secagem para obtenção do produto em pó, o melão líquido recebe aditivos minerais e é misturado ao calcário ou cal agrícola, para neutralização do pH (MACHADO; ABREU, 2006; DA COSTA *et al.*, 2015;). O melão é usualmente empregado na alimentação de animais ruminantes, como palatabilizante, tendo-se demonstrado seu papel benéfico na atividade da flora intestinal desses animais (DA COSTA *et al.*, 2015).

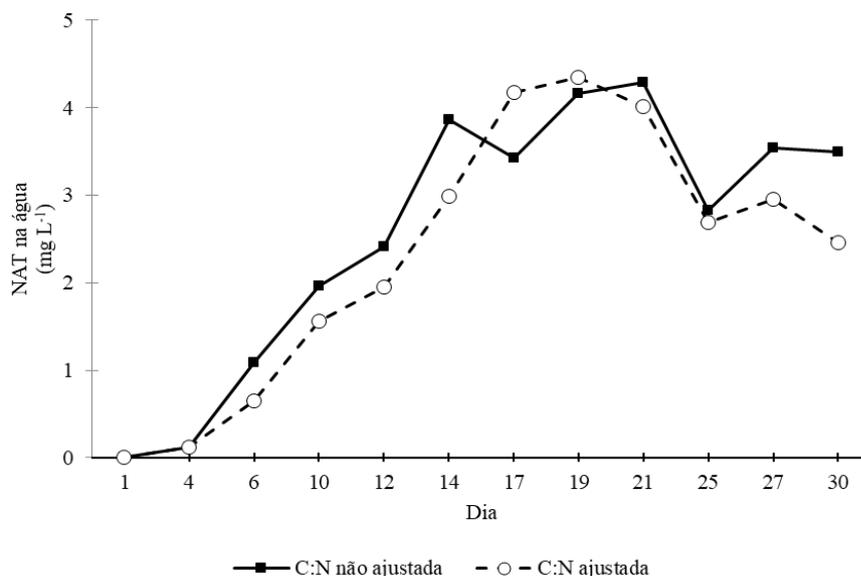
As concentrações finais de O₂ dissolvido na água sofreram redução em todos os tanques experimentais ($p < 0,05$), em relação ao observado no início do experimento. O melão em pó, ao ser aplicado na água, eleva a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de modo significativo. A aplicação de fontes de carbono orgânico nos tanques eleva de forma diretamente proporcional a DBO da água. O fornecimento de O₂ suplementar aos tanques se fará necessário à medida que a DBO da água aumenta (EBELING *et al.*, 2006). A DBO da água se eleva em

1,07 mg L⁻¹ para cada 1 mg L⁻¹ de açúcar aplicado na água (BOYD, 2018). Logo, o melaço em pó somente deveria ser aplicado na água se houver aeração suficiente que atenda à nova DBO que vai ser gerada. Em tanques BFT de aquicultura, a taxa de respiração na coluna d'água é de aproximadamente 6 mg O₂ L⁻¹ h⁻¹ (HARGREAVES, 2013). Em episódios de falha no sistema de aeração, mortalidades em massa de animais cultivados poderão ser observadas em apenas 1 hora, após a interrupção do fornecimento de ar.

Enquanto o pH da água, dos tanques com relação C:N não ajustada, não se alterou de modo significativo com o tempo, o pH da água dos tanques com relação C:N ajustada se elevou, no mesmo período ($p < 0,05$). A alcalinidade da água, em ambos os grupos experimentais, isto é, tanques desprovidos de peixe, com e sem ajuste da relação C:N, se elevou com o decorrer do experimento, principalmente nos tanques com ajuste da relação C:N (Tabela 4).

A concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) na água dos tanques se elevou em todos os tanques experimentais, até 21º dia de observação (Figura 1). A partir daí, ocorreu uma redução moderada na concentração de NAT, particularmente nos tanques com ajuste da relação C:N. Ao final, havia significativamente menos NAT nos tanques que receberam aplicações diárias de melaço em pó. Esses resultados sugerem que são necessários, no mínimo, três semanas para formação e desenvolvimento de bioflocos, em tanques com ajuste da relação C:N da água. Logo, seria recomendado o povoamento dos tanques de criação somente após a terceira semana do início do ajuste da relação C:N da água. Esse procedimento preveniria o estresse dos animais por conta dos perigosos picos de amônia, geralmente observados no início do ciclo de produção, isto é, antes da maturação dos flocos microbianos. Esses resultados são apoiados por Suita *et al.* (2015) que relataram que 15 dias não foram suficientes para o amadurecimento dos bioflocos. Por outro lado, outros estudos sugeriram que o bioflocos podem demandar um tempo mais longo (> 20 dias) para atingir a maturidade (BAKAR *et al.*, 2015; BAKHSHI *et al.*, 2018; REN *et al.*, 2019). Segundo Emerenciano *et al.* (2017), tanques BFT somente poderiam ser considerados maduros quando não ocorressem mais picos de amônia e nitrito nos mesmos. Ainda segundo esses autores, o amadurecimento do sistema BFT demandaria um período mais longo, de 30 a 50 dias.

Figura 1. Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) na água de tanques de maturação de bioflocos, desprovidos de peixes, que tiveram ou não a relação C:N ajustada para 15:1 (n = 5). Exceto pelos dias 1, 4, 19, 21 e 25, as diferenças existentes entre as médias, em cada tempo, são significativas pelo teste *t* de Student ($p < 0,05$).



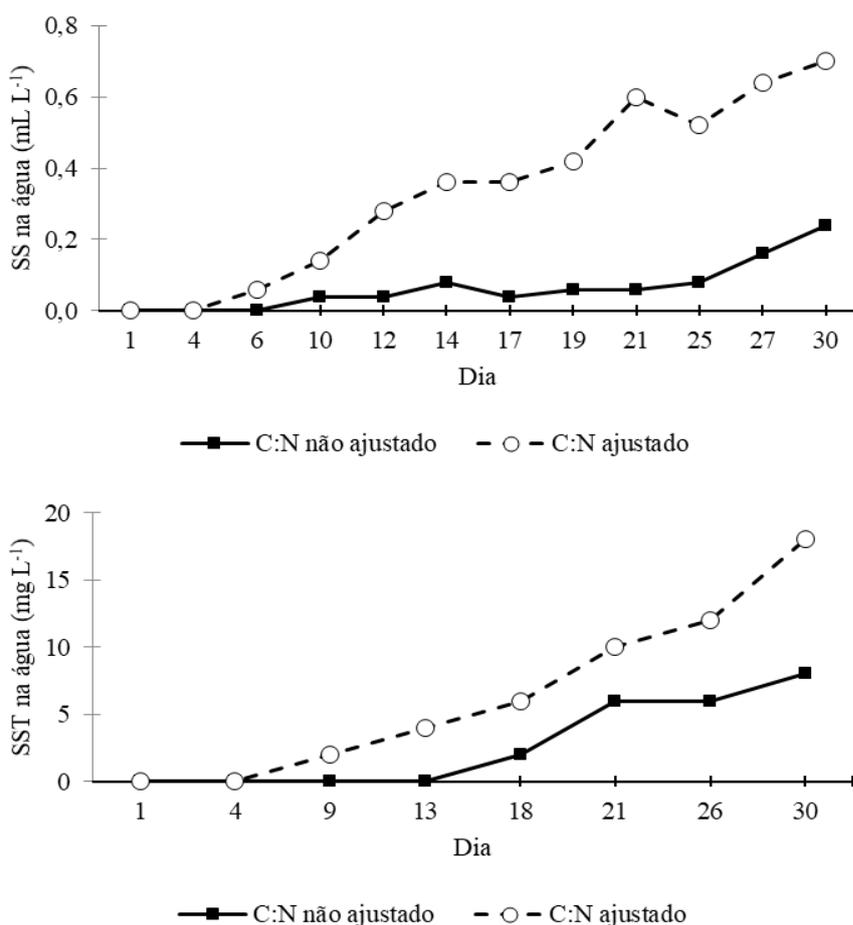
Uma estratégia que pode ser utilizada, para acelerar o amadurecimento dos bioflocos, é a inoculação da água dos tanques de criação com bioflocos maduros, provenientes de outro tanque. A efetividade da inoculação de bioflocos torna o sistema mais estável, mantendo a qualidade da água em níveis satisfatórios (KRUMMENAUER *et al.*, 2012; FURTADO *et al.*, 2015). Outro manejo com esse mesmo objetivo é a produção de bioflocos maduros, em tanques avulsos ou em separado, que estejam povoados com peixes ou camarões, e seu posterior uso para abastecer, parcialmente, os tanques de criação, no início do ciclo de produção. Nesse caso, não se trataria de um inóculo, mas do abastecimento parcial do tanque de criação com água rica em bioflocos maduros. O percentual mínimo do volume do tanque, a ser preenchido com água marrom, ainda não foi determinado até o momento pela ciência.

A redução nas concentrações de NAT, nos tanques que não receberam as aplicações de melão, poderia ser explicada pela atuação de bactérias nitrificantes. Como os tanques eram intensamente aerados, é provável que tenha havido o desenvolvimento de bactérias aeróbias quimiotróficas. Assim, enquanto os tanques não-ajustados operaram de modo eminentemente autotrófico, os tanques ajustados operaram de modo mixotrófico, ou seja, com remoção de amônia pelo trabalho conjunto de bactérias nitrificantes e heterotróficas (AZIM; LITTLE, 2008; REN *et al.*, 2019). O processo de nitrificação do NH_3 e NO_2^- se utiliza de 25 - 50% do N orgânico, adicionado em tanques BFT via arrazoamento (HARGREAVES, 2013). Entretanto, a nitrificação demanda um tempo mais longo para alcançar eficiência máxima na remoção de

compostos nitrogenados da água, em virtude do crescimento mais lento das bactérias nitrificantes, em relação as bactérias heterotróficas (SCHVEITZER *et al.*, 2013).

As concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST), em ambos os tratamentos, foram muito reduzidas, ao longo de todo o experimento, não ultrapassando $0,8 \text{ mL L}^{-1}$ e 20 mg L^{-1} (Figura 2), respectivamente.

Figura 2. Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) na água de tanques de maturação de bioflocos, desprovidos de peixes, que tiveram ou não a relação C:N ajustada para 15:1 ($n = 5$). Exceto pelos dias 1, 4, 6 e 10, as diferenças existentes entre as médias de SS, em cada tempo, são significativas pelo teste *t* de Student ($p < 0,05$). Apenas no último dia, a diferença existente entre as médias para SST foi significativa (teste *t*; $p < 0,05$).



Tendo em vista a obtenção dos melhores resultados possíveis, quanto à qualidade da água e à nutrição dos animais cultivados, recomenda-se que as concentrações de SS e SST, de tanques BFT para aquicultura, sejam iguais a $10 - 15 \text{ mL L}^{-1}$ (camarão); $25 - 50 \text{ mL L}^{-1}$ (peixe); e $100 - 300 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (TAW, 2010; AVNIMELECH, 2011; GANOVA *et al.*, 2017). Logo, a formação de bioflocos nos tanques experimentais, na primeira fase do presente trabalho, foi muito reduzida, muito aquém dos valores mínimos de SS e SST

considerados satisfatórios. Esses resultados sugerem que a inoculação inicial dos tanques com água verde não foi bem-sucedida, não tendo gerado a biomassa esperada de bioflocos. O objetivo era que uso de água verde, como inóculo inicial, favorecesse o rápido desenvolvimento dos bioflocos, a partir da comunidade microbiana existente. Isso foi alcançado por Haraz, El-Hawarry e Shourbela (2018), que adicionaram água verde em tanques BFT, tendo obtido um rápido desenvolvimento de bactérias heterotróficas, nos tanques de cultivo de tilápia do Nilo. Esses autores, entretanto, diferentemente do realizado na 1ª fase do presente trabalho, fizeram o inóculo com água verde em tanques já povoados com peixe. Como os tanques, nessa fase do trabalho, não foram povoados com peixes, não havia o processo diário de “inoculação natural” de bactérias, a partir da excreção fecal dos animais. A importância dos peixes, para o desenvolvimento e maturação dos bioflocos, será melhor discutida na 2ª fase do presente trabalho.

As concentrações de SS e SST, nos tanques com ajuste da relação C:N, aumentaram de modo contínuo, com o decorrer do tempo (Figura 2). Nos tanques sem ajuste da relação C:N, a concentração de SS pouco se alterou nos primeiros 25 dias de observação, apresentando um leve aumento, ao final. Nesses mesmos tanques, a concentração de SST permaneceu inalterada nos primeiros 13 dias ($SST = 0,0 \text{ mg L}^{-1}$), crescendo, a partir daí, até o final. A partir do 12º dia até o final, as concentrações de SS, na água dos tanques com ajuste da relação C:N, foram sempre maiores que o observado nos tanques sem ajuste ($p < 0,05$). Após 30 dias, os tanques ajustados e não ajustados apresentaram concentrações de SS iguais a $0,70 \pm 0,20$ e $0,24 \pm 0,15 \text{ mL L}^{-1}$, respectivamente. Ao final do experimento, os tanques com relação C:N ajustada apresentavam concentração de SST igual a $18,0 \pm 4,5 \text{ mg L}^{-1}$, valor significativamente maior ao observado nos tanques não ajustados ($SST = 8,0 \pm 8,4 \text{ mg L}^{-1}$). Embora tenha havido diferenças significativas entre os resultados de SS e SST, entre tanques não-ajustados e ajustados para relação C:N da água, com superioridade para os últimos, as concentrações muito reduzidas dessas variáveis não permitem reconhecer esse manejo como sendo válido para maturação de bioflocos, em tanques de aquicultura. Emerenciano *et al.* (2017) sugerem que a água deve conter, no mínimo, 5 mL L^{-1} de sólidos sedimentáveis para que se possa considerar os bioflocos como maduros. É possível que o tempo necessário para o amadurecimento dos bioflocos seja mais longo (> 30 dias) quando se utiliza da metodologia empregada na 1ª fase do presente trabalho. Portanto, a formação e o desenvolvimento de bioflocos em tanques desprovidos de peixes não apresenta viabilidade técnica, não sendo, por isso, recomendada aos produtores.

Fase 2 – Tanques de maturação de bioflocos, com peixes

Em todos os tratamentos, a concentração de O₂ dissolvido na água foi significativamente menor ao final do experimento (Tabela 5).

Tabela 5. pH, O₂ (mg L⁻¹) e alcalinidade total (AT; mg L⁻¹ CaCO₃ eq.) de tanques de maturação de bioflocos, providos ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N da água ajustada para 15:1 (média ± d.p.; n = 5).

Variável	Tempo	Ajuste C:N ¹	Peixamento	
			Não	Sim
O ₂	Início	Não	-	7,51 ± 0,01*
		Sim	7,53 ± 0,05* ³	7,53 ± 0,06*
	Fim ²	Não	-	6,53 ± 0,10
		Sim	6,23 ± 0,33	6,47 ± 0,13
pH	Início	Não	-	7,99 ± 0,11*
		Sim	7,96 ± 0,08*	7,94 ± 0,11
	Fim	Não	-	7,09 ± 0,09 Ab ⁴
		Sim	8,25 ± 0,09 a	8,03 ± 0,11 Bb
AT	Início	Não	-	82,8 ± 1,1*
		Sim	84,0 ± 1,8*	83,0 ± 0,9*
	Fim	Não	-	60,9 ± 2,8 Ab
		Sim	178,1 ± 6,5 a	120,3 ± 9,3 Bb
Comparação		P-valor		
		O ₂	pH	AT
Ajuste/peixe (+/-) x				
Ajuste/peixe (++) - início		ns	ns	ns
Ajuste/peixe (+/-) x				
Ajuste/peixe (++) - final		ns	<0,05	<0,05
Ajuste/peixe (-/+) x				
Ajuste/peixe (++) - início		ns	ns	ns
Ajuste/peixe (-/+) x				
Ajuste/peixe (++) - final		ns	<0,05	<0,05
Ajuste/peixe (+/-) - início x				
final		<0,05	<0,05	<0,05
Ajuste/peixe (-/+) - início x				
final		<0,05	<0,05	<0,05
Ajuste/peixe (++) - início x				
final		<0,05	ns	<0,05

¹ Aplicação diária de melaço em pó à água para ajustar a relação C:N para 15:1 (Avnimelech, 1999);

² Após 30 dias;

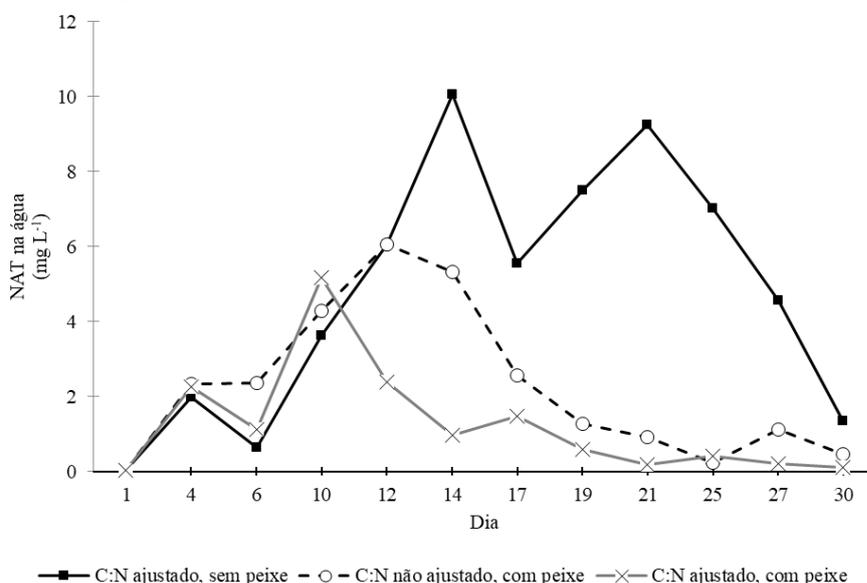
³ Médias para uma mesma variável (O₂, pH, AT) e tratamento (ajuste/peixe +/-, -/+, ++), em diferentes tempos (início, fim), que apresentam um asterisco, são significativamente diferentes entre si pelo teste *t* pareado (p<0,05). Ausência de asterisco indica que a diferença existente entre as médias não é significativa;

⁴ Para uma mesma variável e tempo, médias com distintas letras minúsculas e maiúsculas, em uma mesma linha e coluna, respectivamente, são significativamente diferentes entre si pelo teste *t* de Student (p<0,05). Ausência de letras indica que as diferenças existentes entre as médias não são significativas.

As concentrações finais de O₂, entre tanques com e sem peixes, não diferiram de modo significativo entre si, apresentando valores superiores a 6,2 mg L⁻¹. O pH e AT da água apresentaram comportamentos distintos entre os tratamentos (Tabela 5). Os tanques com relação C:N ajustada, sem peixe, apresentaram, ao final, aumento no pH e AT da água, em relação ao observado no início do trabalho (p<0,05). Já no grupo C:N não ajustado – com peixe, ocorreu redução significativa no pH e AT, entre os tempos inicial e final. Já para os tanques com relação C:N ajustada, com peixe, verificou-se aumento (p<0,05) apenas na AT, com o decorrer do tempo. Esses resultados demonstram que o melão em pó, quando adicionado na água, atua também como produto alcalinizante. Logo, a aplicação de melão na água traria dois benefícios distintos ao produtor: 1 – ajuste da relação C:N para remoção de NAT; 2 – correção da AT da água, promovendo maior desenvolvimento da comunidade de bactérias nitrificantes. Rezende *et al.* (2018) também atribuíram o aumento na AT da água à entrada de melão, encontrando valores de AT superiores a 280 mg L⁻¹, no final do estudo. Entretanto, é importante destacar que a aplicação de melão em pó aumenta consideravelmente a DBO da água, devendo, por isso, ser realizada somente em tanques que sejam supridos por forte aeração suplementar. Pérez-Fuentes *et al.* (2016) observaram queda na concentração de O₂ de 3,2 mg L⁻¹ para 1,5 mg L⁻¹, logo após a adição de melão à água. Por isso, deve-se manter elevadas as concentrações de O₂ dos tanques, de modo a prevenir fortes reduções em virtude das aplicações de melão.

Em todos os tratamentos experimentais, a concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) da água apresentou crescimento inicial, com posterior declínio, mas seguindo diferentes padrões (Figura 3). Os tanques com relação C:N ajustada, sem peixe, apresentaram aumento nas concentrações de NAT na água até o 14º dia, quando atingiram o pico de 10,0 ± 2,0 mg L⁻¹. Em seguida, as concentrações de NAT nesses tanques decresceram até o último dia de observação (30º), registrando-se 1,34 ± 0,3 mg L⁻¹. Nesses tanques, como o desenvolvimento dos bioflocos foi pequeno, demonstrado pelas baixas concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST), na água (Figura 5), a remoção de amônia da água foi devida provavelmente à ação de bactérias nitrificantes e à volatilização de amônia gasosa, já que havia intensa aeração da água.

Figura 3. Concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) na água de tanques de maturação de bioflocos, providos ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N ajustada para 15:1 ($n = 5$). Exceto pelos dias 1, 4, 6 e 10, as diferenças existentes entre as médias para os tratamentos C:N ajustado - sem peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste t de Student ($p < 0,05$). Exceto pelos dias 1, 4, 10 e 25, as diferenças existentes entre as médias dos grupos C:N não ajustado - com peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste t de Student ($p < 0,05$).



Nos tanques com relação C:N ajustada, com peixe, a maior concentração de NAT na água foi observada no 10º dia experimental, quando atingiu $5,16 \pm 1,07 \text{ mg L}^{-1}$. Entre os dias 12 e 30, do período de observação, as concentrações de NAT na água foram significativamente maiores nos tanques com relação C:N ajustado, sem peixes, do que nos tanques com relação C:N ajustada, mas com peixes (Figura 3). Percebe-se que o pico de NAT nos tanques ajustados, com peixe, foi bem inferior ao pico de NAT nos tanques ajustados, sem peixe. Esse resultado demonstra que os processos de remoção de NAT, nos primeiros tanques (c/peixe), eram bem mais eficientes que nos últimos (s/peixe). É provável que parte da microbiota presente nas fezes dos peixes tenha contribuído para formação dos bioflocos, fato que não ocorreu, obviamente, nos tanques despovoados. Assim, bem melhor do que a inoculação artificial da água, seja com a utilização de água verde ou marrom, seria a inoculação natural, aquela realizada diariamente pelos próprios animais cultivados. A concentração de microrganismos presentes no tanque pode alterar a taxa de formação dos bioflocos. A inoculação de tanques de cultivo com bioflocos maduros evita a ocorrência de altas concentrações de NAT e NO_2^- (KRUMMENAUER *et al*, 2014; SERRA *et al*, 2015; MALPARTIDO PASCO *et al*, 2018). Os inóculos de bioflocos geralmente utilizados são oriundos de tanques de cultivo de tilápia ou camarão, em sistema BFT.

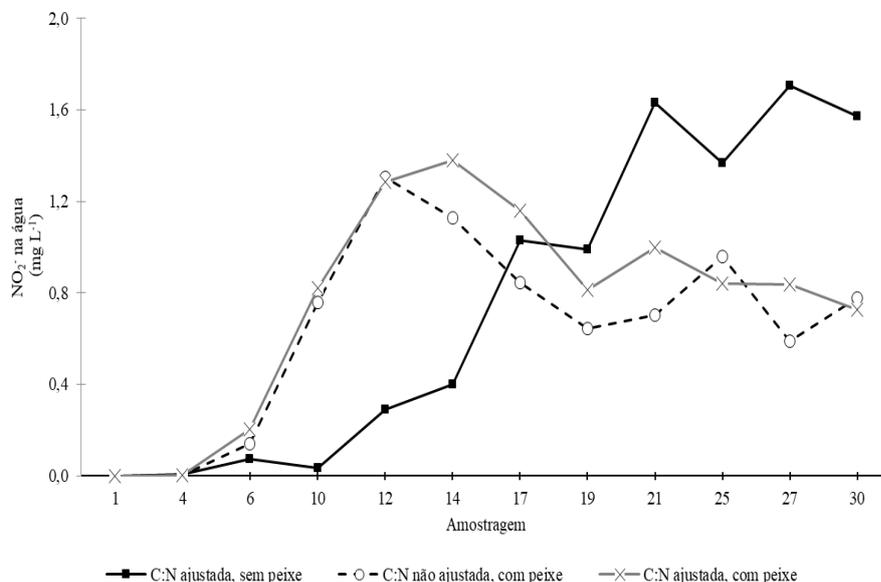
Importante destacar que a presença dos peixes, nos tanques ajustados, antecipou,

em vários dias, o início do controle do NAT. Nos tanques ajustados, sem peixes, perigosos picos de NAT foram observados mesmo após 21 dias do início das aplicações de melaço na água. Já nos tanques ajustados, com peixes, o último pico de NAT foi observado no 10º dia após o início. A partir daí as concentrações de NAT se mantiveram sempre baixas, próximas a zero, a partir de determinado momento. Logo, os resultados obtidos sugerem que a presença de peixes nos tanques acelerou a formação e o desenvolvimento dos bioflocos nos tanques ajustados, fato esse importante por reduzir os intervalos entre ciclos de produção e, conseqüentemente, aumentar o tempo disponível para crescimento animal.

Nos tanques com relação C:N ajustada, com peixes e C:N não-ajustada, com peixes, observou-se aumento nas concentrações de NAT na água até os dias 10 e 12, respectivamente. A partir daí, houve diminuição contínua nas concentrações de NAT, em ambos os tratamentos, até o final do experimento. No último dia, os tanques com relação C:N ajustada, com peixes, apresentavam significativamente menos NAT na água que os tanques com relação C:N não-ajustada, com peixes, as quais foram iguais a $0,10 \pm 0,03$ e $0,47 \pm 0,15 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (Figura 3). Como as rações comerciais para piscicultura são ricas em proteína e pelo fato de o processo digestivo dos animais ser incompleto, as fezes da tilápia contêm concentrações expressivas de proteína bruta (AVNIMELECH, 1999). Isso faz com que a relação C:N das fezes dos animais seja baixa. Luo *et al.* (2014) relataram 12% de proteína nas fezes de juvenis de tilápia do Nilo, cultivados em tanques BFT. Essa condição não favorece a formação de bioflocos, exigindo a suplementação da água com fonte de C orgânico. Logo, a presença dos peixes não é suficiente para que ocorra a formação de abundante biomassa de bioflocos na água, havendo a necessidade da correção da relação C:N, pela aplicação periódica de melaço ou de outra fonte de C orgânico.

No início do período de observação, entre os dias 6 e 14, as concentrações de NO_2^- na água foram maiores nos tanques ajustados, com peixes, do que nos tanques ajustados, sem peixe (Figura 4; $p < 0,05$). A partir do 19º dia, o comportamento do nitrito se inverteu entre esses dois tratamentos, observando-se concentrações crescentes de NO_2^- nos tanques com relação C:N ajustada, sem peixe, até o final do experimento. Já nos tanques com relação C:N ajustada, com peixes, houve queda nas concentrações de nitrito na água, a partir do dia 14, as quais se mantiveram relativamente estáveis, e sempre abaixo das concentrações observadas nos tanques sem peixes, até o final (Figura 4).

Figura 4. Concentração de nitrito (NO_2^-) na água de tanques de maturação de bioflocos, providos ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N ajustada para 15:1 ($n = 5$). Exceto pelos dias 1, 4, 17 e 19, as diferenças existentes entre as médias para os tratamentos C:N ajustado - sem peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste *t* de Student ($p < 0,05$). Exceto pelos dias 1, 4, 6, 10, 12, 25 e 30, as diferenças existentes entre as médias dos grupos C:N não ajustado - com peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste *t* de Student ($p < 0,05$).



No período inicial, o maior desenvolvimento dos bioflocos, nos tanques ajustados com peixe, provavelmente inibiu o crescimento das bactérias nitrificantes, levando ao acúmulo de nitrito na água. Nesse mesmo período (dia 1 – 19), as bactérias nitrificantes teriam se desenvolvido mais rapidamente, nos tanques ajustados sem peixe, o que explicaria as menores concentrações de nitrito nesses tanques. A partir do 20º dia, entretanto, a comunidade de bactérias nitrificantes, presente nos tanques ajustados com peixe, removeu, provavelmente mais nitrito da água, quando comparado aos tanques ajustados sem peixe. Esses resultados sugerem que a atividade bacteriana nitrificante poderia atuar em sinergismo com os bioflocos, obtendo-se, nesse caso, maiores taxas de remoção de nitrito da água, quando comparado a tanques com baixo nível de sinergia. Logo, a remoção de nitrito da água poderia ser maior em tanques mixotróficos, ou seja, naqueles com concentrações significativas de ambos os grupos bacterianos, isto é, heterotróficos e autotróficos (nitrificantes; AZIM; LITTLE, 2008; ZHANG *et al.*, 2016). O manejo das diferentes comunidades bacterianas, entretanto, requer conhecimento, já que as bactérias nitrificantes e heterotróficas podem competir entre si por espaço, NAT e micronutrientes, em um mesmo sistema (XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016). A aplicação abundante de melão na água acaba favorecendo o crescimento das bactérias

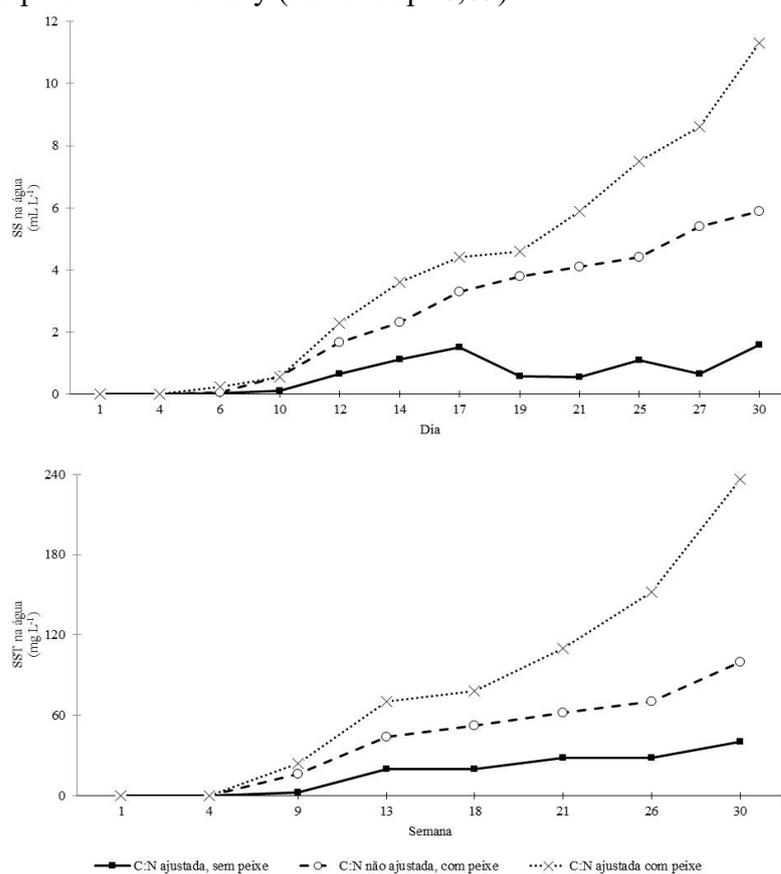
heterotróficas. Xu, Morris e Samocha (2016) relataram que tanques BFT, que também apresentam microalgas e bactérias autotróficas, apresentam melhor qualidade de água e de desempenho zootécnico de *L. vannamei*, quando comparado com tanques dominados por bactérias heterotróficas.

Na comparação entre tanques com peixes, com ou sem ajuste da relação C:N da água, as concentrações de NO_2^- na água variaram de modo semelhante até o 12º dia experimental, tendo-se observado aumento, em ambos os tratamentos, até aquele momento (Figura 4). A partir daí as concentrações de nitrito na água declinaram nesses dois tratamentos. Ao final (30º dia), não se observou diferença significativa para nitrito na água, entre os tanques com relação C:N não-ajustada, com peixe, e relação C:N ajustada, com peixe, cujas concentrações foram iguais a $0,73 \pm 0,12$ e $0,78 \pm 0,19 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Esses resultados sugerem que a aplicação de melação na água não tem impacto expressivo no controle das concentrações de nitrito. Em sistemas sem renovação de água, o nitrito tende a se acumular devido ao lento crescimento das bactérias *Nitrobacter* (HARGREAVES, 2006). O ajuste da relação C:N da água, pela aplicação de melação ou de outra fonte de C orgânico, é um manejo comprovadamente eficaz no controle das concentrações de amônia da água, mas não de nitrito. Ferreira *et al.* (2016) observaram aumento na concentração de amônia na água, até a terceira semana de cultivo de *L. vannamei* em tanques BFT, ocorrendo, a partir daí redução da amônia, mas aumento contínuo de nitrito. O tratamento biológico mais eficaz, que se conhece atualmente, para controle do nitrito é a nitrificação. Logo, como o nitrito é tão ou até mais tóxico que a amônia, é de interesse estimular o desenvolvimento de ambos os grupos bacterianos: heterotróficos, para controle da amônia, e quimiotróficos, para controle do nitrito. Nesse sentido, sugere-se não eliminar totalmente o NAT da água pela correção da relação C:N, com o objetivo de que haja uma concentração mínima de NAT que estimule também o crescimento das bactérias nitrificantes. Outra alternativa é a reutilização da água com bioflocos maduros para acelerar o processo de nitrificação e atuar como inóculo de novos bioflocos (KRUMMENAUER *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2016).

As concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) na água aumentaram continuamente, do início ao final do estudo, nos tanques com peixes, independentemente do ajuste da relação C:N da água. Nos tanques sem peixe, as concentrações de SS na água se mantiveram baixas e constantes, ao longo do período experimental (Figura 5). Como a formação e o desenvolvimento dos bioflocos foi favorecida pela presença dos peixes nos tanques, houve maior transformação de material particulado fino e de matéria orgânica dissolvida (COD) em sólidos sedimentáveis. Os bioflocos são agregados microbianos que se

formam a partir das atrações eletrostáticas (covalente e não-covalente) existentes entre partículas suspensas e dissolvidas na água, que aderem umas às outras por substâncias poliméricas extracelulares secretadas pelas bactérias (TANSEL, 2018; AZIM; LITTLE, 2008).

Figura 5. Concentração de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais na água de tanques de maturação de bioflocos, providos ou não com peixes, que tiveram ou não a relação C:N ajustada para 15:1 (n = 5). Exceto pelos dias 1, 4, 6 e 10, as diferenças existentes entre as médias de SS, para os grupos C:N ajustado - sem peixe, C:N não ajustado - com peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste de Tukey (ANOVA $p < 0,05$). Exceto pelos dias 1 e 4, as diferenças existentes entre as médias de SST, para os grupos C:N ajustado - sem peixe, C:N não ajustado - com peixe e C:N ajustado - com peixe, em cada tempo, são significativas pelo teste de Tukey (ANOVA $p < 0,05$).



A partir do 12^o dia, as concentrações de SS na água foram significativamente maiores nos tanques com C:N ajustada, com peixe, em relação aos tanques com relação C:N não-ajustada, com peixe. Em ambos os tanques, as concentrações de SS, a partir do 12^o dia, foram maiores que nos tanques sem peixes. Esses resultados sugerem que havia concentrações expressivas de bioflocos nos tanques com peixe, principalmente naqueles tanques com ajuste da relação C:N, após 2 semanas do início das aplicações de melão na água. Logo, duas semanas seria o intervalo de tempo mínimo necessário para formação de bioflocos nos tanques. Estudos

anteriores indicaram um tempo mínimo de 15 dias para o estabelecimento abundante de bactérias heterotróficas em tanques de aquicultura (BINGGUO *et al.*, 2013; XU; MORRIS; SAMOCHA, 2016; REN *et al.*, 2019). Em tanques de cultivo de *L. vannamei*, Xu, Morris e Samocha (2016) obtiveram, após duas semanas de cultivo, concentrações de SS e SST iguais a 30 mL L^{-1} e 600 mg L^{-1} , respectivamente. Ren *et al.* (2019) observaram uma concentração de SST de 438 mg L^{-1} em tanques heterotróficos, após 14 dias de cultivo de *L. vannamei*.

As concentrações de sólidos suspensos totais (SST) na água diferiram de modo significativo entre os tratamentos, a partir do 13º dia experimental, até o final (Figura 5). A partir daquele momento, havia maior ($p < 0,05$) concentração de SST nos tanques com relação C:N ajustada, com peixes, em relação aos tanques com relação C:N não-ajustada, com peixes, os quais, por sua vez, apresentavam maior SST que os tanques sem peixes, mas relação C:N ajustada. Ao final, as concentrações médias de SST na água nos tanques com relação C:N ajustado, com peixe; C:N não-ajustada, com peixe; e C:N ajustada, sem peixe foram iguais a de $236 \pm 29 \text{ mg L}^{-1}$; $100 \pm 32 \text{ mg L}^{-1}$ e $40 \pm 22 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Portanto, recomenda-se um tempo de espera mínimo de 2 semanas, preferencialmente de 3 semanas, para que ocorra a formação e o desenvolvimento satisfatório de bioflocos, em tanques com relação C:N ajustada e povoados com peixes “inoculadores”. Esse tempo mínimo deveria ser levado em consideração pelo lento crescimento das bactérias nitrificantes (AZIM; LITTLE, 2008; REN *et al.*, 2019). Em tanques BFT, Ren *et al.* (2019) observaram que as concentrações de nitrito somente se estabilizaram após 21 dias. Assim, as “colheitas” dos bioflocos maduros, em tanques avulsos de maturação, e seu uso na preparação inicial dos tanques de cultivo, poderiam acontecer a cada 2 – 3 semanas, desde que as condições necessárias para o crescimento bacterianos tenham sido atendidas.

CONCLUSÕES

1. A inoculação de tanques de peixes apenas com água verde não gera a biomassa desejada de bioflocos;
2. A formação e o desenvolvimento de bioflocos em tanques desprovidos de peixes resulta em tempo maior para maturação do bioflocos;
3. A presença de peixes nos tanques de maturação de bioflocos acelerou a formação e o desenvolvimento dos bioflocos, nos tanques com relação C:N ajustada;

4. A atividade bacteriana nitrificante pode atuar em sinergismo com os bioflocos, obtendo-se, com isso, maiores taxas de remoção de nitrito da água, quando comparado a tanques com baixo nível de sinergia;
5. A aplicação de melão na água não tem impacto no controle das concentrações de nitrito;
6. São necessários, no mínimo, de duas a três semanas para formação e desenvolvimento de bioflocos, em tanques com ajuste da relação C:N da água.