

JOANA D'ARC SILVEIRA SOUZA

**FONTES DE CARBONO NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Laércio dos Anjos Benjamin

Coorientadores: Edgar de Alencar Teixeira
Galileu Crovatto Veras

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S729f Souza, Joana D´Arc Silveira, 1980-
2021 Fontes de carbono na produção de juvenis de tilápias do
Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistemas de bioflocos / Joana
D´Arc Silveira Souza. – Viçosa, MG, 2021.
1 tese eletrônica (97 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Laércio dos Anjos Benjamin.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.041>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Tilápia-do-nilo - Criação. 2. Compostos nitrogenados.
3. Hematologia veterinária. 4. Brânquias - Morfometria .
5. Sustentabilidade. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 639.3774

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

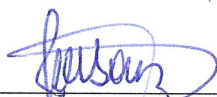
JOANA D'ARC SILVEIRA SOUZA

**FONTES DE CARBONO NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 27 de julho de 2021.

Assentimento:



Joana D'Arc Silveira Souza
Autora



Laércio dos Anjos Benjamin
Orientador

Dedico,
Aos amores da minha vida, Gilmar, Giovanna e Ítalo;
Aos meus pais, Acir e Jandira;
Às minhas irmãs, Natália e Karen;
Aos meus avós, Joana, Frederico, Aurora e João (in memorian);
A toda minha família e aos amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, por me manter forte em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Veterinária pela oportunidade de realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Laércio, pela orientação, auxílio durante todo esse período, e mesmo em meio a pandemia, sempre atencioso; agradeço pela paciência, amizade, confiança e grandes ensinamentos.

Aos professores Edgar e Galileu, pela coorientação, auxílio durante a pesquisa, pelas contribuições que puderam destinar para o meu aprendizado durante essa etapa da minha vida acadêmica.

Aos membros efetivos e suplentes da banca examinadora da qualificação e da defesa prof. Walter Motta, prof. Eduardo Turra, prof. Leonardo B. Lara, Dra. Érika Alvarenga, profa. Eloísa Saliba, prof. Rodrigo Fortes e prof. Marcelo Hermes, pela avaliação e contribuições.

Ao Laboratório de Biologia de Peixes (LBP) pela cessão das instalações para processamento das análises.

Aos amigos do LBP Letícia, Fred, Paloma, Clementino, Arthur e Maria Cecília pelo auxílio nas análises e pelos momentos de descontração e alegria.

Ao Laboratório de Aquacultura da EV/UFMG pela cessão das instalações para execução do experimento. Um agradecimento especial à Érika pelo apoio e ensinamentos durante e após o experimento.

Aos amigos que fiz no Laqua: Adriana, Ragli, Namíbia, Williane, Stéfani, Vinícius, Thomas, Arthur, Peter, Ludson, Thomaz, Lara, Stéphanie, Dione, Thaíza, Gean, André, e a todos que me auxiliaram na coleta final do experimento, mesmo em meio à pandemia.

Ao prof. Mario Chizotti, à Juliana e à Poliane, do Departamento da Zootecnia da UFV, pela cessão dos laboratórios (Laboratório de Ciência da Carne - LCC e Laboratório de Nutrição de Ruminantes - Labnur) e auxílio nas análises bromatológicas.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária, especialmente à Rosi e ao Aécio, que muito me ajudaram.

À Dona Ana (*in memorian*), da cantina do Departamento de Veterinária, e à Alda, da cantina do Departamento de Zootecnia, pelos bate papos e cafezinhos.

Ao Wagner Speziali, da Inproveter, pela cessão das rações para o experimento.

Aos amigos Coronel Henrique, Dra. Silvania, Dr. Marcos e Cida, pelo apoio sempre.

Aos amigos Vanderson, Fabão, Sandrão, Flávia, Evandro, Zé Luís, Tiana, Joh, Jairo, Daniela, Gleyvson e Daniele, pela amizade e companheirismo.

Aos meus pais Acir e Jandira, que me incentivaram a estudar desde pequena, e eu acho que levei muito 'ao pé da letra', rs.

Às minhas irmãs Cristiane e Karen e aos meus cunhados Ney e João Pedro, que apesar da distância sempre me apoiaram. À minha sobrinha Letícia por trazer alegria.

À minha segunda família: minha sogra Maria, meu sogro Rafael e meus cunhados, pela amizade e cuidados com meus filhos.

À minha grande família (grande mesmo) tios, tias, primos, primas e agregados pela torcida sempre.

Ao meu companheiro Gilmar, pela paciência, pelos conselhos, pelo carinho, pelo companheirismo e por fazer parte da nossa vida. Amo você!

Aos meus filhos Giovanna, mais uma zootecnista para a família, me auxiliou nas análises bromatológicas e que muito me orgulha, e Ítalo, companheiro de sempre. Vocês são minha motivação. Amo vocês!

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho: sem vocês eu não estaria aqui.

Gratidão por todas as vezes que Deus cuidou de mim, acalmou meu coração, tranquilizou minha alma, mesmo sendo tão imperfeita.

Gratidão é o que temos para hoje!

“Tudo posso n´Aquele que me fortalece”.

RESUMO

SOUZA, Joana D'Arc Silveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Fontes de carbono na produção de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos.** Orientador: Laércio dos Anjos Benjamin. Coorientadores: Edgar de Alencar Teixeira e Galileu Crovatto Veras.

A tecnologia de bioflocos (BFT) é um sistema de produção intensiva com baixa renovação de água; contudo, o acúmulo de compostos nitrogenados e matéria orgânica pode vir a ser problemático se esse não for tratado com eficiência. Uma das técnicas de tratamento destes compostos é a inclusão de fontes de carboidrato orgânico no sistema. Portanto, com o presente estudo objetivou-se avaliar a influência do uso de fontes de carbono no sistema de bioflocos sobre os parâmetros de qualidade da água, e de desempenho e homeostase de juvenis de tilápias do Nilo. Foram testadas quatro diferentes fontes de carbono (bagaço de cana, milho, milho desintegrado com palha e sabugo e polpa cítrica) em comparação ao açúcar, que foi utilizado como fonte padrão controle. Os tanques foram preparados utilizando 30% de bioflocos já maturados e 70% de água clara. Um total de 400 juvenis de tilápias do Nilo ($45,4 \pm 3,66$ g) foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques experimentais de 160 L de volume útil em uma densidade de 20 peixes por tanque, sendo quatro repetições por fonte de carbono. Foram analisados os parâmetros físico-químicos e compostos nitrogenados da água. Quando a amônia ultrapassava o nível de 1 mg.L^{-1} , as fontes de carbono eram adicionadas na proporção de 6:1 (C:N). Ao final do período experimental foi realizada a avaliação bromatológica das fontes carbonáceas, dos bioflocos e dos filés de tilápia, do tamanho dos flocos formados e do desempenho produtivo dos peixes. Também foram realizadas análises do eritrograma, do leucograma, do trombograma e da bioquímica plasmática do sangue, além da histomorfometria de brânquias. As fontes de carbonos testadas não influenciaram a qualidade da água do BFT de forma a prejudicar os peixes, não sendo observadas diferenças ($p > 0,05$) para as variáveis temperatura (medianas de 25,9 a 27,4°C) e alcalinidade (mínimo 5,00 e máximo 215,00 $\text{mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$). O oxigênio dissolvido (4,05 a 5,63 mg.L^{-1}), pH (5,7 a 5,9) e a salinidade (2,29 a 2,45 g.L^{-1}) apresentaram diferenças ($p < 0,05$) durante o período experimental. Não houve diferenças entre os parâmetros zootécnicos. Quanto à

composição final dos bioflocos não houve diferenças entre os tratamentos. O tamanho dos flocos mostrou diferença entre as áreas dos flocos menores que 1.000 μm^2 , mas este fator não resultou em alteração no desempenho dos peixes. Na avaliação sanguínea, houve diferença na concentração de hemoglobina e, conseqüentemente, na concentração de hemoglobina corpuscular média, bem como na quantificação dos trombócitos. Os peixes mantidos nos bioflocos com fontes de MI, MDPS e PC apresentaram maiores taxas de Hb em relação às tilápias mantidas em bioflocos com a fonte de carbono de AC. A concentração de hemoglobina dos peixes submetidos aos bioflocos em que foi utilizado o MI como fonte de carbono foi maior em relação ao controle (AC), e similar aos tratamentos com fontes de BC, MDPS e PC. Os trombócitos do tratamento MDPS apresentaram valores bem acima dos demais tratamentos. Dentro dos parâmetros bioquímicos sanguíneos, houve alteração significativa do ALT. Para os tratamentos AC, PC, MI e MDPS, os valores de ALT foram menores em relação a fonte BC, sendo que esta não diferiu do MI e MDPS. A morfometria branquial apresentou diferenças entre os tratamentos. A espessura da lamela, o diâmetro de vaso e a celularidade da lamela primária das brânquias de *Oreochromis niloticus* do presente experimento mostraram valores menores ($p < 0,05$) na fonte BC em geral, seguida pelo AC. As diferenças encontradas neste estudo não demonstraram impacto na qualidade da água e desempenho de tilápias juvenis produzidas em sistema de BFT com diferentes fontes de carbono.

Palavras-chave: Compostos nitrogenados. Hematologia. Morfometria de brânquias. Sustentabilidade. Tilapicultura.

ABSTRACT

SOUZA, Joana D'Arc Silveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Carbon sources in the production of juveniles Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system.** Adviser: Laércio dos Anjos Benjamin. Co-advisers: Edgar de Alencar Teixeira and Galileu Crovatto Veras.

The biofloc technology (BFT) is an intensive production system with low water renovation; however, the nitrogenous compounds and organic matter accumulation can be a problem if not efficiently treated. One of the treatment techniques for these compounds is the inclusion of organic carbohydrate sources in the system. Therefore, this study aimed to evaluate the influence of carbon sources use of in the biofloc system on the parameters of water quality, performance and homeostasis of Nile tilapia juveniles. Four different carbon sources such as sugarcane bagasse, corn, disintegrated corn with straw and cob and citrus pulp were used in comparison to sugar (which was used as a standard control source). The tanks were prepared using 30% matured bioflocs and 70% clear water. A total of 400 juveniles of Nile tilapia (45.4 ± 3.66 g) were randomly distributed in 20 experimental tanks of 160 L useful volume at a density of 20 fish per tank, with four replicates per carbon source. The physicochemical parameters and nitrogen compounds of the water were analyzed. When ammonia exceeded the level of 1 mg.L^{-1} , carbon sources were added at a ratio of 6:1 (C:N). At the end of the experimental period, were carried out the chemical evaluation of the carbonaceous sources, bioflocs, tilapia fillets, as well as the size of the formed flocs and the productive performance of the fish. Analyzes of the erythrogram, leukogram, thrombogram, blood plasma biochemistry and the histomorphometry of gills were also performed. The carbon sources tested did not influence the water quality of the BFT in such a way as to harm the fish. No differences were observed ($p > 0.05$) in the variables temperature (medians from 25.9 to 27.4°C) and alkalinity (minimum 5.00 and maximum $215.00 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$). Dissolved oxygen (4.05 to 5.63 mg.L^{-1}), pH (5.7 to 5.9) and salinity (2.29 to 2.45 g.L^{-1}) showed differences ($p < 0.05$) during the trial period. There were no differences between the zootechnical parameters. As for the final composition of the bioflocs, there were no differences between treatments. The size of the flocs showed a difference between the areas of the flocs smaller than $1,000 \mu\text{m}^2$, but this factor did

not result in any change in fish performance. In the blood evaluation, there was a difference in the hemoglobin concentration and, consequently, in the mean corpuscular hemoglobin concentration, as well as in the quantification of thrombocytes. Fish kept in bioflocs with MI, MDPS and PC sources had higher Hb rates compared to tilapia kept in bioflocs with AC carbon source. The hemoglobin concentration of fish subjected to bioflocs in which MI was used as a carbon source was higher compared to the control (AC), and similar to treatments with BC, MDPS and PC sources. The thrombocytes from the MDPS treatment presented higher values than other treatments. Within the blood biochemical parameters, there was a significant change in ALT. For AC, PC, MI and MDPS treatments, ALT values were lower compared to BC source, which did not differ from MI and MDPS. The gill morphometry showed differences between treatments. The lamella thickness, the vessel diameter and the primary lamella cellularity of the gills of *Oreochromis niloticus* in the present experiment showed lower values ($p < 0.05$) in BC source in general, followed by AC. The differences found in this study did not indicate impact on the water quality and performance of juvenile tilapia produced in a BFT system with different carbon sources.

Keywords: Nitrogenous compounds. Breeding system. Tilapiculture. Hematology. Gill morphometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1** - Estrutura do floco em sistema BFT conservado em formol a 2%, apresentando variações em densidade e no tamanho das partículas..... 19
- Figura 2** - Nematóide (seta) pastejando em biofloco, visualizados *in natura* no microscópio de luz..... 20
- Figura 3** - Células sanguíneas de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Eritrócitos (E), linfócitos (L), monócitos (M), neutrófilos (N) e trombócitos (T)..... 22

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Resumo gráfico a ser incluído no artigo atendendo as normas de submissão da revista..... 32
- Figura 2** - Morfometria do floco no microscópio de luz (aumento 20x). (A) Partícula de bioflocos na cor natural, (B) Foto tratada para medição de área, (C) Área selecionada em amarelo para medição no programa ImageJ..... 40
- Figura 3** - Medianas das fontes de carbono utilizadas na criação de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema BFT. Letras diferentes na mesma linha diferem de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). CV = 13,70 e valor de p 0,0488..... 41
- Figura 4** - Padrão de acúmulo semanal de sólidos sedimentáveis em sistema de bioflocos, utilizando diferentes fontes de carbono orgânico, para criação de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)..... 42
- Figura 5** - Valores médios de pH e alcalinidade e suas flutuações durante o período experimental para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de biofloco com utilização de fontes de carbono alternativas..... 43
- Figura 6** - Valores médios para compostos nitrogenados (A - amônia tóxica, B - nitrito e C - amônia) e suas flutuações durante o período experimental, para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de biofloco com utilização de fontes de carbono alternativas..... 44
- Figura 7** - Unidade de área de flocos com área menor que 1.000 μm^2 para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono..... 48

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Resumo gráfico a ser incluído no artigo atendendo as normas de submissão da revista..... 65
- Figura 2** - Tipos celulares sanguíneos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Eritrócitos (E), diferencial de leucócitos (L. Linfócitos; M. Monócitos; N. Neutrófilos) e trombócitos (T)..... 72

Figura 3 - Brânquias de juvenis de tilápias (*Oreochromis niloticus*), utilizadas para aferição de espessura de lamela primária (ELP), diâmetro de vaso central (DV) e comprimento de lamela secundária (LS)..... 74

Figura 4 - Fotomicrografias de brânquias de tilápias (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono. dls = desarranjo de lamela secundária, els = encurtamento de lamela secundária, fls = fusão de lamelas secundárias, dv = dilatação de vasos..... 86

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Composição bromatológica, em porcentagem, das fontes de carbono avaliadas em sistema de bioflocos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	38
Tabela 2 - Relação dos índices observados e fórmulas empregadas para avaliação do desempenho zootécnico dos juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivados em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.....	39
Tabela 3 - Medianas dos parâmetros de qualidade de água em bioflocos, utilizando diferentes fontes de carbono orgânico, para criação de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)..	42
Tabela 4 - Medianas, coeficiente de variação (CV) e valor de p dos compostos nitrogenados em sistema de bioflocos para juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) utilizando diferentes fontes de carbono orgânico.....	45
Tabela 5 - Médias \pm desvios padrão para biomassa, densidade e peso médio inicial e final, de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.....	46
Tabela 6 - Médias \pm desvios padrão dos parâmetros zootécnicos de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono...	46
Tabela 7 Valores médios (%), coeficientes de variação (CV) e valores de p na composição dos flocos microbianos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.....	47
Tabela 8 - Valores médios (%), coeficientes de variação (CV) e valores de p, para filés de juvenis de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivadas no sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.....	47
Tabela 9 - Médias, coeficientes de variação (CV) e valores de p da área dos flocos nas diferentes classes de tamanho dos agregados microbianos no sistema de bioflocos para juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) produzidas com diferentes fontes de carbono.	48

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Composição bromatológica, em porcentagem, das fontes de carbono avaliadas em sistema de bioflocos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	71
Tabela 2 - Eritrograma de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.....	78
Tabela 3 - Leucograma e trombograma de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.....	78
Tabela 4 - Bioquímica plasmática de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.....	79

Tabela 5 - Espessura, diâmetro do vaso central e celularidade da lamela primária, e comprimento de lamela secundária nos terços basal, médio e apical de brânquias de juvenis de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.....	80
---	----

APÊNDICE A

Tabela 1: Intervalos de referência de hematologia para tilápias.....	97
Tabela 2: Intervalos de referência de leucograma para tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	97
Tabela 3: Intervalos de referência de bioquímica plasmática para tilápias.....	97

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
1.1. Tilapicultura	18
1.2. Tecnologia de bioflocos	19
1.3. Hematologia, morfofisiologia branquial e o bem-estar de peixes.....	21
REFERÊNCIAS.....	26
CAPITULO 1	32
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1. Local	36
2.2. Condições experimentais e formação inicial do floco	37
2.3. Parâmetros de qualidade de água e compostos nitrogenados	38
2.4. Parâmetros zootécnicos	38
2.5. Composição bromatológica dos flocos microbianos e dos filés	39
2.6. Morfometria dos flocos.....	40
2.7. Análises estatísticas	41
3. RESULTADOS	41
3.1. Fontes de carbono	41
3.2. Parâmetros físico-químicos da água.....	42
3.3. Compostos nitrogenados na água	43
3.4. Parâmetros zootécnicos	46
3.5. Composição bromatológica dos flocos microbianos e dos filés	46
3.6. Morfometria dos flocos.....	47
4. DISCUSSÃO.....	48
4.1. Fontes de carbono	48
4.2. Parâmetros físico-químicos da água.....	49
4.3. Compostos nitrogenados na água	50
4.4. Parâmetros zootécnicos	51
4.5. Composição bromatológica do flocos microbianos e dos filés	52
4.6. Morfometria dos flocos.....	54
5. CONCLUSÕES.....	55

CAPÍTULO 2	65
1. INTRODUÇÃO	68
2. MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1. Condução experimental	70
2.2. Eritrograma, leucograma e trombograma	71
2.3. Bioquímica plasmática	73
2.4. Morfometria de brânquias	73
3. RESULTADOS	75
3.1. Eritrograma, leucograma e trombograma	75
3.2. Bioquímica plasmática	76
3.3. Morfometria de brânquias	76
4. DISCUSSÃO	81
4.1. Eritrograma, leucograma e trombograma	81
4.2. Bioquímica plasmática	83
4.3. Morfometria de brânquias	84
5. CONCLUSÕES	87
CONCLUSÃO GERAL	95
PERSPECTIVAS FUTURAS	95
APÊNDICE A - Notas	97

INTRODUÇÃO GERAL

Em tempos modernos, a nutrição humana vem apresentando grande vulnerabilidade em termos de baixa qualidade dos alimentos ou à falta deles. Além da desnutrição, a obesidade e o sobrepeso continuam aumentando em todo o mundo. Considerando a fome um problema econômico e mundial, e os ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável) criados pela ONU, que têm como meta acabar com as diversas formas de fome no mundo até 2030, bem como alcançar a segurança alimentar, a melhoria da nutrição e a promoção da agricultura (FAO, 2019a), a produção sustentável da aquicultura é uma opção que atende a estas demandas.

Mais de 200 milhões de crianças e mais de dois bilhões de adultos pelo mundo podem ser afetados com a “carga tripla de desnutrição”, que está relacionada à desnutrição, sobrepeso ou obesidade e deficiência de micronutrientes, o que pode custar à sociedade US\$ 3,5 trilhões anuais (FAO, 2019b; GNR, 2018). O consumo de carne de peixe pelos aspectos nutricionais intrínsecos dessa carne pode contribuir para a diminuição desses agravos.

Não obstante, a pesca e a aquicultura foram duramente atingidas pela pandemia do COVID-19 em 2020, e ainda podem sofrer mais entraves por possíveis novos bloqueios ou *lockdown*. Embora o alimento não seja um transmissor da COVID-19, houve queda no consumo de peixe fresco pois as pessoas passaram a comprar produtos embalados e congelados por serem de fácil armazenamento e estocagem. Outro fato importante que proporcionou a queda na demanda de peixes frescos foi o fechamento de hotéis e restaurantes (FAO, 2021), bem como o fechamento do setor turístico.

A aquicultura é um setor com grande perspectiva de crescimento no país e no mundo, e a difusão de informações confiáveis sobre o assunto é uma questão fundamental para uma gestão responsável da cadeia produtiva. De acordo com Minaz e Kubilay (2021) com o aumento da população global e com as mudanças climáticas, é de grande importância que a aquicultura mundial tenha uma projeção futura para utilização mínima de fontes naturais de água, como o sistema de criação em bioflocos.

1.1. Tilapicultura

De origem da África e Oriente Médio, a tilápia está amplamente distribuída em 85 países, sendo a terceira espécie mais cultivada no mundo (Fessehaye, 2006). A tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) é um teleósteo da família Cichlidae (Nelson et al., 2016), possui hábito onívoro e facilidade de adaptação para condições adversas, alta viabilidade das larvas, maturidade sexual precoce e tolerância à alta densidade (Alvarenga, 2008).

A tilápia é uma espécie que tem boa aceitação no mercado, seja pelo sabor da carne, facilidade de manejo, alta rusticidade, grande capacidade de adaptação, elevada resistência a doenças e alta prolificidade, além de ser espécie que é produzida durante todo o ano (SEBRAE, 2016).

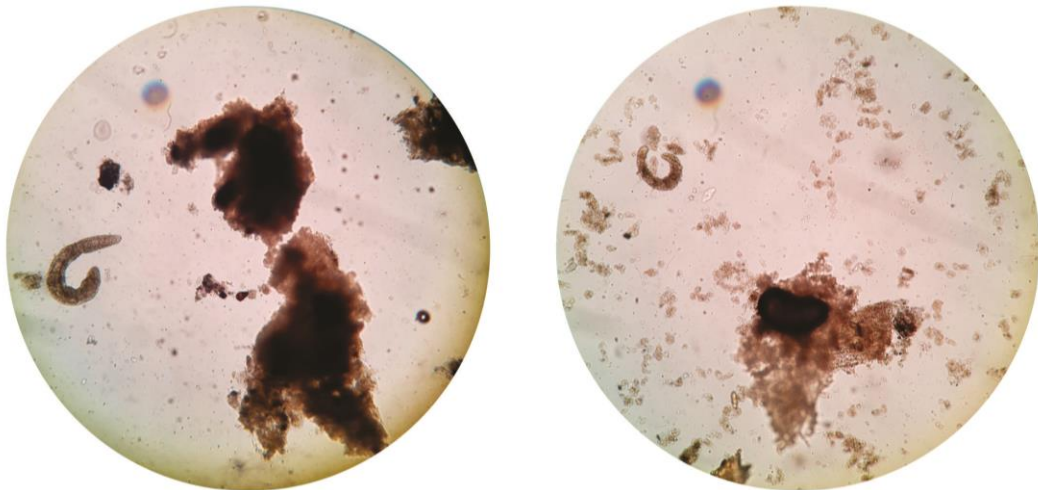
Para se conhecer melhor o desenvolvimento da cadeia produtiva da tilápia no Brasil, entre os anos de 2005 e 2015 houve um crescimento em 223% devido à modernização e intensificação da produção em tanques-rede e viveiros escavados. Em 2005, a tilapicultura superou a produção de 67 mil toneladas e, em 2015, a produção foi de mais de 219 mil toneladas (IBGE, 2015). No ano de 2018, a produção de peixes no país atingiu mais de 722 mil toneladas, sendo a tilápia um dos carros-chefe da aquicultura, com mais de 400 mil toneladas, o que equivale a um aumento de 11,9% em relação a 2017. Essa produção representa 55% da produção total de peixes de cultivo, mantendo o Brasil na quarta posição entre os maiores produtores do mundo, sendo superado pela China, Indonésia e Egito (PEIXE BR, 2019).

Devido à pouca disponibilidade de água de boa qualidade e na busca de novas tecnologias sustentáveis para criação de peixes, o sistema de criação de tilápias em bioflocos com baixa troca de água tem sido estudado (Alvarenga et al., 2018; Ebeling et al., 2006; Ekasari et al., 2015; Emerenciano et al., 2013; Manduca et al., 2020; Silva, 2016; Silva et al., 2017), seja avaliando a biomassa microbiana, a densidade de animais, os parâmetros de qualidade da água, a nutrição de tilápias ou camarões, a composição dos bioflocos ou o padrão de crescimento dos peixes em condições adversas. No entanto, há um consenso que muitas pesquisas ainda se fazem necessárias para efetivação do sistema.

1.2. Tecnologia de bioflocos

A tecnologia de bioflocos (*Biofloc Technology System* - BFT) se vale da produção induzida de micro-organismos heterotróficos por meio do fornecimento de fontes de carbono. Os flocos (Figura 1) formam um aglomerado heterogêneo de micro-organismos, partículas coloidais, polímeros orgânicos, cátions e células mortas (Jorand et al., 1995), que são mantidos em suspensão pela constante aeração do tanque. Estes flocos são irregulares, de diversos tamanhos e possuem alta porosidade (Chu e Lee, 2004). Neste sistema encontram-se tanto bactérias autotróficas quanto heterotróficas.

Figura 1 – Estrutura do floco em sistema BFT conservado em formol a 2%, apresentando variações em densidade e no tamanho das partículas. Sem coloração. Objetiva: 20x. Fotos: Joana D’Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).



De acordo com Avnimelech (2009) a comunidade autotrófica é composta, principalmente, por quimioautotróficos, que obtêm sua energia pela oxidação de compostos químicos, e fotoautotróficos, que produzem energia utilizando a luz solar, CO_2 e água. Neste último caso, a luz solar é capturada pela clorofila e outros pigmentos e são utilizados para redução do CO_2 em açúcares simples (processo de fotossíntese).

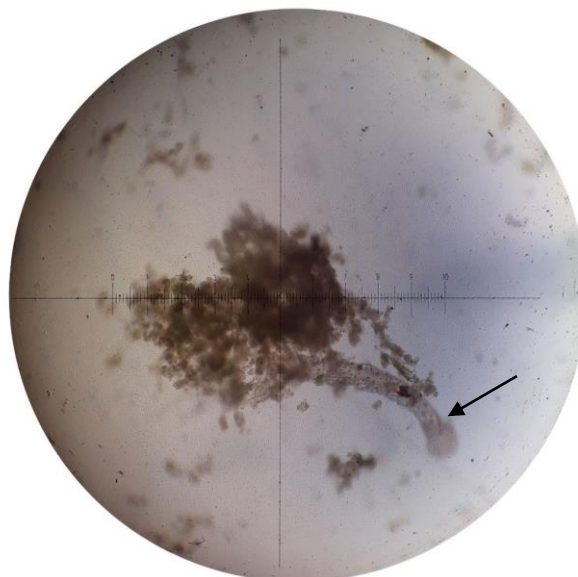
As bactérias autotróficas são as que participam do processo de nitrificação que ocorre em dois passos. No primeiro, a amônia é biologicamente oxidada em nitrito (nitritação) e, em seguida, para nitrato (nitratação), tendo o oxigênio como um receptor terminal de elétrons (Ritman e McCarty, 2001). Na oxidação da amônia

para nitrito, há predominância das *Nitrosomonas spp.* e *Nitrosococcus spp.*; na oxidação do nitrito para nitrato, predominam as *Nitrobacter spp.* e *Nitrospira spp.* (Avnimelech, 2009). Em sistemas de baixa intensidade de produção, as bactérias autotróficas predominam (Alves, 2013; Brune et al., 2003).

A adição de fontes de carbono no sistema de bioflocos (BFT) acelera o crescimento de bactérias heterotróficas. Estes micro-organismos presentes nos bioflocos formam uma biomassa microbiana (Avnimelech, 2009; Pérez-Fuentes et al., 2016; Silva et al., 2017; Vilani et al., 2016; Wei et al., 2016), o que ocorre porque esses micro-organismos são eficientes na incorporação do nitrogênio para formação de novas células que produzirão proteína microbiana, que é excelente fonte de alimento para os peixes.

De Schryver et al. (2008) afirmam que a fonte de carbono utilizada determina em grande parte a composição química (ácidos graxos, lipídios, proteínas e outros) e microbiana (bactérias filamentosas ou em forma de flocos) do floco. Azim e Little (2008) identificaram três diferentes grupos taxonômicos de organismos: protozoários, rotíferos e oligoquetas, sendo observados três gêneros de protozoários (*Paramecium*, *Tetrahimena* e *Petalomonas*), quatro gêneros de rotíferos (*Lecane*, *Trichocerca*, *Polyarthra* e *Asplanchna*) e somente um gênero de oligoqueta (*Tubifex*). Estes micro-organismos foram observados *in natura* em microscópio pastoreando nos flocos (Figura 2).

Figura 2 – Nematóide (seta) pastejando em biofloco, visualizados *in natura* no microscópio de luz. Sem coloração. Foto: Joana D'Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).



Ballester et al. (2007) avaliaram a composição do biofilme em desempenho de camarões e encontraram uma dominância de diatomáceas, cianobactérias filamentosas, ciliados e nematoides, utilizando substrato artificial na produção de camarões. Emerenciano et al. (2011) também descreveram os bioflocos como um composto de comunidade microbiana, incluindo protozoários, rotíferos, cianobactérias e diatomáceas. Gandini et al. (2016) avaliando diferentes fontes de carbono (melaço, farinha de mandioca e resíduo de cervejaria) encontraram quantidade considerável de nematoides.

Rocha et al. (2012) avaliando a formação dos bioflocos na criação de tainhas juvenis, utilizaram um inóculo de bioflocos, bioflocos de criação de camarões e bioflocos sem animais, e como fonte de carbono utilizaram melaço e farelo de trigo para fertilização, encontrando diferentes concentrações de bactérias dos tipos cocos, bacilos e filamentosas, de acordo com os tratamentos que também variaram com o tempo experimental.

As bactérias auxiliam na assimilação do excesso de matéria orgânica (fezes, urina e restos de alimento), convertendo-as em biomassa microbiana (célula bacteriana), permitindo assim um equilíbrio do sistema. Para isso, é necessário o fornecimento de fontes de carbono orgânico para o estímulo do desenvolvimento de bactérias heterotróficas, sendo que para cada grama de N-AT é necessária a adição de 6 g de carbono (Silva, 2016) quando o nível de N-AT está acima do recomendado.

1.3. Hematologia, morfofisiologia branquial e o bem-estar de peixes

De acordo com Toni et al. (2018), *a avaliação do nível de bem-estar animal está embasada em parâmetros sanguíneos e teciduais, que necessariamente requerem a captura e procedimentos invasivos de coleta de amostras. Os indicadores de desenvolvimento físico e comportamental permitem avaliar o estado do bem-estar dos peixes simplesmente observando os animais por meio de monitoramento não invasivo.*

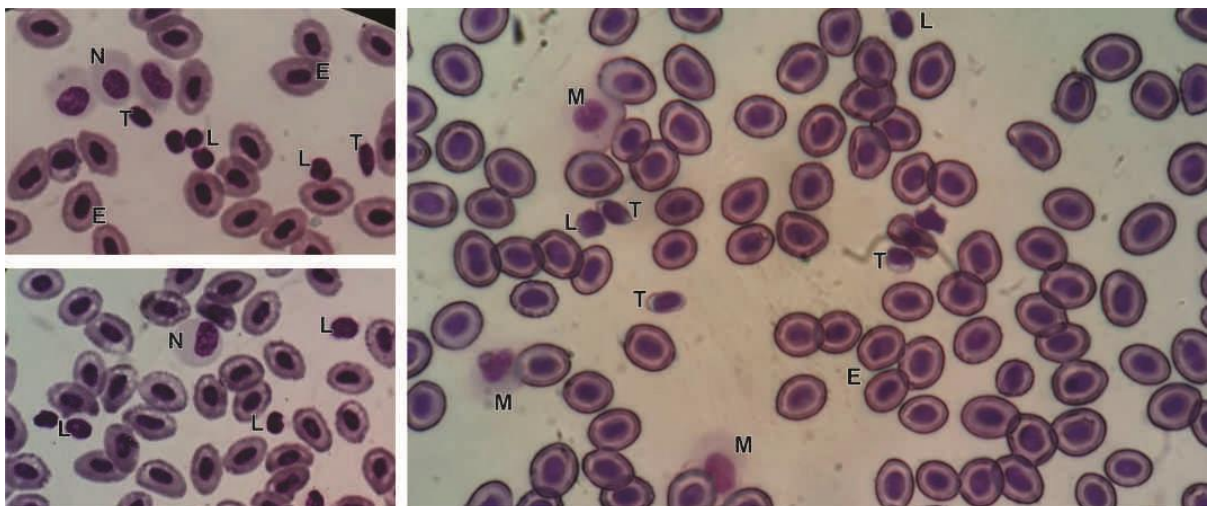
O bem-estar dos animais está diretamente ligado com a homeostase corporal. O termo homeostase foi concebido no início dos anos de 1900 pelo fisiologista norte-americano Walter Bradford Cannon que, mediante ajustes de equilíbrio dinâmico controlados por mecanismos fisiológicos, é capaz de regular o seu ambiente interno

e manter a condição interna do organismo. A quebra desse processo de homeostase é conhecida como estresse, induzindo respostas diversas no animal (Baldisserotto et al., 2014).

No caso dos bioflocos, as análises comportamentais têm um fator limitante, que é a alta turbidez da água, o que torna a observação em relação ao comportamento dos peixes bastante limitada. Desta forma, as análises hematológicas e da bioquímica plasmática auxiliam no diagnóstico de saúde do plantel. De acordo com Tavares-Dias e Moraes (2004), o sangue de peixes teleosteos é formado por eritrócitos, leucócitos e trombócitos. Os eritrócitos são nucleados e elípticos; os leucócitos, se dividem em linfócitos, monócitos, neutrófilos, heterófilos, eosinófilos e basófilos; e os trombócitos são células de defesa orgânica, com formato elíptico e alta relação núcleo:citoplasma (Ranzani-Paiva et al., 2013) (Figura 3).

Com o sistema imune alterado, há alterações de células sanguíneas; por isso, as análises dos parâmetros sanguíneos são relevantes para este estudo. Tavares-Dias e Moraes (2004) detalham diversos estudos na avaliação do estresse utilizando as características bioquímicas, metabólicas e hematológicas como ferramentas para detectar variações produzidas por agentes estressores em peixes, dentre os quais podem ser citados o hematócrito, a concentração de hemoglobina e o percentual de linfócitos presentes.

Figura 3 – Células sanguíneas de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Eritrócitos (E), linfócitos (L), monócitos (M), neutrófilos (N) e trombócitos (T). Coloração: May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW). Objetiva: 100x. Foto: Joana D'Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).



Os animais apresentam respostas primárias, secundárias e terciárias no organismo que agem em diferentes níveis, podendo ser a curto, médio ou em longo prazo. Quando o animal é submetido a um nível de estresse, os hormônios são liberados na corrente sanguínea para atender a demanda de nova condição biológica. Nas respostas primárias há liberação dos hormônios catecolaminas e cortisol. As catecolaminas regulam a função cardíaca e respiratória, incluindo aumento do fluxo sanguíneo branquial, permeabilidade branquial e recrutamento lamelar (Wendelaar Bonga, 2011). Esse recrutamento lamelar é um ajuste das lamelas secundárias que são ativamente perfundidas com sangue (Hill, Wyse e Anderson, 2012).

As respostas secundárias ocorrem após a liberação dos hormônios, que são as respostas do metabolismo energético (glicose, lactato, ácidos graxos, entre outros). Estas respostas buscam atender a demanda de oxigênio dos tecidos (aumento da frequência cardíaca e respiratória, aumento do número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina). A glicose é a fonte principal de energia; por isso, nesta condição há aumento da glicose circulante no organismo. Devido ao amplo espectro de atividade em peixes, o cortisol é um indicador de estresse do animal (resposta primária), pois atua no processo de manutenção de níveis elevados de glicose e recuperação de glicogênio hepático (resposta secundária). Nas respostas terciárias há exaustão dos sistemas biológicos que podem gerar alterações celulares e teciduais, comprometendo o sistema imune do animal, resultando no comprometimento dos mecanismos de defesa, afetando a saúde, o bem-estar e a sobrevivência (Baldisserotto et al., 2014; Wendelaar Bonga, 2011).

Em peixes, o cortisol desempenha funções na regulação osmótica e iônica por intermédio dos mineralocorticoides e no metabolismo energético por meio da glicogenólise e gliconeogênese (Wendelaar Bonga, 2011). Assim, a importância da avaliação da glicose sérica é retratada como um importante indicador de estresse em peixes (Silva, 2012), uma vez que está ligada à produção de cortisol e é também precursora de ácidos graxos de cadeia longa que compõem os triglicerídeos.

As alterações na produção e na circulação de hormônios são sinais de que há alteração na homeostase, e a avaliação da circulação de lipídeos na corrente sanguínea é importante devido ao seu papel nas várias funções orgânicas, inclusive na síntese destes hormônios. Além disso, os lipídeos fazem parte dos componentes de membranas celulares, que participam da estrutura de células e organelas, bem

como propiciam energia para sobrevivência do animal em longos períodos de jejum (Thrall, 2007).

Os triglicerídeos e o colesterol são lipídeos constantes na corrente sanguínea dos animais. Os triglicerídeos são sintetizados pelo fígado, intestino delgado, tecido adiposo e glândula mamária (Thrall, 2007). O colesterol é um lipídio que participa da produção de hormônios esteroides, que são de grande importância na fisiologia animal. Godoy et al. (2008) afirmam que pode-se avaliar a resposta animal a um determinado alimento utilizando-se a avaliação sérica de alguns compostos como o colesterol, os triglicerídeos, a ureia, a proteína total, entre outros.

O catabolismo proteico vai produzir a ureia como principal composto; sendo assim, ocorre o aumento do nível de ureia sérica, podendo ser reflexo do aumento da proteína na dieta (Godoy et al. 2008). Melo (2008), avaliando a variação da resposta secundária ao estresse causado por hipóxia em sistema recirculação para tilápias, encontraram níveis de proteína total aumentados em machos e reduzidos em fêmeas.

A alanina amino transferase (ALT) e a aspartato amino transferase (AST) são enzimas hepáticas cujos níveis elevados são indicativos de lesão hepática. A AST e a ALT também são produzidas no tecido muscular e seu aumento pode indicar uma lesão muscular, que pode variar nas espécies animais diferentes. Em peixes teleosteos pode-se observar alta atividade de ALT e AST, que podem se elevar com doenças hepatocelulares graves em algumas espécies (Thrall, 2007).

As brânquias são órgãos multifuncionais e, segundo Baldisserotto et al. (2014), possuem alta capacidade de adaptação ao meio em que estão, porque estão intimamente ligadas ao meio em que o peixe se encontra. As adaptações ao novo estado de equilíbrio buscam a manutenção das funções branquiais.

As brânquias possuem uma haste interna de colágeno com função de suporte, vasos sanguíneos, processos neurais e um tecido epitelial externo (Evans et al., 2005). As brânquias são órgãos de vital importância aos peixes, pois funcionam como filtro, sendo utilizadas para função de respiração, osmorregulação, equilíbrio ácido-base e excreção. Em algumas espécies filtradoras, os rastros branquiais são utilizados para filtrar alimentos (Garcia- Santos et al., 2007).

Este órgão possui uma superfície de contato muito ampla com a água e, desta forma, é vulnerável às alterações do meio aquático, como por exemplo,

presença de tóxicos, excesso de sólidos presentes, alterações de parâmetros de qualidade da água, entre outros.

Dentro destas perspectivas, a tese está dividida em dois capítulos:

Capítulo 1: Fontes de carbono para manutenção da qualidade de água, parâmetros zootécnicos, composição e morfologia dos flocos na produção de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos. Neste capítulo, são apresentadas as variáveis de qualidade de água, como os parâmetros químicos (pH, temperatura, oxigênio, alcalinidade), físicos (salinidade e sólidos sedimentáveis) e compostos nitrogenados (amônia tóxica, amônia total, nitrito e nitrato) que mantêm o sistema do BFT em equilíbrio, bem como a avaliação dos parâmetros de desempenho zootécnico, composição e morfologia do bioflocos para produção de juvenis de tilápias do Nilo em BFT usando diferentes fontes de carbono (açúcar, bagaço de cana, milho, milho desintegrado com polpa e sabugo e polpa cítrica).

Capítulo 2: Fontes de carbono simples e complexas na criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos: respostas sobre a bioquímica plasmática, hemograma e morfometria de brânquias. Neste capítulo foram aferidos os parâmetros sanguíneos (hemograma e bioquímicos plasmáticos), assim como a influência do uso de diferentes fontes carbonáceas no sistema sobre a integridade das brânquias das tilápias.

REFERÊNCIAS

Alvarenga, E.R. (2008). **Efeitos de diferentes temperaturas sobre as células germinativas e somáticas do testículo de tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas.** [Dissertação]. Belo Horizonte, UFMG. 113f.

Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Costa, G.R., Silva, M.A., Teixeira, E.A., Turra, E.M. (2018). Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. **Aquaculture Research**, 49, 2919-2926. <https://doi.org/10.1111/are.13728>

Alves, G.F.O. (2013). **Produção de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema com bioflocos: efeito do momento de transferência dos alevinos para o sistema.** [Dissertação]. Belo Horizonte: UFMG, 57f.

Avnimelech, Y. (2009). Biofloc technology - A practical guide book. 1st. ed. Louisiana, United States. **World Aquaculture Society**. 182p.

Azim, M.E; Little, D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>

Baldisserotto, B.; Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C. (2014). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce.** Jaboticabal: Ed. FUNEP, 336p.

Ballester, E.L.C. Wasielesky, W., Cavalli, R.O., Abreu, P.C. (2007). Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. **Aquaculture**, 269(1-4), 355–362. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04.003>

Brune, D.E.; Schwartz, G.; Eversole, A.G.; Collier, J.A.; Schwedler, T.E. (2003). Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems.

Aquacultural Engineering, 28(1-2), 65-86. [https://doi:10.1016/S0144-8609\(03\)00025-6](https://doi:10.1016/S0144-8609(03)00025-6)

Chu, C.P.; Lee, D.J. (2004). Multiscale structures of biological flocs. **Chemical Engineering Science**, 59(8-9), 1875-1883. <https://doi:10.1016/j.ces.2004.01.040>

De Schryver, P.; Crab, R.; Defoirdt, T.; Boon, N.; Verstraete, W. (2008). The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277(3-4), 125-137. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>.

Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257, 346-358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

Ekasari, J., Rivandi, D.R., Firdausi, A.P., Surawidjaja, E.H., Zairin, M., Bossier, P., De Schryver, P. (2015). Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. **Aquaculture**, 441, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>

Emerenciano, M.; Ballester, E. L.; Cavalli, R. O.; Wasielesky, W. (2011). Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. **Aquaculture**, 19, 891-901. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-010-9408-6>.

Emerenciano, M.; Gaxiola, G.; Cuzo, G. (2013). Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. **Biomass Now - Cultivation and Utilization**, in: Intech. p. 302–328.

Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. **Physiological Reviews**, 85, 97-177, <https://doi:10.1152/physrev.00050.2003>

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019a). **Após três anos a fome mundial ainda não diminuiu e a obesidade continua crescendo - informa a ONU**. Nova York. Comun. Imprensa conjunto.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019b). “Triple burden of malnutrition” slows down progress towards zero hunger in Europe and central Asia | The state of food and agriculture: migration, agriculture and rural development. In: FAO's Conference, 41, Rome, **Procedures...**, 2019b

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). **The impact of COVID-19 on fisheries and aquaculture food systems, possible responses: Information paper**. Rome. p. 1-38. <https://doi.org/10.4060/cb2537en>

Fessehaye, Y. (2006). **Natural mating in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Implications for reproductive success, inbreeding and cannibalism**. [Tese de doutorado]. Holanda. Wageningen University, 152f.

Gandini, F. A.; Nascimento, J. R. de O.; Medeiros, C. S.; Oshiro, L. M. Y.; Sant'ana, N. de F. (2016). Avaliação de diferentes fontes de carboidratos para o sistema de bioflocos e crescimento do camarão branco. **Boletim do Instituto de Pesca**, 42(4), 831-843.

Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Fontainhas-Fernandes, A. (2007). Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 59(2), 376-381.

Godoy, H.B.R.; Landell Filho, L.C.; Bianchini Sobrinho, E.; Godoy, M.M. (2008). O uso da silagem de subprodutos da filetagem de peixe na alimentação de suínos em crescimento – parâmetros séricos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, 45(6), 429-436.

GNR - Global Nutrition Report (2018). **Shining a light to spur action on nutrition**. Bristol, UK: Development Initiatives. In: Chapter 2: The Burden of Malnutrition, 26-49.

Hill, R.W., Wyse, G.A., Anderson, M. (2012). **Fisiologia Animal**. Artmed; 2º edição. 920p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2015). Cidades@ - Informações Estatísticas - Pecuária. <https://doi.org/10.1002/mana.19881360105>

Jorand, F.; Zartarian, F.; Thomas, F.; Block, J. C.; Bottero, J. Y.; Villemin, G.; Urbain, V.; Manem, J. (1995). Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated-sludge flocs. **Water Research**, 29, 1639-1647. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00350-G](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00350-G)

Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Assumpção, A.F., Cardoso, A.C., De Sales, S.C.M., Teixeira, E.A., Silva, M.A.E., Turra, E.M., (2020). Effects of a zero exchange biofloc system on the growth performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. **Aquaculture**, 521, 735064. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735064>

Melo, D.C. (2008). **Indicadores hematológicos e imunológicos após estresse crônico por hipóxia em tilápia (*Oreochromis niloticus*), linhagem chitralada**. [Tese]. UFMG. 38f.

Minaz, M., Kubilay, A. (2021). Operating parameters affecting biofloc technology: carbon source, carbon/nitrogen ratio, feeding regime, stocking density, salinity, aeration, and microbial community manipulation. **Aquaculture International**, 29,1121-1140.

Nelson, J.S.; Grande, T.C.; Wilson, M.V.H. (2016). **Fishes of the World**. Fifth Edition. Hoboken, New Jersey : John Wiley e Sons. 752p.

PEIXE BR – Associação Brasileira da Piscicultura. (2019). **Anuário Brasileiro da Piscicultura**, São Paulo, 148p.

Pérez-Fuentes, J. A. Pérez-Fuentes, J. A.; Hernández-Vergara, M. P.; Pérez-Rostro, C. I.; Fogel, I. (2016). C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia

Oreochromis niloticus raised in a biofloc system under high density cultivation. **Aquaculture**, 452, 247-251. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>

Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I. (2013). **Métodos para análise hematológica em peixes**. 1 ed. Maringá: UEM, 135p.

Rittmann, B.E., Mccarty, P.L. (2001). **Environmental biotechnology - principles and applications**, McGraw Hill International Edition, Singapore 754 pp.

Rocha, A.F.; Abreu, P.C.; Wasielesky, W.; Tesser, M.B. (2012). Avaliação da formação de bioflocos na criação de juvenis de Tainha Mugil Cf. *Hospes* sem renovação de água. **Atlântica**, 34(1), 63-74. <http://doi:10.5088/atl.2012.34.1.63>

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. (2016). **Criação de tilápias em viveiros escavados - Guia técnico para empreender na criação de tilápias em viveiros**. Brasília: SEBRAE, 90p.

Silva, R.D., Rocha, L.O., Fortes, B.D.A., Vieira, D., Fioravanti, M.C.S., (2012). **Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar**. Pesquisa Veterinária Brasileira, 32(Supl.1), 99-107.

Silva, M.A. (2016). **Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos em duas fases de crescimento**. [Dissertação]. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 84f.

Silva, U.L. Falcon, D.R.; Pessôa, M.N.C.; Correia, E.S. (2017). Carbon sources and C:N ratios on water quality for nile tilapia farming in biofloc system. **Revista Caatinga**, 30(4), 1017-1027. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252017v30n423rc>

Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. (2004). **Hematologia de peixes teleósteos**. Embrapa Amapá. Ribeirão Preto: Villimpress Complexo Gráfico. 144p.

Toni, M.; Manciocco, A.; Angiulli, E.; Alleva, E.; Cioni, C.; Malavasi, S. (2018). Review: Assessing fish welfare in research and aquaculture, with a focus on European directives. *Animal*, page 1 of 10 © **The Animal Consortium**. <http://doi:10.1017/S1751731118000940>

Thrall, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed., Ed Roca, 2007, 582p.

Vilani, F.G.; Schveitzer, R; Arantes, R.F.; Vieira, F.N.; Santo, C.M.E.; Seiffert, W.Q. (2016). Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. **Aquacultural Engineering**, Oxford, 74, 70-75.

Wei, Y.F.; Liao, S.A.; Wang, A. (2016). The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture**, 465, 88-93, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>

Wendelaar-Bonga, S.E. (2011). **Hormonal responses to stress**. In: Farrel, A.P. (Ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*. Academic Press, San Diego, 1515-1523p.

CAPITULO 1

FONTES DE CARBONO PARA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA, PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS, COMPOSIÇÃO E MORFOLOGIA DOS FLOCOS NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) MANTIDAS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

O presente artigo científico intitulado “FONTES DE CARBONO PARA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA, PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS, COMPOSIÇÃO E MORFOLOGIA DOS FLOCOS NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) MANTIDAS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS” será **SUBMETIDO** no periódico Aquaculture - ISSN: 0044-8486, Fator de Impacto: 4.242

HIGHLIGHTS

- As diferentes fontes de carboidratos testadas mantiveram a qualidade da água.
- Carboidratos simples e complexos podem ser empregados como fonte de carbono em BFT.
- Diferentes fontes de carbono no BFT não interferem no crescimento de juvenis de tilápias do Nilo.
- As fontes de carbono utilizadas no BFT não alteraram a composição dos bioflocos.
- Flocos menores foram obtidos utilizando a fonte de carbono MDPS.

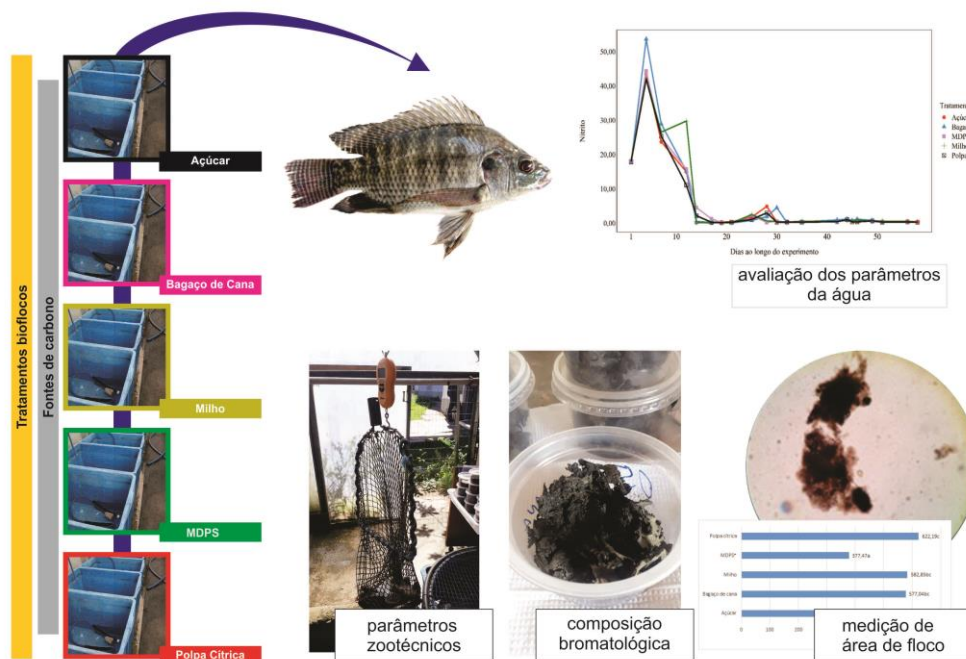


Figura 1 - Resumo gráfico a ser incluído no artigo atendendo as normas de submissão da revista.

RESUMO

O presente estudo avaliou diferentes fontes de carbono na tecnologia de bioflocos para produção de tilápias. As fontes avaliadas foram bagaço de cana (BC), milho (MI), milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS) e polpa cítrica (PC) em contraste com o açúcar (AC - controle). Em uma estufa agrícola foram utilizados 20 tanques retangulares de 160 L de volume útil, onde foram colocadas 20 tilápias juvenis em cada, sendo cinco tratamentos e quatro repetições em um delineamento inteiramente casualizado, pelo período de 56 dias. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis oxigênio dissolvido, pH, salinidade e amônia total (N-AT) durante o período experimental. O N-AT foi corrigido com as respectivas fontes estudadas, na proporção de 6:1 (carbono:nitrogênio - C:N), sempre que o N-AT ultrapassava 1 mg.L^{-1} . As fontes de carbono não interferiram no desempenho dos peixes e nem na composição centesimal dos bioflocos e dos filés. A área dos flocos menores que $1.000 \mu\text{m}^2$ diferiu entre os tratamentos. O MDPS apresentou a menor média e diferiu da PC que apresentou maior área de floco na faixa menor que $1.000 \mu\text{m}^2$. Entretanto, as diferenças encontradas neste estudo não impactaram no desenvolvimento dos peixes e nem no sistema como um todo. Desta forma, as fontes avaliadas podem ser utilizadas no sistema de bioflocos.

Palavras-chave: Amônia. Fonte de carbono. Composição de bioflocos. Desempenho de tilápia. Morfometria de flocos.

ABSTRACT

The present study evaluated different carbon sources in biofloc technology for tilapia production. The sources evaluated were sugarcane bagasse (BC), corn (MI), corn disintegrated with straw and cob (MDPS) and citrus pulp (PC) in contrast to sugar (AC - control). In an agricultural greenhouse, were used 20 rectangular tanks of 160 L of useful volume, where 20 juvenile tilapia were placed, with five treatments and four replications in a completely randomized design, during 56 days. In this period, significant differences ($p < 0.05$) were found between treatments to the variables: dissolved oxygen, pH, salinity and total ammonia (N-TA). The N-TA was corrected with the respective sources studied, in the proportion of 6:1 (carbon:nitrogen - C:N), whenever the N-TA exceeded 1 mg.L^{-1} . Carbon sources did not interfere in fish performance and in the proximate composition of bioflocs and fillets. The area of flocs smaller than $1,000 \mu\text{m}^2$ differed between treatments. MDPS had the lowest mean and differed from PC which had the greatest floc area in the range smaller than $1,000 \mu\text{m}^2$. However, the differences found in this study did not impact the fish's development or the system as a whole. Thus, the evaluated sources can be used in the biofloc system.

Keywords: Ammonia. Carbon source. Biofloc composition. Tilapia development. Flocs morphometry.

1. INTRODUÇÃO

O sistema de bioflocos (BFT) é uma tecnologia de criação de organismos aquáticos que reduz o impacto ambiental devido à baixa utilização de água, diminuição dos efluentes (Kim et al., 2018) e aumento da densidade de criação se comparado aos sistemas convencionais (Avnimelech, 2007; Vasava et al., 2020). O BFT utiliza-se da relação carbono:nitrogênio (C:N) para estimular o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que assimilam a amônia (NH_3) e a convertem em biomassa microbiana (Avnimelech, 1999; De Schryver et al., 2008; Luo et al., 2020b; Souza et al., 2019). Desta forma, essa relação desempenha importante papel para a mobilização de compostos nitrogenados inorgânicos tóxicos que são utilizados pelas bactérias que por sua vez se constituirão em fonte direta de alimento para os organismos cultivados, o que favorece o desenvolvimento do sistema imunológico dos peixes (Avnimelech, 1999; Crab et al., 2012, 2009; Kamilya et al., 2017; Panigrahi et al., 2018) e melhora a produtividade natural em sistemas de aquicultura, a ciclagem dos nutrientes e a manutenção de qualidade da água (Faizullah et al., 2019; McIntosh et al., 2000; Moriarty, 1997).

Os requerimentos nutricionais de proteínas para peixes são duas a três vezes maiores que para os mamíferos, e a amônia é o produto da biodegradação das proteínas excretado pelos peixes durante toda a sua fase de criação, podendo se acumular na água (Avnimelech, 2009) caso não haja bactérias suficientes para transformá-la em nitrito e nitrato. Inúmeros processos microbianos ocorrem em sistemas aquícolas, dentre eles a nitrificação, a fotossíntese, a denitrificação, a mineralização e o crescimento de bactérias heterotróficas, processos estes que favorecem a remoção e/ou assimilação do nitrogênio (Brune et al., 2003). Desta forma, a remoção de compostos nitrogenados irá variar com o sistema de criação e com a intensidade de produção aquícola.

O nível de amônia (NH_3) é o segundo fator limitante para o desenvolvimento dos peixes, sendo superado apenas pelo oxigênio dissolvido (Ebeling et al., 2006). A NH_3 é um composto altamente solúvel na água, assim como o nitrito, e pode ser encontrada na forma ionizada (NH_4^+) e não-ionizada (NH_3). A soma destas duas formas é definida como amônia total (N-AT) (Avnimelech, 1999). A concentração relativa de cada uma destas duas formas é influenciada pelo pH, temperatura e salinidade do sistema (Anthonisen et al., 1976; Ebeling et al., 2006).

A produção de altos níveis de amônia e seu acúmulo são controlados pela manipulação na proporção de carbono e nitrogênio, o que favorece o crescimento das bactérias heterotróficas (Avnimelech, 1999; Boyd e Tucker, 1998; Ebeling et al., 2006; Luo et al., 2020a; Mcintosh, 1999). Desta forma, a adição de carboidratos contribui para reduzir a NH_3 e o nitrito (NO_2) no sistema BFT, aumentando a comunidade microbiana heterotrófica (Rajkumar, 2015). Conseqüentemente, o nitrogênio amoniacal é assimilado pelas bactérias heterotróficas contribuindo para a formação da biomassa microbiana (proteína microbiana). No caso de tilápias e camarões marinhos, a biomassa bacteriana que é produzida atua como uma fonte importante de proteína alimentar, reduzindo os custos de produção (Bossier e Ekasari, 2017; Ekasari et al., 2010; Mcintosh, 1999).

Pesquisas têm sido realizadas com sistemas de produção aquícola com baixa reposição de água ou até mesmo troca zero (Jamal et al., 2020; Manduca et al., 2020; Najdegerami et al., 2016) e, com isso, utilizam-se de fontes de carbono orgânico nos sistemas para incrementar o metabolismo microbiano (Avnimelech, 1999; Mcintosh, 1999). O uso de diferentes fontes de carbono, sejam elas simples ou complexas, na fertilização e correção dos níveis de amônia no sistema de BFT, pode influenciar diretamente na composição nutricional, na morfoestrutura e na comunidade microbiana do BFT (Wei et al., 2016).

A partir desse cenário, vê-se a necessidade de avaliar o comportamento dos parâmetros de qualidade da água, os níveis dos compostos nitrogenados, os parâmetros de crescimento, a composição nutricional dos bioflocos e dos filés, e o tamanho dos flocos de acordo com a fonte de carbono utilizada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Aquacultura (Laqua) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, de acordo com as normas nacionais para experimentação animal (CONCEA), sendo aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da UFMG (Protocolo 149/2019).

2.2. Condições experimentais e formação inicial do floco

Foram utilizados 20 tanques retangulares de 200L, com 160L de volume útil, em um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram as diferentes fontes de carbono adicionadas ao BFT, sendo classificadas entre fontes de carbono simples (açúcar – AC, milho - MI) e complexas (bagaço de cana - BC, milho desintegrado com palha e sabugo - MDPS e polpa cítrica - PC). Estes compostos foram moídos em moinho de faca com peneira de 1 mm. Os tratamentos foram adicionados, em dose única, ao respectivo tanque (unidade experimental) na proporção de 6:1 (C:N) (Ebeling et al., 2006), sempre que o nível de N-AT ultrapassava 1 mg.L^{-1} , considerando que todas as fontes apresentam um valor aproximado de 50% de carbono em sua composição (Avnimelech, 2009).

A formação dos flocos nos tanques experimentais foi realizada antes da colocação dos peixes, usando como inóculo 30% de bioflocos já maduro e disponível no Laqua para o volume de cada tanque e 70% de água clara. Após a montagem dos tanques, foram alocadas 400 juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) masculinizadas. A densidade de estocagem foi de 20 indivíduos por unidade experimental e peso médio inicial de $45,4 \pm 3,66 \text{ g}$. Os peixes foram mantidos por sete dias antes do início do período experimental para adaptação ao sistema. A duração do estudo a campo foi de 56 dias. Foi realizada reposição mínima de água, devido à perda por evaporação, para manutenção do volume inicial ao longo do período experimental.

Os tanques com os peixes foram mantidos no interior de uma estufa agrícola, com sistema de aeração constante, iluminação natural e alimentação *ad libitum* três vezes ao dia, com ração comercial extrusada, com partículas de 3 a 4 mm, níveis de garantia de 36% de proteína bruta e 3800 kcal/kg. Após vinte minutos de fornecimento da ração, as sobras foram coletadas em peneira, secas em estufa a 55°C até o peso constante e pesadas para determinação do consumo de ração.

A composição bromatológica, matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das fontes de carbono avaliadas constam da tabela 1.

Tabela 1 - Composição bromatológica, em porcentagem, das fontes de carbono avaliadas em sistema de bioflocos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

	Bagaço de cana	Milho	MDPS	Polpa cítrica
MM	1,62	0,94	1,29	6,14
PB	0,79	7,60	7,96	6,33
EE	0,60	2,30	1,55	2,93
FDN	86,39	47,92	30,51	30,10
FDA	55,16	13,15	2,64	19,04

Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

2.3. Parâmetros de qualidade de água e compostos nitrogenados

As variáveis de qualidade da água foram mensuradas diariamente às 9hs e às 15hs. O potencial hidrogeniônico (pH), a salinidade (SAL, g.L⁻¹) e a temperatura (T, °C) foram monitorados utilizando-se sonda multiparâmetro (Hanna®). O oxigênio dissolvido (OD, mg.L⁻¹) foi aferido com oxímetro (Handy Polaris®). Foi adicionado sal comum aos tanques em pequenas quantidades com o objetivo de alcançar uma salinidade aproximada de 2 g.L⁻¹.

A alcalinidade (ALC, mg.L⁻¹ de CaCO₃) foi aferida semanalmente (APHA, 1998). Quando a alcalinidade estava baixa era adicionado calcário dolomítico em pequenas porções (50 g) nos tanques para correção. Os sólidos sedimentáveis (SS, ml.L⁻¹) foram medidos duas vezes por semana utilizando um cone Imhoff de 1000 mL (Avnimelech, 2009).

As concentrações de amônia total (N-AT) (mg.L⁻¹, N-(NH₄ + NH₃)) (Bendschneider e Robinson, 1952) e de nitrito (mg.L⁻¹, N-NO₂) (UNESCO, 1983) foram avaliadas três vezes por semana. A correção foi realizada de acordo com as concentrações de N-AT de cada tanque, com o respectivo tratamento, na proporção de 6:1 (C:N) de acordo com metodologia de Ebeling (2006). A concentração de nitrato (NO₃⁻) foi aferida no início do experimento e aos 40 dias (Monteiro et al., 2003). O nível de amônia tóxica foi calculada de acordo com a tabela de amônia tóxica, levando-se em consideração a N-AT, temperatura e pH de cada tanque.

2.4. Parâmetros zootécnicos

Para a realização do experimento os lotes dos peixes foram padronizados pela biomassa ao início do período experimental, mantendo-se as condições de

igualdade dos tratamentos. Foram avaliados os parâmetros de desempenho dos peixes antes, durante e ao final do estudo (Tabela 2).

Tabela 2 - Relação dos índices observados e fórmulas empregadas para avaliação do desempenho zootécnico dos juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.

Índices	Fórmulas
Biomassa (BM, Kg)	Σ do peso dos peixes de cada tanque (inicial e final)
Peso médio (PM, Kg)	$PM = BM/n$ (inicial e final)
Densidade (D, Kg/m³)	$D = BM/vol$ tanque (inicial e final)
Taxa de sobrevivência (TS, %)	$TS = (n \text{ final}/n \text{ inicial}) \times 100$
Ganho de peso biomassa (GPB, Kg)	$GPB = BM \text{ final} - BM \text{ inicial}$
Ganho de peso diário individual (GPDI, g)	$GPDI = (GPB/n) / \text{período experimental}$
Fator de conversão alimentar (FCA)	$FCA = \text{alimento fornecido (g)} / GP \text{ (g)}$
Índice de eficiência produtiva (IEP)	$IEP = ((GPD \times TS)/FCA) \times 100$
Índice viscerossomático (IVS, %)	$IVS = P_{\text{visc}}/PF \times 100$
Índice hepatossomático (IHS, %)	$IHS = P_{\text{fig}}/PF \times 100$
Rendimento de carcaça (RC, %)	$RC = (PF - P_{\text{visc}})/PF \times 100$

n = número de peixes por tanque; d = dias; P_{visc} = peso das vísceras; P_{fig} = peso do fígado; PF = peso final.

2.5. Composição bromatológica dos flocos microbianos e dos filés

Ao término do experimento foi coletada parte do sedimento dos bioflocos de cada unidade experimental que foi levada à estufa a 55°C até a completa secagem da amostra. A mesma foi armazenada em potes plásticos e, posteriormente, foi moída em moinho de bola.

Ao final do período experimental, foram coletados dois peixes por tanque, sendo 8 por tratamento para análise bromatológica da carne (filé). Os peixes foram eutanasiados em Eugenol (300 mg.L⁻¹), embalados e congelados para posterior processamento e análises. Foram retirados os filés, pesados e levados à estufa a 65°C para secagem até a redução da umidade e posterior pesagem e moagem em moinho de bola.

As análises bromatológicas do filé e dos bioflocos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Para o filé e para os bioflocos foram feitas as análises de proteína bruta (PB) que foi quantificada pelo método Kjeldahl e multiplicado por 6,25. Para extrato etéreo (EE) foi realizada a extração com éter de petróleo no Ankom

XT15 (EEA) para o filé e pelo método de Goldfish para os bioflocos. As cinzas (MM) foram obtidas através da queima das amostras em mufla a 600°C durante 4h, que em seguida foram pesadas (AOAC, 2005). Para os bioflocos foram realizadas, ainda, as análises sequenciais de FDN e FDA e quantificação de fósforo pelo método colorimétrico (AOAC, 2005).

2.6. Morfometria dos flocos

A morfologia e estrutura do floco microbiano foi observada em microscópio de luz. O tamanho dos flocos foi determinado coletando-se, ao final do período experimental, uma amostra de 30 mL do material em suspensão de cada tanque, que foi preservada em 30 mL de formol tamponado a 4% (concentração final 2%). Foram colocadas três gotas desta amostra em lâmina histológica coberta com lamínula, seguida de observação em microscópio de luz (aumento 20x), onde foram fotografados 10 campos distintos e aleatórios. As fotos foram processadas no programa ImageJ versão 1.48 (*National Institutes of Health, USA*), mensurando-se, aproximadamente, as áreas de 50 flocos utilizando a ferramenta “wand” que delimita uma área com mesma cor (Figura 2).

As áreas dos flocos foram agrupadas em 5 classes: classe 1 ($\leq 1.000 \mu\text{m}^2$), classe 2 (1.001 a $5.000 \mu\text{m}^2$), classe 3 (5.001 a $10.000 \mu\text{m}^2$), classe 4 (10.001 a $20.001 \mu\text{m}^2$), classe 5 ($>20.000 \mu\text{m}^2$).

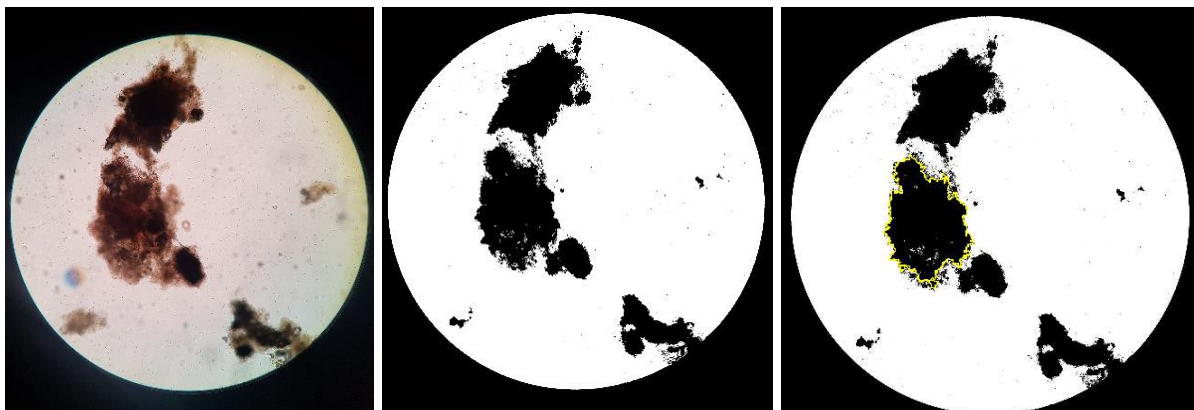


Figura 2 - Morfometria do floco no microscópio de luz. (A) Partícula de bioflocos na cor natural, (B) Foto tratada para medição de área, (C) Área selecionada em amarelo para medição no programa ImageJ. Sem coloração. Objetiva: 20x. Foto: Joana D’Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).

2.7. Análises estatísticas

Os dados e seus resíduos foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Para os dados que estiveram dentro do padrão de normalidade foi utilizada ANOVA seguida do teste adequado para a variável. Não se observando normalidade, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os testes foram realizados ao nível de 5% de significância.

Para execução dos testes estatísticos e construção dos gráficos foram utilizados os programas Infostat (Di Rienzo et al., 2015) e R para Windows (R Core Team, 2020).

3. RESULTADOS

3.1. Fontes de carbono

A figura 3 apresenta o valor total de fontes de carbono adicionadas nos respectivos tanques de acordo com o nível de N-AT aferida nas análises semanais. Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram constatadas entre as medianas das quantidades diárias de fontes de carbono inseridas no sistema, sendo que os tratamentos com AC e MDPS diferiram estatisticamente do BC. Não foram encontradas diferenças ($p > 0,05$) entre os valores de AC com os valores para MI e PC.

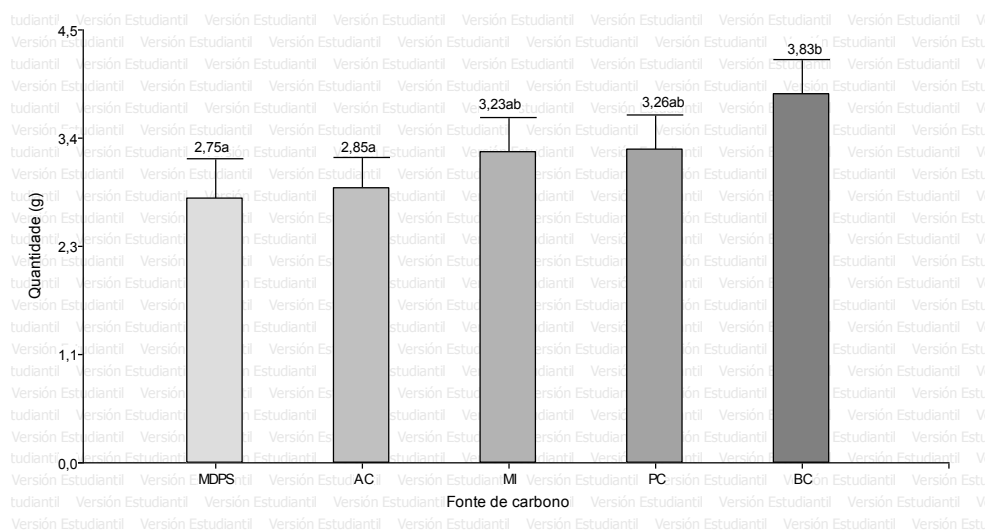


Figura 3 - Medianas das fontes de carbono utilizadas na criação de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema BFT. Letras diferentes na mesma linha diferem de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). CV = 13,70 e valor de p 0,0488.

3.2. Parâmetros físico-químicos da água

Os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se dentro dos padrões recomendados para a produção de tilápias em BFT. Não foram observadas diferenças ($p>0,05$) para as variáveis temperatura e alcalinidade. Para as variáveis oxigênio dissolvido, pH e salinidade foram observadas diferenças ($p<0,05$) durante o período experimental (Tabela 3). O comportamento dos sólidos sedimentáveis estão apresentados na figura 4, não apresentando diferenças entre as fontes estudadas ($p>0,05$). As flutuações de pH e alcalinidade estão apresentadas na figura 5.

Tabela 3 - Medianas dos parâmetros de qualidade de água em bioflocos, utilizando diferentes fontes de carbono orgânico, para criação de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Variáveis	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	P
T	26,60±1,14	26,55±1,14	26,50±1,14	26,60±1,17	26,50±1,13	4,30	0,9136
OD	4,50±1,06 ^a	5,48±1,05 ^d	5,01±0,76 ^b	5,26±1,05 ^c	5,28±0,95 ^c	19,86	<0,0001
pH	5,9±0,68 ^b	5,8±0,74 ^a	5,8±0,68 ^a	5,9±0,70 ^b	5,8±0,68 ^a	11,48	0,0006
SAL	2,30±0,29 ^a	2,40±0,34 ^{bc}	2,40±0,34 ^{bc}	2,31±0,33 ^{ab}	2,43±0,34 ^c	13,82	0,0002
ALC _{inicial}	13,75±4,27	15,0±3,75	11,25±4,73	18,75±9,24	15,0±3,15	36,02	0,7596
ALC	20,00±46,22	20,00±38,04	18,75±17,48	21,25±42,78	20,00±33,17	109,38	0,4472

Medianas com letras diferentes na mesma linha diferem de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p<0,05$). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC). Temperatura (T), oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogeniônico (pH), salinidade (SAL), alcalinidade (ALC).

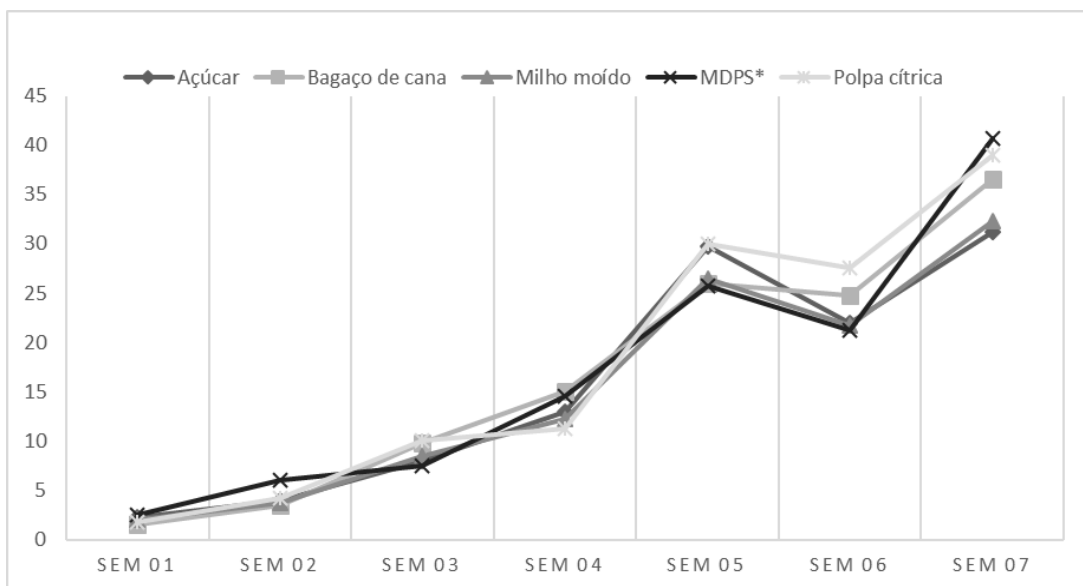


Figura 4 - Padrão de acúmulo semanal de sólidos sedimentáveis em sistema de bioflocos, utilizando diferentes fontes de carbono orgânico, para criação de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

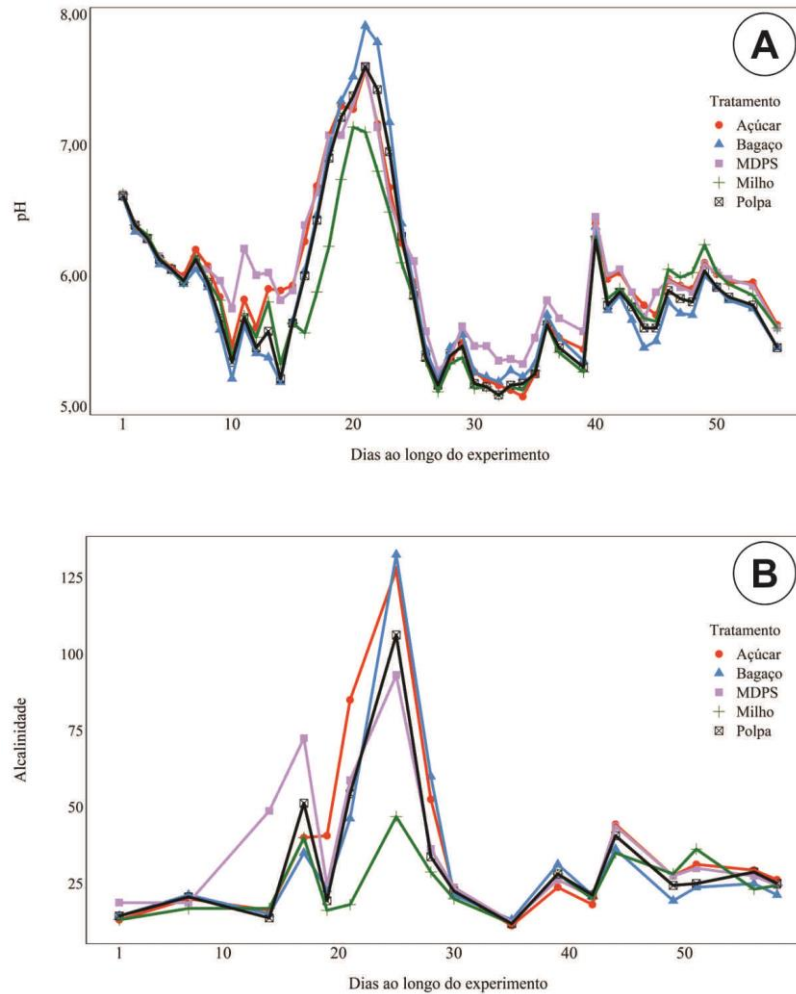


Figura 5 - Valores médios de pH (A) e alcalinidade (B) e suas flutuações durante o período experimental para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com utilização de fontes de carbono alternativas.

3.3. Compostos nitrogenados na água

O comportamento dos compostos nitrogenados se encontra na figura 6 e na tabela 4. Amônia tóxica, N-AT inicial, N-nitrito e N-nitrato não resultaram em diferenças significativas ($p > 0,05$). A concentração de N-AT no início do estudo foi próxima de zero, como forma de padronização experimental. Mas, conforme esperado, ao longo do período experimental houve picos de amônia e nitrito. Foram encontradas diferenças ($p < 0,05$) para as médias de N-AT entre as fontes AC e MDPS e o BC no decorrer do experimento.

O nitrato inicial e aos 40 dias se manteve dentro dos padrões aceitáveis para a espécie em estudo. O mesmo ocorreu com os sólidos sedimentáveis, que não ultrapassaram o valor crítico recomendado para o sistema, não apresentando diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

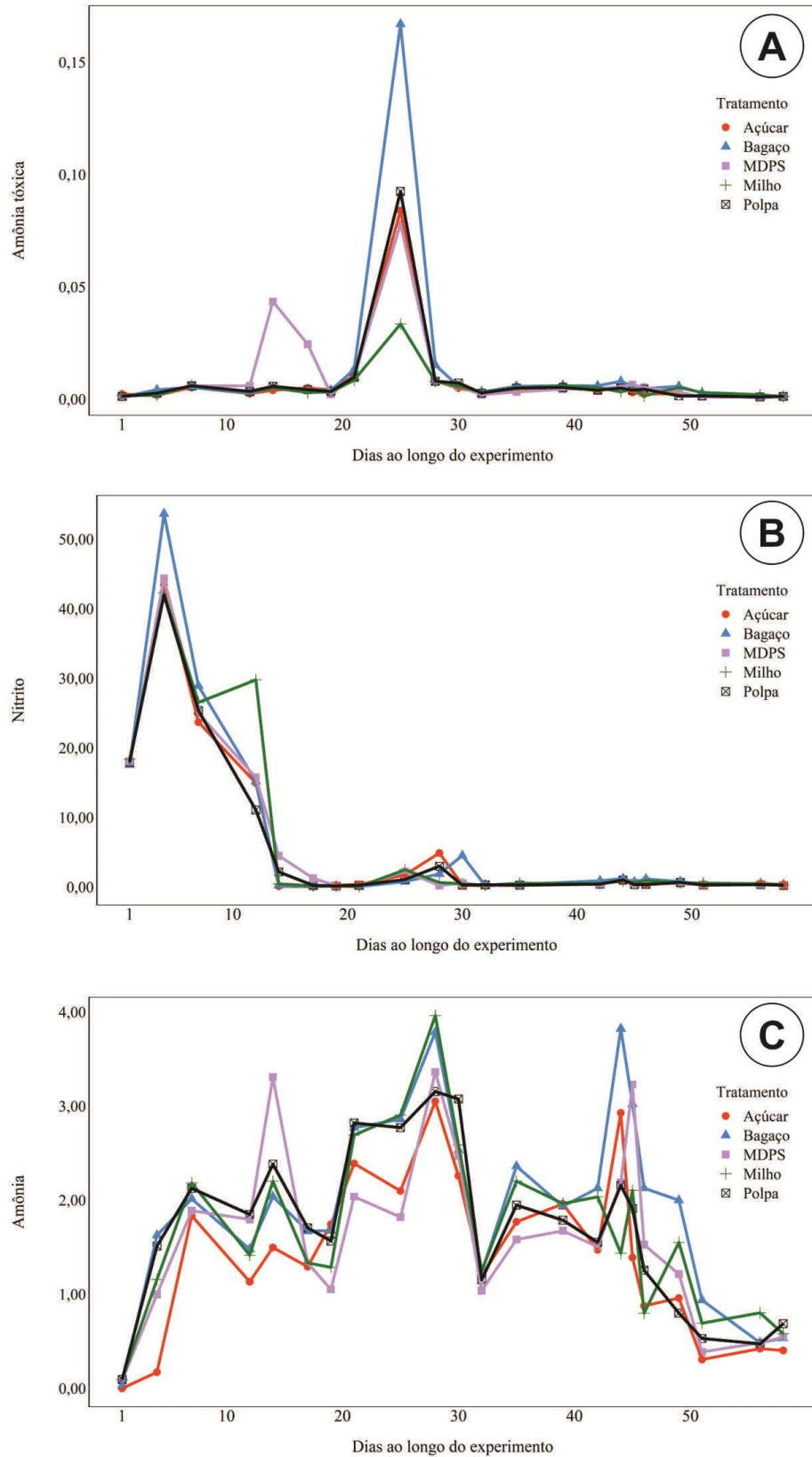


Figura 6 - Valores médios para compostos nitrogenados (A - amônia tóxica, B - nitrito e C - amônia) e suas flutuações durante o período experimental, para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de biofilme com utilização de fontes de carbono alternativas.

Tabela 4 – Medianas, coeficiente de variação (CV) e valor de p dos compostos nitrogenados em sistema de bioflocos para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando diferentes fontes de carbono orgânico.

Compostos nitrogenados	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
	Inicial						
Amônia tóxica	0,001±0,0025	0,001±0,00	0,001±0,0015	0,001±0,00	0,001±0,0005	88,02	0,6890
N-AT (mg.L ⁻¹)	-0,01±0,08	0,01±0,09	0,09±0,06	0,08±0,02	0,09±0,04	115,20	0,3135
N-NO ₂ (mg.L ⁻¹)	18,13±2,12	19,32±2,32	18,41±1,61	17,07±1,33	17,66±2,33	10,42	0,7017
N-NO ₃ (mg.L ⁻¹)	141,85±8,54	135,95±17,63	130,33±10,66	134,16±22,57	140,24±14,41	10,52	0,7436
Média do período experimental							
Amônia tóxica	0,003±0,02	0,01±0,04	0,01±0,01	0,003±0,03	0,01±0,02	289,37	0,2497
N-AT (mg.L ⁻¹)	1,40±0,99 ^a	1,88±1,14 ^b	1,61±1,09 ^{ab}	1,33±1,28 ^a	1,60±1,01 ^{ab}	66,25	0,0312
N-NO ₂ (mg.L ⁻¹)	0,42±11,55	0,46±13,48	0,46±12,17	0,34±12,93	0,38±11,29	215,69	0,7477
N-NO ₃ (mg.L ⁻¹)*	527,15±141,76	564,71±40,00	493,25±32,85	488,60±54,68	507,76±34,48	13,52	0,4952

Medianas com letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC). N-AT (amônia total); N-NO₂ (nitrito) e N-NO₃ (nitrato) *Nitrato aferido aos 40 dias do período experimental.

3.4. Parâmetros zootécnicos

Os tratamentos utilizando as diferentes fontes de carbono não influenciaram o desempenho zootécnico ($p>0,05$) ao final do período experimental (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Médias \pm desvios padrão para biomassa, densidade e peso médio inicial e final, de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.

	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
Inicial							
BM (Kg)	0,93 \pm 0,10	0,96 \pm 0,04	0,88 \pm 0,07	0,92 \pm 0,07	0,86 \pm 0,06	8,06	0,2978
D (Kg/m³)	5,81 \pm 0,59	6,01 \pm 0,27	5,47 \pm 0,43	5,73 \pm 0,46	5,38 \pm 0,38	8,03	0,2946
PM (Kg)	0,05 \pm 0,01	0,048 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	0,05 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	8,11	0,3395
Final							
BM (Kg)	3,15 \pm 0,26	3,06 \pm 0,38	3,03 \pm 0,46	3,20 \pm 0,32	2,99 \pm 0,29	10,40	0,9095
D (Kg/m³)	19,66 \pm 1,62	19,11 \pm 2,40	18,96 \pm 2,86	20,01 \pm 1,98	18,68 \pm 1,84	10,39	0,9094
PM (Kg)	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	0,16 \pm 0,00	8,13	0,8421

BM (biomassa); D (densidade); PM (peso médio). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

Tabela 6 - Médias \pm desvios padrão dos parâmetros zootécnicos de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.

	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
GPB (Kg)	2,22 \pm 0,26	2,10 \pm 0,35	2,16 \pm 0,40	2,28 \pm 0,24	2,13 \pm 0,31	13,41	0,9234
GPDI (g)	2,08 \pm 0,16	2,11 \pm 0,32	2,16 \pm 0,28	2,07 \pm 0,27	2,08 \pm 0,12	11,47	0,9816
FCA	1,18 \pm 0,08	1,33 \pm 0,25	1,29 \pm 0,11	1,14 \pm 0,05	1,28 \pm 0,14	11,76	0,3396
IEP	303,02 \pm 71,95	247,16 \pm 88,25	254,47 \pm 83,38	330,26 \pm 35,05	262,82 \pm 84,53	26,62	0,4895
IVS (%)	10,62 \pm 1,79	12,36 \pm 1,96	11,40 \pm 1,78	12,01 \pm 0,97	11,82 \pm 1,27	14,24	0,0948
IHS (%)	4,08 \pm 0,69	4,46 \pm 1,07	4,78 \pm 1,14	4,61 \pm 0,74	4,23 \pm 0,88	20,83	0,3556
RC (%)	89,38 \pm 1,79	87,64 \pm 1,96	88,60 \pm 1,78	87,99 \pm 0,97	88,18 \pm 1,27	1,88	0,0948
TS (%)	95 \pm 4,08	88,75 \pm 4,79	88,75 \pm 4,79	98,75 \pm 2,50	91,25 \pm 8,54	6,68	0,0729

GPB (ganho de peso biomassa); GPDI (ganho de peso diário individual); FCA (fator de conversão alimentar); IEP (índice de eficiência produtiva); IVS (índice viscerossomático); IHS (índice hepatossomático); RC (rendimento de carcaça); TS (taxa de sobrevivência). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

3.5. Composição bromatológica dos flocos microbianos e dos filés

As tabelas 7 e 8 apresentam os valores médios, coeficientes de variação e valores de p para a composição centesimal bromatológica dos flocos microbianos e filés dos peixes provenientes de cada tratamento. Não foi observada diferença ($p>0,05$) na composição dos bioflocos e do filé de tilápia para as variáveis de PB, EE, MM, FDN e FDA entre os tratamentos.

Tabela 7 - Valores médios (%), coeficientes de variação (CV) e valores de p na composição dos flocos microbianos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.

	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
PB	22,01±1,81	25,43±1,55	23,48±9,52	24,41±3,94	23,68±1,9	19,29	0,1366
EE	0,15±0,21	0,26±0,09	0,24±0,17	0,27±0,27	0,19±0,31	71,71	0,5476
MM	37,94±5,43	29,99±1,71	31,71±7,25	33,53±4,43	32,35±7,52	17,53	0,0610
FDN	36,43±1,38	34,17±1,46	37,97±1,42	33,40±1,38	38,61±1,42	17,68	0,0708
FDA	11,08±1,42	15,64±1,42	11,14±1,33	11,63±1,33	12,40±1,33	31,88	0,1290
P	25,65±1,59	24,10±1,59	24,83±1,59	25,8±1,59	25,83±1,59	11,55	0,9196

Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), fósforo (P). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

Tabela 8 - Valores médios (%), coeficientes de variação (CV) e valores de p, para filés de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono.

	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
PB	17,95±0,23	18,27±0,24	18,63±0,23	18,04±0,23	18,38±0,23	3,63	0,2518
EE	22,11±1,17	22,72±1,26	22,16±1,09	22,68±1,09	22,69±1,17	12,97	0,9902
MM	4,82±0,15	4,83±0,16	4,92±0,15	5,01±0,15	4,71±0,15	8,65	0,6788

Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

3.6. Morfometria dos flocos

Foram encontradas diferenças ($p < 0,05$) entre a área dos flocos menores de $1.000 \mu\text{m}^2$, que representa 20,6% dos flocos medidos. O MDPS apresentou a menor média e diferiu da PC que apresentou maior área de floco. O tratamento AC foi estatisticamente igual ao MDPS, MI e BC. Os flocos maiores de $1.000 \mu\text{m}^2$ não diferiram estatisticamente entre os tratamentos nas demais classes (Tabela 9 e Figura 7).

Tabela 9 - Médias, coeficientes de variação (CV) e valores de p da área dos flocos nas diferentes classes de tamanho dos agregados microbianos no sistema de bioflocos para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas com diferentes fontes de carbono.

Classe	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
1 (n=206)	489,54 ^{ab}	577,04 ^{bc}	582,85 ^{bc}	377,47 ^a	622,19 ^c	50,29	<0,0001
2 (n=439)	2.452,25	2.558,97	2.703,82	2.650,53	2.587,30	44,36	0,6256
3 (n=180)	7.324,50	6.915,42	6.807,03	7.002,59	6.922,93	19,37	0,5145
4 (n=96)	13.989,87	13.628,87	15.024,89	12.594,61	12.494,86	21,47	0,0747
5 (n=79)	46.479,01	44.171,52	57.383,45	35.310,40	46.785,20	150,22	0,2102

Classe 1 ($\leq 1.000 \mu\text{m}^2$), classe 2 (1.001 a $5.000 \mu\text{m}^2$), classe 3 (5.001 a $10.000 \mu\text{m}^2$), classe 4 (10.001 a $20.001 \mu\text{m}^2$), classe 5 ($>20.000 \mu\text{m}^2$). Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem entre si, de acordo com ANOVA, seguida de teste Tukey ($p < 0,05$). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

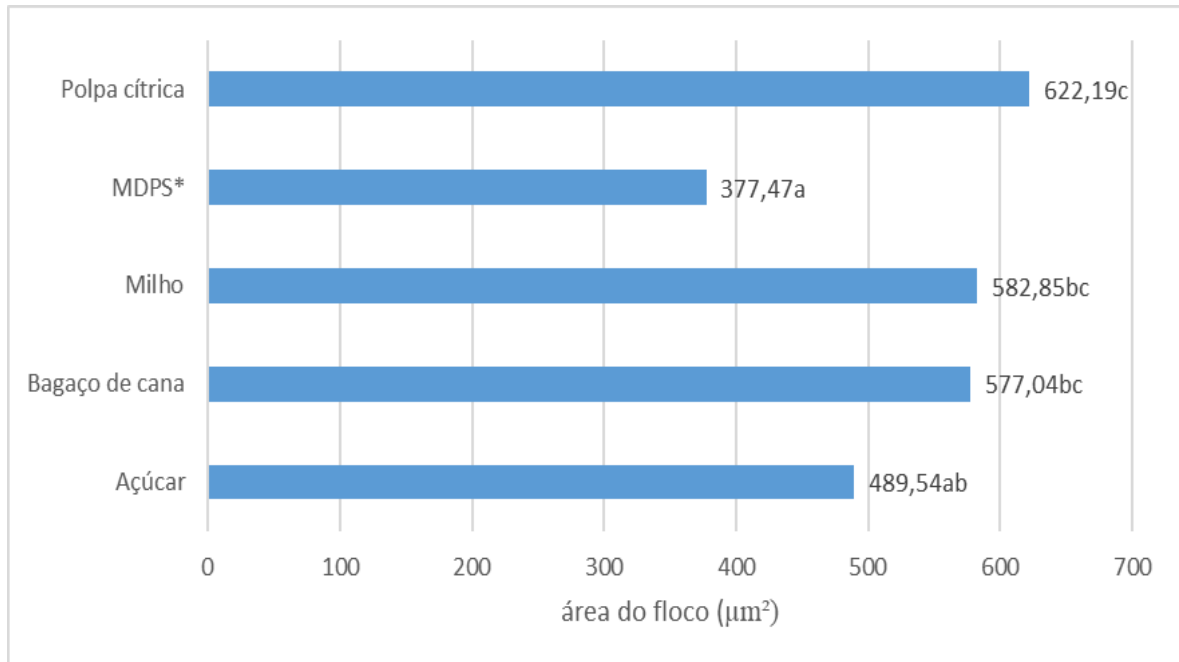


Figura 7 - Unidade de área de flocos com área menor que 1.000 µm² para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas em sistema de bioflocos com diferentes fontes de carbono. *Milho desintegrado com palha e sabugo.

4. DISCUSSÃO

4.1. Fontes de carbono

A escolha das fontes de carbono a serem utilizadas no sistema de BFT deve ser avaliada de acordo com o custo, a disponibilidade e a influência sobre o sistema como um todo. As fontes podem variar quanto à sua biodisponibilidade, e quanto à sua degradabilidade, podendo ser solúveis, pouco solúveis ou insolúveis (El-Husseiny et al., 2018).

No presente estudo, as fontes de carbono simples (AC, MI) resultaram em remoção mais rápida da N-AT, enquanto fontes complexas (BC, MDPS, PC) requerem tempo maior para a sua decomposição, resultando em remoção mais lenta (Ekasari et al., 2014b; Vasava et al., 2020). Quando a degradação é lenta o sistema pode manter-se mais estável por mais tempo. No entanto, quando há lentidão na degradação do material pelas bactérias, pode resultar maior nível de amônia tóxica e levar os peixes à morte. Sendo assim, a fonte BC que possui maior nível de fibra em sua composição, teve um pico maior de N-AT, mas não comprometeu o sistema, uma vez que conseguiu reduzir este composto com eficiência.

Diversos estudos foram realizados com diferentes fontes de carbono para peixes e camarões. Ekasari et al. (2010) estudaram a influência de açúcar e glicerol em dois diferentes níveis de salinidade e não encontraram efeitos da fonte carbonácea e da salinidade nos conteúdos de proteína bruta, lipídeos e ácidos graxos totais no BFT.

Gandini et al. (2016) avaliaram resíduos de cervejaria e farinha de mandioca como fontes de carbono alternativa para produção de camarões em bioflocos, encontrando resultados eficientes, tanto para os índices zootécnicos quanto para os parâmetros de qualidade de água nas fontes estudadas em relação ao melação.

4.2. Parâmetros físico-químicos da água

As alterações observadas nas variáveis OD, pH e salinidade não foram acentuadas de forma que pudessem comprometer o desenvolvimento dos peixes. Os valores de temperatura, alcalinidade e sólidos sedimentáveis se mantiveram dentro da faixa adequada para o cultivo de tilápias em BFT e similares aos valores apresentados por Silva (2016). No presente estudo a temperatura média variou de 25,9 a 27,4°C. As tilápias podem tolerar uma ampla variação de temperatura (20 a 35°C) e uma ótima faixa para desenvolvimento e reprodução fica entre 25 e 30°C (El-Sayed, 2006), faixa em que se enquadram os valores encontrados no nosso estudo.

O OD se manteve na faixa de 4,05 a 5,63 mg.L⁻¹ durante o período experimental. Dentre os fatores físicos e químicos, o OD é influenciado pela temperatura, e mesmo que as tilápias sejam tolerantes a baixos níveis de OD recomenda-se que seja mantido acima de 4,5 mg.L⁻¹ (Castellani et al., 2019). Apesar da tilápia ser tolerante a baixas concentrações e suportar níveis próximos de zero, esses baixos níveis podem prejudicar seu crescimento e conversão alimentar (Kubitza, 2017a).

O pH deste estudo variou entre 4,8 e 8,3 com valores médios por grupo entre 5,85 e 6,05. As tilápias podem tolerar uma faixa de pH de 5 a 11 por até 24 horas, mas morrem a um pH abaixo de 3,5 e acima de 12 (El-Sayed, 2006). No presente estudo, quando o pH estava abaixo de 7,0 foi realizada a correção com calcário dolomítico; no entanto, os valores se mantiveram próximos de 6,0 mesmo após a correção. Essa redução está associada ao aumento da massa microbiana (Alves,

2013) que contribui para a elevação do dióxido de carbono na água e, conseqüentemente, reduz o pH no sistema (Wasieliesky et al., 2006).

A salinidade auxilia na redução da toxicidade do nitrito (Luo et al., 2014) e potencializa a saúde dos peixes em BFT. As tilápias desenvolvem normalmente em salinidades de até 15 g.L^{-1} (El-Sayed, 2006). Para alevinos a recomendação é de 4 a 8 g.L^{-1} para produção em BFT, uma vez que essa faixa de salinidade favorece o crescimento dos peixes na fase inicial (Alvarenga et al., 2018). Portanto, é assumido no presente estudo, que a diferença significativa para a salinidade entre os tratamentos não influenciou na manutenção dos peixes nos tanques de BFT com diferentes fontes de carbono e nem nas demais variáveis de qualidade da água.

Apesar dos esforços contínuos para elevar a alcalinidade, a mesma se manteve baixa durante o período experimental. A alcalinidade deve ser mantida acima de 50 mg.L^{-1} de CaCO_3 (Avnimelech, 2009), pois ela influencia na capacidade tampão e reduz a variação do pH no sistema (Cavalcante et al., 2012). Sandoval-Vargas et al. (2020) avaliando o BFT *versus* troca diária de água em duas densidades para juvenis de *Piaractus branchyomus*, verificaram que houve queda de pH para valores próximos de 6,0 e alcalinidade em 23 mg.L^{-1} de CaCO_3 em BFT, valores próximos aos encontrados neste estudo, demonstrando ser comum este evento neste tipo de sistema. A baixa alcalinidade ocorre quando as bactérias heterotróficas não conseguem assimilar todo N-AT; com isso, as bactérias nitrificantes utilizam o carbono da alcalinidade no processo de nitrificação (Ebeling et al., 2006).

O nível dos SS no início do período experimental ficou em $1,55 \pm 0,76$, indicando baixo nível de matéria orgânica. Os SS devem ficar abaixo de 100 ml.L^{-1} (Avnimelech, 2009) o que foi obtido no presente experimento (valor máximo 43 ml.L^{-1}). No entanto, quando se aumenta a densidade de peixes nos tanques, o volume de SS tem um aumento significativo, possivelmente devido ao aumento da entrada de alimentos e produção de resíduos (Widarnani et al., 2012).

4.3. Compostos nitrogenados na água

Os níveis de amônia foram, em média, inferiores a 2 mg.L^{-1} . Quando os valores ultrapassavam 1 mg.L^{-1} , as intervenções eram realizadas com a adição das fontes de carbono de acordo com cada tratamento. A amônia encontra-se em

equilíbrio entre as formas ionizadas e não ionizadas quando dissolvida na água. Este equilíbrio é influenciado pelo pH, temperatura e salinidade (Arana, 1997), e quanto maior for o pH da água, maior será o percentual da amônia total na forma tóxica, ou seja, NH_3 (Kubitza, 2017a). Com pH 7,0, apenas 0,7% da amônia total é NH_3 , com pH 9,0 esse percentual vai de 37 a 40% (Kubitza, 2017b). Assim, o N-AT mesmo acima de 1 mg.L^{-1} quando convertido, a concentração para amônia tóxica resultou em valores inferiores ao nível considerado tóxico.

Neste estudo, o BFT estava em fase de amadurecimento, fato justificado pelos picos de N-AT e NO_2 , que são normais nesta fase e constituem em indícios de alterações nas comunidades microbianas (Silva, 2016).

Após o pico inicial de nitrito, o mesmo se manteve abaixo de 2 mg.L^{-1} , e em geral abaixo de 1 mg.L^{-1} , não comprometendo o desenvolvimento dos peixes. Espécies aquáticas respondem fisiologicamente ao nitrito, produzindo metahemoglobina, havendo variação de tolerância a diferentes níveis de nitrito entre as espécies de água doce e salgada (Arana, 1997; Yanbo et al., 2006). Indivíduos expostos a diferentes níveis de nitrito podem sofrer estresse e até morte.

Por outro lado, a presença de sal na água reduz a toxidez do nitrito (Alvarenga et al., 2018; Luo et al., 2014). A toxidez do nitrito é reduzida porque os íons cloreto do sal (NaCl) competem com esse composto nitrogenado pelos sítios de absorção do nitrito pelas brânquias (Manduca et al., 2020; Yanbo et al., 2006).

A concentração de nitrato é acumulativa e normalmente não é um problema sério; porém, pode tornar-se tóxica em sistema fechado, devido ao efeito sobre a osmorregulação e, possivelmente, sobre o transporte de oxigênio (Arana, 1997). Os valores obtidos no presente estudo não atingiram o limiar para causar alterações fisiológicas nas tilápias cultivadas e/ou prejudicar manutenção das bactérias do BFT. Segundo Arana (1997), a CL_{50} (96h) do NO_3^- para a maioria das espécies aquáticas varia entre 1.000 e 3.000 mg.L^{-1} . No presente estudo, foram encontrados níveis de nitrato de $488,60$ a $564,71 \text{ mg.L}^{-1}$ aos 40 dias de experimento, estando dentro dos limites desejáveis relatados por Arana (1997).

4.4. Parâmetros zootécnicos

As fontes de carbono não influenciaram o desempenho dos peixes ($p < 0,05$). Estes dados são corroborados pelos resultados encontrados por El-Husseiny et al.

(2018) que avaliaram cinco fontes de carbono, sendo duas fontes de carbono simples (açúcar e melão), três fontes complexas (amido, farelo de trigo e celulose) e um tratamento controle (água clara), e não encontraram diferenças no desempenho de crescimento e ingestão de alimento entre as fontes de carbono orgânicas utilizadas, fontes estas que foram superiores ao tratamento controle.

Azim e Little (2008) avaliando dois níveis de proteína bruta na ração (35 e 24%) em sistemas de bioflocos, e tendo controle sem bioflocos com 35% de PB, não encontraram diferenças entre os tratamentos para os parâmetros de desempenho, sendo estes superiores ao controle sem bioflocos. Silva (2017) avaliando diferentes fontes de carbono (melão, açúcar e fécula de mandioca) também não encontraram diferenças entre os padrões de crescimento e produtivos de alevinos de tilápias. No presente estudo, as fontes de carbono sejam simples ou complexas, não demonstraram diferenças nos tratamentos para as variáveis de desempenho produtivo.

4.5. Composição bromatológica do flocos microbianos e dos filés

A proteína bruta dos flocos microbianos variou, em média, de 22,01 a 25,43% nos tratamentos, ficando próximos dos valores encontrados por Manduca (2017) que, ao avaliar diferentes densidades de tilápias cultivadas em bioflocos, encontrou uma variação na proteína bruta de 22,3 a 27,98% na composição dos flocos. Silva (2016), avaliando diferentes níveis de proteína bruta na composição da ração para tilápias em duas fases de crescimento, encontrou níveis de proteína variando de 14,23 a 21,28% no bioflocos, valores estes abaixo dos encontrados neste trabalho. Em contrapartida, Azim e Little (2008) avaliaram duas dietas para tilápias juvenis (80 a 120 g) contendo níveis de proteína bruta de 35 e 24%, e encontraram os níveis de proteína dos flocos entre 37,93 e 38,41%, respectivamente.

Diferentes fontes de carbono resultam em alteração na composição química do flocos microbianos (El-Husseiny et al., 2018). Ekasari et al. (2010); Rajkumar et al. (2015) e Wei et al. (2016) estudaram diferentes tipos de carboidratos que podem ser utilizados neste sistema para tilápias e camarões, desde fontes mais simples como o açúcar, bem como fontes de maior complexidade como o farelo de trigo, farinha de tapioca, bagaço de cana, entre outros. Ekasari et al. (2010) não encontraram diferenças na composição de proteínas e lipídios dos bioflocos

utilizando açúcar e glicerol como primeira variável e dois níveis de salinidade para tilápias. Rajkumar et al. (2015) avaliaram melaço de cana de açúcar, farinha de tapioca, farelo de trigo e água clara para camarões e encontraram diferenças entre os tratamentos, enquanto Wei et al. (2016) avaliaram glicose, amido e glicerol em BFT sem peixes, e encontraram diferenças entre as composições do BFT de acordo com a fonte utilizada. A avaliação das fontes de carbono neste trabalho não apresentou diferenças na composição dos bioflocos entre os tratamentos.

No entanto, a metodologia de coleta destes flocos para análise bromatológica tem influência sobre a composição dos flocos (Silva, 2016), pois ainda não existe um protocolo efetivo para tal análise. Wei et al. (2016) coletaram amostras dos tanques passando uma sacola de nylon com malha de 10 µm de acordo com a metodologia proposta por Xu and Pan (2012). Estes autores avaliaram o efeito de diferentes fontes de carbono e encontraram diferentes níveis de proteína de acordo com a fonte estudada, sendo 41,2% PB quando a fonte de carbono foi a glicose, 31,5% PB quando usado o amido, e 35,5% de PB se utilizado o glicerol. Azim e Little (2008) estudando dois níveis de proteína na ração, coletaram amostras de flocos usando um separador de flocos, não encontrando diferenças significativas entre a composição dos flocos. Rajkumar et al. (2015) utilizando peneira com malha de 100 µm para analisarem a composição bromatológica do biofloco, encontraram valores de proteína bruta de 45,98 a 53,65%, para bioflocos com diferentes fontes de carbono (melaço de cana, farinha de tapioca, farinha de trigo) na cultura do camarão.

Neste estudo, o valor médio de extrato etéreo para as diferentes fontes de carbono esteve sempre abaixo de 0,5%, semelhante aos valores encontrados por Rajkumar et al. (2015), cujos valores variaram de 0,57 a 0,92%. Entretanto, Azim e Little (2008) estudando dois níveis de proteína na ração (35 e 24%), encontraram valores de 3,16 e 3,23%, respectivamente. O perfil de micro-organismos presentes na composição do floco está intimamente ligado ao seu valor nutricional (Silva, 2016) e, de acordo com Fernandes da Silva et al. (2008), no caso dos lipídeos, diversos micro-organismos como nematoides, flagelados heterotróficos, cianobactérias e bactérias heterotróficas unicelulares podem contribuir para o incremento deste nutriente.

Os valores observados para matéria mineral neste estudo variaram de 29,3 a 37,0%, corroborando os dados encontrados por Manduca (2017), apesar deste autor

relatar uma variação maior (14,34 a 37,8%). Para Azim e Little (2008) e Rajkumar et al. (2015), os níveis de matéria mineral foram, respectivamente, 12,4 a 15,2% e 14,88 a 25,04%, ficando abaixo dos valores deste estudo.

Quanto aos teores de fibra encontrados neste estudo, o FDN, que está intimamente relacionado com os carboidratos estruturais (celulose, hemicelulose e pectinas) não apresentou diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos. O FDA não apresentou diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos. As fibras têm função diferente no sistema BFT, que é possibilitar a aderência das bactérias e a formação de flocos.

Alterações na composição de carcaça ou filés está intimamente ligada a fatores bióticos e/ou abióticos, sendo o principal deles a composição do alimento fornecido. Neste estudo, a ração fornecida aos diferentes tratamentos foi a mesma. Além disso, a análise de composição dos flocos não apresentou diferença entre os tratamentos ($p>0,05$). A avaliação da composição proximal dos filés de tilápias entre os tratamentos mostrou que não houve diferenças, corroborando Alvarenga et al. (2018) que também não encontraram diferenças na composição dos filés de tilápias, avaliando diferentes níveis de salinidade na faixa de 0 a 16‰, usando o melaço como fonte de carbono.

4.6. Morfometria dos flocos

O tamanho dos flocos está diretamente ligado com sua função nutricional para os peixes, e será definido pela movimentação da água pelos aeradores. Houve variação de tamanho dos flocos neste estudo, com os flocos com área menor que $1.000 \mu\text{m}^2$ apresentando diferença entre os tratamentos avaliados.

Não foram encontrados outros estudos que avaliaram a área do floco. No entanto, Ekasari et al. (2014a) avaliando a influência do tamanho dos bioflocos na composição nutricional e no aproveitamento do nitrogênio na aquicultura, encontraram que o consumo de bioflocos é independente do tamanho dos flocos, seja para camarões, tilápia ou mexilhões. Entretanto, esses mesmos autores mencionam que o tamanho do floco tem papel importante na qualidade nutricional e na retenção de nitrogênio pelos organismos aquáticos. Souza (2017) avaliou o efeito do tamanho dos agregados microbianos na produção de camarões em sistema BFT. Esta autora utilizou o processo de filtração para avaliar a influência no processo de nitrificação e verificou que os parâmetros de qualidade de água se mantiveram na

faixa adequada, não havendo influência no processo de nitrificação. O estudo mostrou também que os tratamentos sem filtração foram os que proporcionaram melhor desempenho zootécnico aos camarões, devido à maior disponibilidade de agregados.

A tecnologia de BFT tem um valor agregado, pois além de auxiliar no controle do padrão de qualidade da água, o biofloco serve como alimento para os peixes, o que torna importante a compreensão dos fatores que envolvem o processo de biofloculação (Crab et al., 2012, De Schryver et al., 2008). A morfologia (tamanho, forma e composição) dos flocos se faz de grande importância para o aproveitamento máximo do sistema. Neste sentido, mais estudos são necessários para desvendar os efeitos do tamanho dos flocos na nutrição e aproveitamento pelos peixes.

5. CONCLUSÕES

Para a manutenção da qualidade da água, as fontes de carbono testadas podem ser empregadas, uma vez que os impactos causados foram de baixa magnitude sobre as variáveis estudadas, não sendo prejudiciais à criação, favorecendo a aquicultura sustentável por reduzir o despejo de efluentes no meio ambiente, reduzir o uso de água no sistema e permitir aumentar a produtividade por área.

As fontes de carbono estudadas (bagaço de cana, milho, MDPS e polpa cítrica) proporcionaram desempenho produtivo e composição corporal semelhantes em relação ao tratamento controle (açúcar). Com isso, é possível a escolha e mudança das fontes que estão sendo utilizadas de acordo com a disponibilidade e sazonalidade, não comprometendo o desenvolvimento dos peixes e a qualidade da água do sistema.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil na forma de concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Costa, G.R., Silva, M.A., Teixeira, E.A., Turra, E.M. (2018). Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. **Aquaculture Research**, 49, 2919-2926. <https://doi.org/10.1111/are.13728>.

Alves, G.F.O. (2013). **Produção de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema com bioflocos: efeito do momento de transferência dos alevinos para o sistema**. [Dissertação]. Belo Horizonte, MG. Universidade Federal de Minas Gerais. 56p.

Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., Srinath, E.G. (1976). Inhibition of nitrification and nitrous acid. **Water Pollution Control Federation**, 48, 835–852. <http://www.jstor.org/stable/25038971>

AOAC INTERNATIONAL - Association of Officiating Analytical Chemists (2005). **Official Methods of Analysis**, In: Horwitz, W., Latimer Jr., G.W. (Orgs.), 18 ed., Washington. 28p.

APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.

Arana, L.V. (1997). **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura - uma revisão para peixes e camarões**. Florianópolis. Editora da UFSC. 166p.

Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, 176, 227-235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)

Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>

Avnimelech, Y. (2009). **Biofloc technology - A practical guide book**, 1st ed. World Aquaculture Society, Louisiana, United States. 182p.

Azim, M.E., Little, D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>

Bendschneider, K., Robinson, R.J. (1952). New spectrophotometric method for the determination of nitrite in water. **Fresenius Environmental Bulletin**, 1, 1-18. <https://doi.org/10.1007/BF00388430>

Bossier, P., Ekasari, J. (2017). Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. **Microbial Biotechnology**, 10, 1012-1016. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>

Boyd, C.E., Tucker, C.S. (1998). **Pond aquaculture water quality management**. Springer science business media, LLC. 711p.

Brune, D.E., Schwartz, G., Eversole, A.G., Collier, J.A., Schwedler, T.E. (2003). Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. **Aquacultural Engineering**, 28, 65–86. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(03\)00025-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(03)00025-6)

Castellani, D., Abimorad, E.G., Scorvo-Filho, J.D., Frascá-scorvo, C.M.D., Masocatto, C.O. (2019). **Dinâmica do oxigênio dissolvido em piscicultura de tanques rede de grande volume no reservatório de água vermelha**, in: FUNDEPAG, I. de P. e (Org.), XIII Reunião Científica do Instituto de Pesca. Parque da Água Branca - SP, 48-50.

Cavalcante, D.H., Silva, S.R., Pinheiro, P.D., Akao, M.M.F., Sá, M.V.C. (2012). Aumento isolado ou combinado da alcalinidade e dureza da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum: Technology**, 34, 177-183. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v34i2.12003>

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 356-357, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W. (2008). The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, 277, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2015). **InfoStat versión 2015**. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257, 346-358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>.

Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., De Schryver, P. (2014a). The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. **Aquaculture**, 426-427, 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>

Ekasari, J., Crab, R., Verstraete, W. (2010). Primary Nutritional Content of Bio-Flocs Cultured with Different Organic Carbon Sources and Salinity. **HAYATI: Journal of Biosciences**, 17, 125-130. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.3.125>.

Ekasari, J., Hanif Azhar, M., Surawidjaja, E.H., Nuryati, S., De Schryver, P., Bossier, P. (2014b). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. **Fish and Shellfish Immunology**, 41, 332-339. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.004>

El-Husseiny, O.M., Goda, A.M.A.E., Mabroke, R.S., Soady, M. (2018). Complexity of carbon sources and the impact on biofloc integrity and quality in tilapia

(*Oreochromis niloticus*) tanks. **AAFL Bioflux**, 11, 846-855.
<http://www.bioflux.com.ro/aafl>

El-Sayed, A.F.M. (2006). **Tilapia culture**, Tilapia Culture. CABI Book Info. 2006. 207p. <https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>

Faizullah, M.M., Rajagopalsamy, C., Ahilan, B., Daniel, N. (2019). Application of biofloc technology (BFT) in shrimp aquaculture industry. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 7, 204-212. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/196/1/012043>

Fernandes Da Silva, C., Ballester, E., Monserrat, J., Geracitano, L., Wasielesky, W., Abreu, P.C. (2008). Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: Protein and lipid contents. **Aquaculture Nutrition**, 14, 507-514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00556.x>

Gandini, F.A.; Nascimento, J.R.O.; Medeiros, C.S.; Oshiro, L.M.Y.; Sant'ana, N.F. (2016). Avaliação de diferentes fontes de carboidratos para o sistema de bioflocos e crescimento do camarão branco. **Boletim do Instituto de Pesca**, 42(4), 831-843. <https://doi:10.20950/1678-2305.2016v42n4p831>

Jamal, M.T., Broom, M., Al-Mur, B.A., Al Harbi, M., Ghandourah, M., Al Otaibi, A., Haque, M.F. (2020). Biofloc technology: emerging microbial biotechnology for the improvement of aquaculture productivity. **Polish Journal of Microbiology**, 69(4), 401-409. <https://doi:10.33073/PJM-2020-049>

Kamilya, D., Debbarma, M., Pal, P., Kheti, B., Sarkar, S., Singh, S.T. (2017). Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. **Chemosphere**, 182, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.021>

Kim, J.H., Kim, J.Y., Lim, L.J., Kim, S.K., Choi, H.S., Hur, Y.B. (2018). Effects of waterborne nitrite on hematological parameters and stress indicators in olive

flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater. *Chemosphere*, 209, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.082>

Kubitza, F. (2017a). A água na aquicultura. Parte I: Oxigênio dissolvido e sua importância para o desempenho e saúde dos peixes e camarões. **Panorama da aquicultura**. Ed. 162(27), 116.

Kubitza, F. (2017b). O pH da água regula excreção e toxidez de amônia. **Panorama da aquicultura**. Ed. 162(27), 14–23.

Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H. (2014). 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**, 422-423, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

Luo, G., Hou, Z., Tian, L., Tan, H. (2020a). Comparison of nitrate-removal efficiency and bacterial properties using PCL and PHBV polymers as a carbon source to treat aquaculture water. **Aquaculture and Fisheries**, 5(2), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.04.002>

Luo, G., Xu, J., Meng, H. (2020b). Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. **Aquaculture**, 520, 734675. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734675>.

Manduca, L.G. (2017). **Produção de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em bioflocos sob diferentes densidades de estocagem e regimes de troca de água**. [Dissertação]. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 41p.

Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Assumpção, A.F., Cardoso, A.C., de Sales, S.C.M., Teixeira, E.A., Silva, M.A., Turra, E.M. (2020). Effects of a zero exchange biofloc system on the growth performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. **Aquaculture**, 521, 735064. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735064>.

McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., Horowitz, S., Horowitz, A. (2001). Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. **Aquacultural Engineering**, 25, 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00073-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00073-5)

McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., McKee, D.A., Horowitz, S., Horowitz, A. (2000). The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. **Aquacultural Engineering**, 21, 215–227. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(99\)00030-8](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(99)00030-8).

McIntosh, R.P. (1999). Changing paradigms in shrimp farming - part 1. **Global Aquaculture Advocate**, 448, 42-45. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10218496>

Monteiro, M.I.C., Ferreira, F.N., De Oliveira, N.M.M., Ávila, A.K. (2003). Simplified version of the sodium salicylate method for analysis of nitrate in drinking waters. **Analytica Chimica Acta**, 477, 125-129. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)01395-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)01395-8).

Moriarty, D.J.W. (1997). The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture**, 151, 333–349. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01487-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01487-1)

Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B. (2016). 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**, 42, 457-465. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0151-9>.

Panigrahi, A., Saranya, C., Sundaram, M., Vinoth Kannan, S.R., Das, R.R., Satish Kumar, R., Rajesh, P., Otta, S.K. (2018). Carbon: Nitrogen (C:N) ratio level variation influences microbial community of the system and growth as well as immunity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in biofloc based culture system. **Fish and Shellfish Immunology**, 81, 329-37. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.035>.

R Core Team (2020). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing II, Vienna, Austria.

Rajkumar, M., Pandey, P.K., Aravind, R., Vennila, A., Bharti, V., Purushothaman, C.S. (2015). Effect of different biofloc system on water quality, biofloc composition and growth performance in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture Research**, 47, 3432-3444. <https://doi.org/10.1111/are.12792>

Sandoval-Vargas, L.Y., Jiménez-Amaya, M.N., Rodríguez-Pulido, J., Guaje-Ramírez, D.N., Ramírez-Merlano, J.A., Medina-Robles, V.M. (2020). Applying biofloc technology in the culture of juvenile of *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): Effects on zootechnical performance and water quality. **Aquaculture Research**, 51, 3865-3878. <https://doi.org/10.1111/are.14734>.

Silva, M.A. (2016). **Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos em duas fases de crescimento**. [Dissertação]. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 84f.

Silva, U.L. Falcon, D.R.; Pessôa, M.N.C.; Correia, E.S. (2017). Carbon sources and C:N ratios on water quality for nile tilapia farming in biofloc system. **Revista Caatinga**, 30(4), 1017-1027. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252017v30n423rc>

Souza, J., Cardozo, A., Wasielesky, W., Abreu, P.C. (2019). Does the biofloc size matter to the nitrification process in biofloc technology (BFT) systems? **Aquaculture**, 500, 443-450. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.051>.

Souza, J.D.S. (2017). **Efeito do tamanho de agregado microbiano no processo de nitrificação durante a produção do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos (biofloc technology - BFT)**. [Dissertação]. Universidade Federal Do Rio Grande. Rio Grande, RS. 60p.

UNESCO (1983). **Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring**. Manuals and Guides: IOC – Intergovernmental Oceanographic Commission, 53 p.

Vasava, R., Hodar, A., Elchelwar, V., Deepak, A., Patel, K., Shrivastava, V., Yusufzai, S., Acharya, P., Prabhakar, P. (2020). Biofloc technology: An innovative approach to zero-water exchange and tentative zero-feed system: A review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 8, 1036-1040.

Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L. (2006). Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>.

Wei, Y.F., Liao, S.A., Wang, A.L. (2016). The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture**, 465, 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>

Widarnani, Ekasari, J., Maryam, S. (2012). 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**, 19, 73-80. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>.

Yanbo, W., Wenju, Z., Weifen, L., Zirong, X. (2006). Acute toxicity of nitrite on tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different external chloride concentrations. **Fish Physiology and Biochemistry**, 32, 49-54. <https://doi.org/10.1007/s10695-005-5744-2>.

Xu, W.J., Pan, L.Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. **Aquaculture**, 356, 147–152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.034>.

CAPÍTULO 2

FONTES DE CARBONO SIMPLES E COMPLEXAS NA CRIAÇÃO DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: RESPOSTAS SOBRE A BIOQUÍMICA PLASMÁTICA, HEMOGRAMA E MORFOMETRIA DE BRÂNKUIAS

O presente artigo científico intitulado "FONTES DE CARBONO SIMPLES E COMPLEXAS NA CRIAÇÃO DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: RESPOSTAS SOBRE A BIOQUÍMICA PLASMÁTICA, HEMOGRAMA E MORFOMETRIA DE BRÂNKUIAS" será **SUBMETIDO** no periódico Fish and Shellfish Immunology – ISSN: 1050-4648, Fator de Impacto: 4.581

HIGHLIGHTS

- Bagaço de cana induziu aumento do ALT em relação às demais fontes.
- Hemoglobina apresentou valores mais elevados nos tratamentos MDPS, MI e PC.
- MDPS proporcionou maior concentração de hemoglobina e CHCM.
- Trombograma apresentou aumento quando utilizada a fonte MDPS no BFT.
- Em BC, comprimento de lamela primária, diâmetro de vaso e celularidade foram menores.

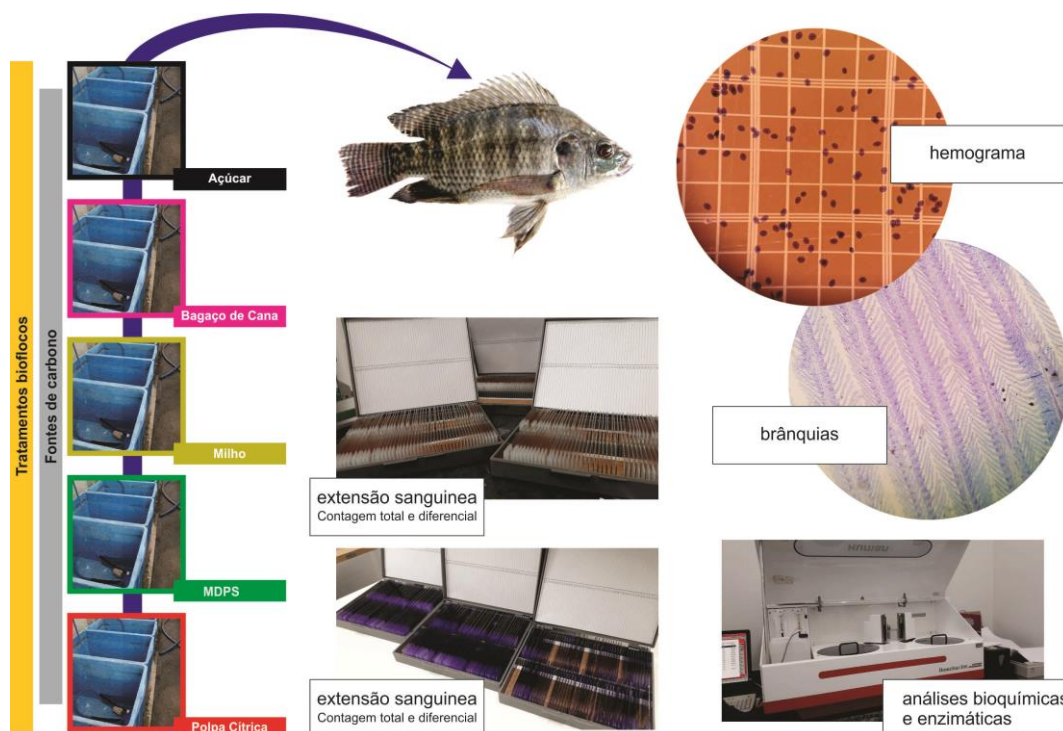


Figura 1 - Resumo gráfico a ser incluído no artigo atendendo as normas de submissão da revista.

RESUMO

Os peixes possuem uma relação íntima com a água, uma vez que é o meio em que vivem. Por isso, alguns estudos analisam o comportamento dos peixes como ferramenta de avaliação de bem-estar. No entanto, o sistema de bioflocos (BFT), que é uma cultura de micro-organismos, impossibilita esse estudo comportamental pois a água de cultivo dos tanques onde os peixes são produzidos é escura. Desta forma, são utilizadas outras ferramentas de avaliação do bem-estar dos peixes neste sistema, entre elas a hematologia e a histologia. Neste estudo, objetivou-se analisar se as diferentes fontes de carbono (açúcar, bagaço de cana, milho, milho desintegrado com palha e sabugo, e polpa cítrica) adicionadas ao BFT podem influenciar o estado nutricional dos peixes. Um total de 400 juvenis de tilápias do Nilo ($45,4 \pm 3,66$ g) foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de 160 L em uma densidade de 20 peixes por tanque. Nos parâmetros bioquímicos sanguíneos, observou-se alteração significativa da ALT. Para os tratamentos AC, PC, MI e MDPS os valores de ALT foram menores em relação a fonte BC, sendo que esta não diferiu do MI e MDPS. Na hematologia, houve diferença ($p < 0,05$) na concentração de hemoglobina e conseqüentemente na concentração de hemoglobina corpuscular média, bem como na quantificação dos trombócitos. Os peixes mantidos nos bioflocos com fontes de MI, MDPS e PC apresentaram maiores taxas de Hb em relação às tilápias mantidas em bioflocos com a fonte de carbono AC. A concentração de hemoglobina dos peixes submetidos ao tratamento em que foi utilizado o BC como fonte de carbono foi similar á das tilápias dos tratamentos com fontes AC, MI, MDPS e PC. Os trombócitos do tratamento MDPS apresentaram valores superiores aos demais. A morfologia branquial apresentou diferenças entre os tratamentos, com a espessura da lamela, o diâmetro de vaso e a celularidade da lamela primária das brânquias de *Oreochromis niloticus* do presente experimento mostrando menores valores ($p < 0,05$) na fonte BC em geral, seguida pelo AC. As diferenças encontradas neste estudo não demonstraram impacto da qualidade da água na produção e no estado nutricional de tilápias juvenis produzidas em sistema de BFT com diferentes fontes de carbono.

Palavras-chave: Bioflocos. Bem-estar peixes. Contagem sanguínea. Hematologia de peixes. Morfometria de brânquias.

ABSTRACT

Fish have an intimate relationship with the water once it is their natural habitat. Therefore, some studies analyze the fish's behavior as a welfare assessment tool. However, the biofloc system (BFT), that is a culture of micro-organisms, makes this behavioral study impossible because the water in the tanks where the fish are produced is dark. Thus, other tools are used to assess this fish welfare, including hematology and histology. The aim of this study was to analyze if different carbon sources (sugar - AC, sugarcane bagasse - BC corn - MI, disintegrated corn with straw and cob - MDPS, and citrus pulp - PC) added to BFT can influence the nutritional status of fish. A total of 400 juvenile Nile tilapia (45.4 ± 3.66 g) were randomly distributed into 20 160 L ponds at a density of twenty fish per pond. In the blood biochemical parameters, there was a significant change in ALT. For AC, PC, MI and MDPS treatments, ALT values were lower compared to the BC source, which did not differ from MI and MDPS. In hematology, there was a difference ($p < 0.05$) in the hemoglobin concentration and consequently in the mean corpuscular hemoglobin concentration, as well as in the quantification of thrombocytes. Fish kept in bioflocs with MI, MDPS and PC sources had superior Hb rates compared to tilapia kept in bioflocs with AC carbon source. The hemoglobin concentration of fish subjected to treatment using BC as a carbon source was similar to that of tilapia from treatments with AC, MI, MDPS and PC sources. The thrombocytes from the MDPS treatment presented higher values than the other treatments. The gill morphology showed differences between treatments. The lamella thickness, the vessel diameter and the primary lamella cellularity of the gills of *Oreochromis niloticus* showed lower values ($p < 0.05$) in BC source in general, followed by AC. The differences found in this study did not indicate impact on water quality, production and nutritional status of juvenile tilapia produced in a BFT system with different carbon sources.

Keywords: Biofloc. Fish welfare. Blood count. Fish hematology. Gill morphometry.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura tem se desenvolvido muito nos últimos anos, e novas metodologias para acompanhamento do bem-estar e desempenho dos peixes têm sido estudadas, em especial no sistema de bioflocos. Neste sistema, a água fica escura devido à presença de micro-organismos benéficos presentes nos agregados microbianos, o que dificulta a observação do comportamento dos animais. Neste sentido, histologia e a hematologia são metodologias que podem auxiliar o diagnóstico e a tomada de decisão no manejo animal, sendo utilizadas para avaliar o bem-estar dos peixes na busca por melhor produtividade.

Peixes que sofreram estresse apresentam comportamentos erráticos e podem apresentar alterações em nível celular, pois há um desequilíbrio na homeostase devido ao estresse sofrido (Wendelaar Bonga, 2011), seja ele agudo ou crônico. O estresse agudo pode ser causado por manejo simples e o animal se recupera rapidamente; no estresse crônico o animal pode ter redução em produtividade, queda na imunidade, redução de crescimento e alterações no comportamento reprodutivo.

Os agentes estressores podem ser de natureza química, como alterações no padrão da qualidade da água, como níveis baixos de oxigênio dissolvido, pH alterado e níveis de amônia e nitrito elevados; de natureza física, como por exemplo, a alta densidade no tanque de criação, transporte ou manuseio (Diniz e Honorato, 2012); e de natureza biológica, que são presença de predadores, e exposição a agentes infecciosos e parasitários (Oba et al., 2009).

Alguns estudos foram realizados demonstrando o efeito do BFT sobre o sistema imune, resistência ao estresse, crescimento, reprodução e densidade, e também sobre como o BFT pode alterar os parâmetros hematológicos, séricos e histológicos de peixes e camarões (Adineh et al., 2019; Emerenciano et al., 2013; Manduca et al., 2020; Manduca et al., 2021; Mansour e Esteban, 2017; Menaga et al., 2019; Panigrahi et al., 2019).

Os peixes em geral, respondem a alterações ambientais, principalmente aquelas que ocorrem na água, refletindo variações na composição sanguínea (hematológicas e bioquímicas) (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Os índices hematimétricos são utilizados nas avaliações e classificações de diferentes tipos de alterações sanguíneas (Ranzani-Paiva et al., 2013), causadas por deficiência

nutricional, intoxicação por nitrito, aumento de densidade ou baixa qualidade de água.

A quantificação de proteínas totais, colesterol e triglicerídeos são parâmetros séricos que norteiam a avaliação do estado nutricional (Rossato et al., 2013) e imune (Crab et al., 2012, Wendelaar Bonga, 2011) dos peixes. Além destes, tem-se a quantificação plasmática das enzimas alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST) e da ureia, que podem indicar lesões hepáticas, sendo indicativas de catabolismo proteico (Rossato et al., 2013). A AST pode ser indicativa de lesão nos hepatócitos, enquanto o aumento da ALT pode indicar lesão muscular, apesar de não ser específica (Thrall, 2007). O nível de ureia plasmática pode ser indicativo de epitelopatia branquial, pois a concentração de ureia nos peixes teleósteos de água doce está mais intimamente ligado às brânquias que aos rins (Rodrigues et al., 2018; Thrall, 2007).

Thrall (2007) afirma que a excreção de compostos nitrogenados pelos peixes de água doce de um modo geral, é baixa, sendo inferior a 10 mg.L^{-1} . Em teleósteos de água doce com pH elevado e alcalino, o teor de ureia plasmática é mais alto devido a uma possível interação do equilíbrio ácido-base com a produção de ureia, o que é possível de ocorrer no BFT.

As brânquias são órgãos sensíveis e de vital importância que estão intimamente ligados ao meio aquático em que os peixes se encontram, e possuem capacidade de adaptação (Baldisserotto et al., 2014; Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, 1994). As adaptações ao novo estado de equilíbrio buscam a manutenção das funções branquiais, sendo utilizadas para respiração, osmorregulação, filtração, equilíbrio ácido-base e excreção. Este órgão possui uma superfície de contato muito ampla com a água; apesar de se adaptar ao meio é vulnerável a alterações do ambiente aquático, como por exemplo, presença de tóxicos, excesso de sólidos presentes no meio, alterações de parâmetros de qualidade da água, entre outros (Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, 1994).

No sistema de BFT o acúmulo de sólidos pode provocar acúmulo de substâncias sobre as lamelas branquiais em peixes (Long et al., 2015) e em camarões (Luo et al., 2014; Ray et al., 2010) devido à adesão dos sólidos em sua superfície (Silva, 2016), o que conseqüentemente afeta o crescimento e bem-estar dos animais (Luo et al., 2014). Este processo dificulta as trocas gasosas, por exemplo, por evitar o contato direto das brânquias com a água.

Desta forma, buscou-se avaliar a influência que as fontes de carbono têm em alterar os padrões sanguíneos normais (bioquímica plasmática, eritrograma, leucograma e trombograma) e a estrutura das brânquias de juvenis de tilápias do Nilo produzidas em sistema BFT.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condução experimental

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Aquacultura (Laqua), na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, seguindo as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A presente proposta de estudo foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da UFMG (protocolo 149/2019).

Foram utilizados 20 tanques retangulares de 200 L, com 160 L de volume útil, nos quais foram alocados 400 juvenis masculinizados de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio inicial de $45,4 \pm 3,66$ g, com densidade de estocagem de 20 indivíduos por unidade experimental. Os peixes foram mantidos em tanques dentro de uma estufa agrícola para manutenção da temperatura, com sistema de aeração constante, iluminação natural e alimentados *ad libitum* três vezes ao dia com ração comercial contendo 36% de proteína bruta e 3800 kcal/kg de energia bruta. As sobras de ração foram coletadas para manutenção da qualidade da água, vinte minutos após oferta do alimento.

A formação dos flocos nos tanques de tratamento foi realizada antes da colocação dos peixes, na proporção de 70% de água clara e 30% de bioflocos já maduros e disponíveis no laboratório. Os peixes foram colocados nos tanques e mantidos por sete dias antes do período experimental, para adaptação ao sistema. Foi realizada reposição semanal mínima de água para manutenção do volume inicial durante todo o período experimental.

O experimento foi realizado em um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os alimentos testados foram fontes de carbono simples (açúcar - AC) e complexas (bagaço de cana - BC, milho - MI, milho desintegrado com palha e sabugo - MDPS e polpa cítrica - PC). Todos estes alimentos foram moídos em moinho de faca com peneira de 1 mm. A

composição bromatológica envolveu a quantificação de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das fontes de carbono que está apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Composição bromatológica, em porcentagem, das fontes de carbono avaliadas em sistema de bioflocos para produção de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

	Bagaço de cana	Milho	MDPS	Polpa cítrica
MM	1,62	0,94	1,29	6,14
PB	0,79	7,60	7,96	6,33
EE	0,60	2,30	1,55	2,93
FDN	86,39	47,92	30,51	30,10
FDA	55,16	13,15	2,64	19,04

Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)

2.2. Eritrograma, leucograma e trombograma

Para as análises dos parâmetros hematológicos, foram coletadas amostras de sangue de sete exemplares por tanque, totalizando 28 peixes por tratamento. Os peixes não anestesiados foram utilizados para coleta de sangue via punção veno-caudal com seringas de 3 mL contendo heparina como anticoagulante. As amostras de sangue foram transferidas para microtubos que foram acondicionados sob refrigeração para o processamento.

As extensões sanguíneas foram preparadas em duplicatas e coradas pelo método de coloração rápida com May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW) (Tavares-Dias e Moraes, 2003), sendo fotografadas em microscópio de luz e processadas no programa ImageJ versão 1.48 (*National Institutes of Health, USA*) para a contagem total de leucócitos e trombócitos, assim como para a contagem diferencial dos leucócitos (Figura 2). A contagem total de leucócitos e de trombócitos foi realizada a cada 2000 eritrócitos computados, enquanto a contagem relativa foi determinada a partir da contagem diferencial de 200 leucócitos. Para determinação absoluta de cada tipo de leucócito, o número total de cada célula leucocitária foi multiplicado pelo percentual das mesmas.

A concentração de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, em que os compostos de hemoglobina, com exceção da sulfahemoglobina, são rapidamente convertidos a cianometahemoglobina sob ação do ferrocianeto de potássio e do cianeto de potássio (Collier, 1944). Foram

colocados 10 μL de amostra do sangue em 2,5 mL de solução de Drabkin (kit comercial Bioclin $\text{\textcircled{R}}$). Após 30 minutos foram feitas as leituras no espectrofotômetro (Biochrom Libra S22) a 540 nm tendo como padrão uma solução comercial contendo 11,3 mg/dL de hemoglobina (Bioclin $\text{\textcircled{R}}$). Após a leitura da absorbância, o valor foi multiplicado pelo fator de correção calculado na curva padrão (Ranzani-Paiva et al. 2013).

Uma alíquota do sangue foi utilizada para determinação do hematócrito pelo método do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971). Foi utilizado capilar heparinizado com comprimento de 75 mm e diâmetro interno de 1,0 mm. Os capilares contendo sangue foram centrifugados por 5 minutos a 12.000 rpm e as leituras foram realizadas imediatamente após a centrifugação.

Uma alíquota de 10 μL de sangue foi colocada em 2 mL (diluição 1:200) de solução formol-citrato com azul de toluidina para contagem de eritrócitos sanguíneos em câmara de Neubauer ($\times 10^6 / \mu\text{L}$), seguindo metodologia modificada por Oliveira-Junior et al. (2009).

Os índices hematimétricos (Volume Corpuscular Médio - VCM, Hemoglobina Corpuscular Média - HCM e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média - CHCM) foram determinados a partir do hematócrito, da hemoglobina e da contagem de eritrócitos (Ranzani-Paiva et al., 2013).

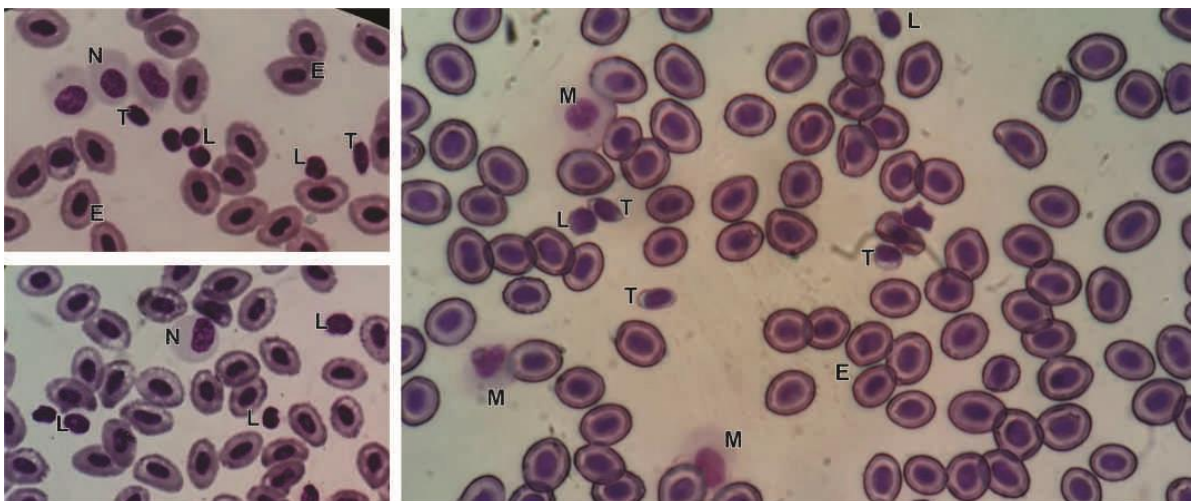


Figura 2 - Tipos celulares sanguíneos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Eritrócitos (E Eritrócitos), diferencial de leucócitos (L. Linfócitos; M. Monócitos; N. Neutrófilos) e trombócitos (T. Trombócitos). Coloração: May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW). Objetiva: 100x. Foto: Joana D'Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).

- Volume Corpuscular Médio (*VCM*): avalia o volume dos eritrócitos.

$$VCM = \frac{\text{Hematócrito} \times 10}{\text{número de Eritrócitos} (x10^6 \mu\text{L}^{-1})} = \text{fL}$$

- Hemoglobina Corpuscular Média (*HCM*): determina a quantidade de hemoglobina existente em cada eritrócito.

$$HCM = \frac{\text{Taxa de hemoglobina} \times 10}{\text{número de Eritrócitos}} = \text{pg}$$

- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (*CHCM*): relacionada à concentração do pigmento hemático nos eritrócitos.

$$CHCM = \frac{\text{Taxa de hemoglobina} \times 100}{\text{Hematócrito}} = \text{g dL}^{-1}$$

2.3. Bioquímica plasmática

Após a leitura do microhematócrito, o capilar foi quebrado para separação da fração plasmática e realizado o proteinograma por meio da leitura de proteína plasmática total pela técnica de refratometria em um refratômetro clínico portátil (bbrix, RHC200).

Para análises bioquímicas e enzimáticas foi realizada a centrifugação do sangue por 10 minutos a 3.000 rpm, e o plasma foi dividido em dois microtubos que foram mantidos em ultrafreezer (-80°C) até o processamento. O plasma foi processado em até 30 dias para as análises simultâneas de ALT, AST, colesterol, triglicerídeos, glicose e ureia. O processamento foi realizado no analisador de acesso randômico para dosagem por absorvância e turbidimetria (Humanstar 300), com kits comerciais padronizados da marca Bioclin®.

2.4. Morfometria de brânquias

Após coleta de sangue os peixes foram anestesiados e eutanasiados em Eugenol (300 mg.L⁻¹). Para análises histológicas, foram coletadas brânquias de três peixes por tanque, totalizando oito peixes por tratamento. As amostras foram coletadas e fixadas em líquido de Bouin por 24 horas e, em seguida, foram lavadas para retirada da solução fixadora contendo ácido pícrico e mantidas em álcool 70%.

Em seguida, foram infiltradas em resina:álcool, depois resina pura, e na sequência emblocadas, sendo obtidos cortes histológicos semisseriados com 3-5 μm de espessura em micrótomo rotativo (Leica), utilizando-se navalha de vidro. Os cortes foram submetidos à coloração pela técnica de azul de toluidina. As lâminas foram montadas com Entellan[®] (Merck, #107960) para análise em microscópio de luz (Olympus CX31, Philipinas).

Para análise morfométrica foi utilizada a metodologia adotada por Carlos (2006) com o auxílio do software ImageJ versão 1.48 (*National Institutes of Health, USA*), a partir das imagens digitais obtidas de cinco lamelas primárias por animal na objetiva de 10x. Foram utilizados oito peixes de cada tratamento, resultando em 40 aferições para cada uma dessas regiões, sendo mensurados a espessura da lamela primária (ELP), o diâmetro do vaso central da lamela primária (DV), bem como o comprimento de lamelas secundárias (LS) nos terços basal (b), médio (m) e apical (a) das lamelas primárias. Foram mensurados os comprimentos de 10 lamelas secundárias nos terços basal, médio e apical da lamela primária por animal, resultando em 80 aferições para essa variável. A celularidade (CE) foi calculada subtraindo-se o diâmetro do vaso da espessura da lamela primária (Figura 3).

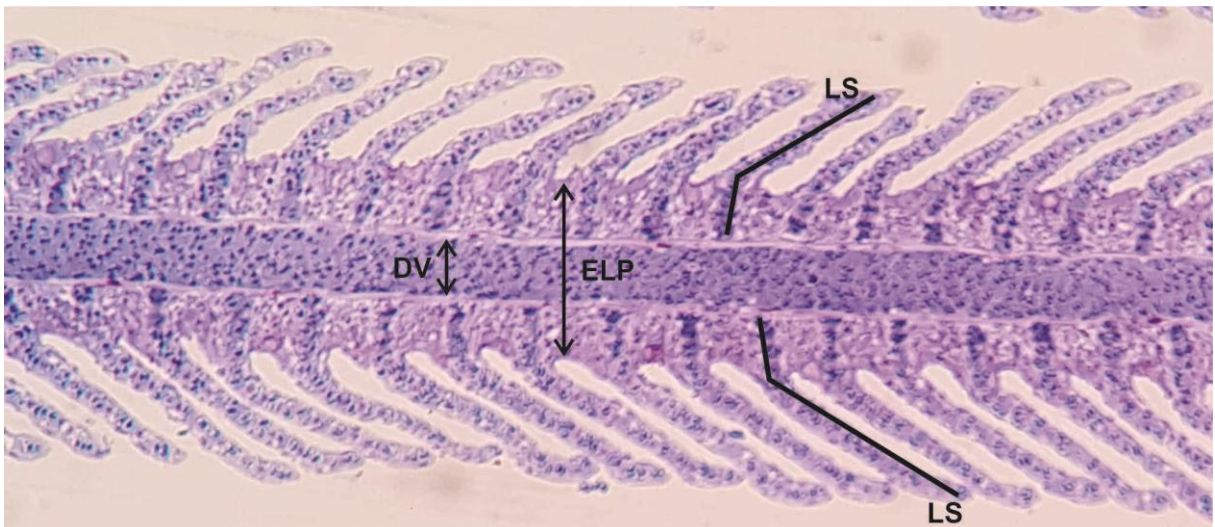


Figura 3 - Brânquias de juvenis de tilápias (*Oreochromis niloticus*), utilizadas para aferição de espessura de lamela primária (ELP), diâmetro de vaso central (DV) e comprimento de lamela secundária (LS). Coloração: azul de toluidina. Foto: Joana D'Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).

2.1. Análises estatísticas

Os dados e seus resíduos foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e, quando não foi observada normalidade, os mesmos foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Atendendo a normalidade, foi aplicado o teste ANOVA seguido do teste de Tukey, todos ao nível de 5% de significância. Para execução dos testes estatísticos e gráficos foram utilizados os programas Infostat (Di Rienzo et al., 2015) e R para Windows (R Core Team, 2020).

3. RESULTADOS

A avaliação dos parâmetros de qualidade de água mostrou que a temperatura média esteve em $26,55 \pm 1,14^{\circ}\text{C}$, com oxigênio dissolvido de $5,07 \pm 1,01 \text{ mg.L}^{-1}$ e pH $5,94 \pm 0,68$. A salinidade foi mantida em torno de $2,39 \pm 0,33 \text{ g.L}^{-1}$. A alcalinidade variou de 5 a 215 mg.L^{-1} de CaCO_3 , mas manteve-se abaixo de 50 mg.L^{-1} na maior parte do período experimental. O N-AT manteve média abaixo de 2 mg.L^{-1} e o nitrito apresentou média abaixo de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Ao final do experimento, a média de nitrato dos tratamentos ficou em 443,51 (Milho - MI); 476,38 (Açúcar - AC); 592,18 (Milho desintegrado com palha e sabugo - MDPS); 637,58 (Polpa cítrica - PC) e 697,62 mg.L^{-1} (Bagaço de cana - BC). Ao final do período experimental, os sólidos sedimentáveis não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos (AC - $31,25 \pm 3,05$; MI - $32,25 \pm 3,05$; BC - $36,50 \pm 3,05$; PC - $39,00 \pm 3,05$; MDPS - $40,75 \pm 3,05$).

Os dados de desempenho produtivo não mostraram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos, tanto no início (peso médio individual - AC - $0,05 \pm 0,01$, BC - $0,048 \pm 0,00$, MI - $0,04 \pm 0,00$, MDPS - $0,05 \pm 0,00$ e PC - $0,04 \pm 0,00 \text{ g}$) quanto no final do período experimental (peso médio individual - AC - $0,17 \pm 0,01$, BC - $0,17 \pm 0,02$, MI - $0,17 \pm 0,02$, MDPS - $0,16 \pm 0,02$ e PC - $0,16 \pm 0,02 \text{ g}$).

3.1. Eritrograma, leucograma e trombograma

A análise das variáveis Ht, RBC, VCM, HCM e WBC não mostrou diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos.

Houve efeito ($p < 0,05$) das fontes de carbono utilizadas nos bioflocos sobre a Hb e CHCM. Os peixes mantidos nos bioflocos com fontes de MI, MDPS e PC apresentaram maiores valores de Hb em relação às tilápias mantidas em bioflocos com a fonte de carbono de AC. A concentração de hemoglobina dos peixes submetidos ao bioflocos em que foi utilizado o BC como fonte de carbono foi similar a das tilápias dos tratamentos com fontes de AC, MI, MDPS e PC (Tabela 2).

Os peixes mantidos em bioflocos em que se utilizou MI como fonte de carbono apresentaram maiores valores de CHCM em relação às tilápias mantidas no bioflocos em que foi utilizado AC. Os valores de CHCM foram iguais para os tratamentos AC, BC, MDPS e PC.

Os leucócitos não diferiram ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Os trombócitos do tratamento MDPS apresentaram valores superiores ($p < 0,05$) aos tratamentos AC, BC, MI e PC (Tabela 3).

3.2. Bioquímica plasmática

A análise e determinação das variáveis bioquímicas e enzimáticas, mostrou que a ALT diferiu entre os tratamentos ($p < 0,05$). Para os tratamentos AC, PC, MI e MDPS os valores foram menores em relação à fonte BC, sendo que esta não diferiu do MI e MDPS. Os níveis de AST, colesterol, triglicerídeos, glicose, ureia e proteína total não diferiram ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 4).

3.3. Morfometria de brânquias

A espessura da lamela primária (ELP), o diâmetro de vaso (DV) e a celularidade (CE) das brânquias de *Oreochromis niloticus* do presente experimento mostraram menores valores ($p < 0,05$) na fonte BC de um modo geral, seguida pelo AC. A fonte PC reportou valores iguais ($p > 0,05$) à fonte controle nos parâmetros ELPb, ELPm, DVb, DVm, CEm e iguais à fonte BC para ELPa, DVa. O MI apresentou maiores valores ($p < 0,05$) para as variáveis ELPm, ELPa, DVm e CEa, sendo os demais iguais à fonte controle (AC). O MDPS e a fonte controle apresentaram valores próximos entre si para a maioria dos parâmetros, exceto em ELPm, DVm e CEa que se igualaram ao MI, e o DVa igual à fonte BC (Tabela 5).

Em relação ao comprimento das lamelas secundárias (LS), as fontes MI, PC e AC foram iguais e maiores na porção basal, seguida por BC, MI E PC, e em menor comprimento MDPS, MI e BC. Para o comprimento da LSm, o MI teve menor comprimento em relação às demais fontes testadas. As LSa não mostraram diferenças entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 2 - Eritrograma de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.

Variáveis	AC (n=28)	BC (n=27)	MI (n=26)	MDPS (n=28)	PC (n=27)	CV	p
Ht (%)	32,46 ± 3,6	32,04 ± 5,81	31,69 ± 4,81	32,64 ± 4,82	34,41 ± 5,18	14,36	0,2096
Hb (g.dL ⁻¹)	8,4 ± 1,49 ^a	9,01 ± 2,31 ^{ab}	10,01 ± 2,76 ^b	11,91 ± 4,11 ^b	9,71 ± 1,15 ^b	15,77	0,0015
RBC (Eri x10 ⁶ µL)	2,24 ± 0,33	2,31 ± 0,30	2,26 ± 0,38	2,37 ± 0,30	2,34 ± 0,36	13,44	0,3288
VCM (fL)	147,21 ± 20,04	139,95 ± 29,95	144,75 ± 35,42	138,57 ± 18,88	147,94±18,89	15,37	0,2282
HCM (pg)	38,06 ± 7,12	39,36 ± 9,83	45,84 ± 15,19	51,56 ± 21,17	42,14 ± 7,00	18,75	0,1040
CHCM (g.dL ⁻¹)	26,17 ± 5,28 ^a	28,84 ± 7,56 ^{ab}	32,71 ± 11,94 ^b	38,06 ± 17,75 ^{ab}	28,62 ± 3,96 ^{ab}	18,57	0,0684
WBC (µL x 10 ⁶)	0,14±0,12	0,12±0,10	0,10±0,06	0,12±0,07	0,13±0,08	67,33	0,8718

Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem entre si, de acordo com os testes utilizados. Ht (Hematócrito): CV 14,36 – SNK; Hb (hemoglobina): CV 15,77- Duncan; RBC (eritrócitos): CV 13,44- SNK; VCM (volume corpuscular médio): CV 15,37 - Duncan; HCM (hemoglobina corpuscular média): CV 18,75 - Kruskal-Wallis; CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média): CV 18,57– Duncan; WBC (CV 63,33). Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

Tabela 3 - Leucograma e trombograma de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.

Variáveis	AC	BC	MI	MDPS	PC	CV	p
WBC (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,11±0,12	0,12±0,10	0,11±0,13	0,10±0,06	0,13±0,07	69,68	0,7057
Linfócitos (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,06±0,03	0,05±0,03	0,06±0,03	0,06±0,03	0,06±0,03	47,26	0,7696
Monócitos (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,05±0,12	0,06±0,08	0,02±0,10	0,03±0,05	0,03±0,08	118,70	0,8714
Neutrófilos (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,0009±0,003	0,00±0,003	0,0022±0,044	0,0014±0,004	0,0011±0,005	349,47	0,1810
Eosinófilos (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,0005	0,00±0,0038	0,00±0,0005	624,43	0,0766
Trombócitos (µL ⁻¹ x 10 ⁶)	0,003±0,01 ^{ab}	0,001±0,01 ^a	0,001±0,008 ^a	0,01±0,01 ^b	0,001±0,01 ^a	132,65	0,0037

Medianas seguidas por diferentes letras na linha diferem entre si, de acordo com os testes Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC).

Tabela 4 - Bioquímica plasmática de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.

Variáveis	AC (n=24)	BC (n=26)	MI (n=25)	MDPS (n=22)	PC (n=25)	CV	p
ALT (U.L ⁻¹)	48,5 ± 32,55 ^a	77,0 ± 69,81 ^b	63,0 ± 42,69 ^{ab}	60,0 ± 77,02 ^{ab}	47,0 ± 64,69 ^a	80,04	0,0367
AST (U.L ⁻¹)	172,0 ± 151,45	198,8 ± 201,05	176,3 ± 220,85	167,75 ± 176,66	202,4 ± 201,17	77,50	0,8902
Colesterol (mg.dL ⁻¹)	147,5 ± 47,9	175,5 ± 36,61	148,0 ± 35,29	155,0 ± 32,27	167,0 ± 38,31	24,51	0,0905
Triglicerídeos (mg.dL ⁻¹)	227,5 ± 149,91	326,0 ± 175,12	233,0 ± 198,84	304,5 ± 151,97	259,0 ± 148,71	53,98	0,1838
Glicose (mg.dL ⁻¹)	46,5 ± 13,06	50,5 ± 21,92	47,0 ± 29,95	46,5 ± 27,78	46,0 ± 13,68	43,53	0,6063
Ureia (mg.dL ⁻¹)	14,62 ± 12,55	16,88 ± 13,49	15,01 ± 15,65	13,65 ± 6,82	17,38 ± 14,74	72,16	0,5082
Proteína total (g.dL ⁻¹)	5,0 ± 0,60	5,40 ± 0,55	5,05 ± 0,53	5,20 ± 0,59	4,9 ± 0,57	11,74	0,2408

Medianas seguidas por diferentes letras na linha diferem entre si, de acordo com os testes de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC). Alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST).

Tabela 5 - Espessura, diâmetro do vaso central e celularidade da lamela primária, e comprimento de lamela secundária nos terços basal, médio e apical de brânquias de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono.

Variáveis	AC	BC	MI	MDPS	PC	p
Espessura de lamela primária						
Basal (n=40)	127,98±33,30 ^b	88,98±21,82 ^a	126,10±40,83 ^b	137,39±38,12 ^b	117,63±32,21 ^b	<0,0001
Médio (n=40)	124,81±44,17 ^b	100,06±29,60 ^a	168,81±58,73 ^c	142,41±35,70 ^{bc}	135,86±25,43 ^b	<0,0001
Apical (n=40)	164,93±41,63 ^b	142,03±41,03 ^a	183,00±35,03 ^c	163,38±44,02 ^b	137,66±30,27 ^a	<0,0001
Diâmetro de vaso central						
Basal (n=40)	40,94±11,21 ^b	28,52±9,00 ^a	41,96±24,39 ^b	62,85±29,07 ^b	42,01±26,94 ^b	<0,0001
Médio (n=40)	38,58±16,26 ^b	31,16±11,00 ^a	52,33±52,46 ^c	53,32±28,03 ^c	40,82±14,44 ^b	<0,0001
Apical (n=40)	51,65±32,86 ^a	53,43±31,83 ^a	88,15±26,61 ^b	56,14±35,24 ^a	45,06±26,37 ^a	0,0003
Celularidade						
Basal (n=40)	81,47±28,44 ^b	61,36±19,75 ^a	83,03±33,04 ^b	78,91±28,26 ^b	66,47±21,33 ^{ab}	0,0019
Médio (n=40)	87,03±36,15 ^b	64,42±23,82 ^a	94,64±28,91 ^b	85,09±25,16 ^b	93,19±23,55 ^b	<0,0001
Apical (n=40)	115,43±27,72 ^d	78,83±30,14 ^a	103,17±33,05 ^{cd}	96,37±26,13 ^{bc}	88,07±26,15 ^{ab}	<0,0001
Comprimento de lamela secundária						
Basal (n=80)	171,68± 35,21 ^c	154,32± 38,12 ^{ab}	166,48± 32,67 ^{abc}	154,18± 37,77 ^a	165,58±33,37 ^{bc}	0,0086
Médio (n=80)	164,93±41,12 ^b	172,07±48,13 ^b	143,77±39,47 ^a	154,22±45,32 ^b	157,30±42,41 ^b	0,0006
Apical (n=80)	204,93±49,79	174,73±34,52	184,04±44,21	183,47±44,97	184,10±54,92	0,0532

Medianas seguidas por diferentes letras na linha diferem entre si, de acordo com os testes utilizados. Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Açúcar (AC), bagaço de cana (BC), milho (MI), Milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS), polpa cítrica (PC). Espessura lamela primária no terço basal (ELPb); Espessura lamela primária no terço médio (ELPm); Espessura lamela primária no terço apical (ELPa); Diâmetro de vaso no terço basal (DVb); Diâmetro de vaso no terço médio (DVm); Diâmetro de vaso no terço apical (DVa); Celularidade no terço basal (CEb); Celularidade no terço médio (CEm); Celularidade no terço apical (CEa); Lamela secundária no terço basal (LSb); Lamela secundária no terço médio (LSm); Lamela secundária no terço apical (LSa).

4. DISCUSSÃO

A qualidade da água do sistema foi mantida dentro dos parâmetros recomendados para tilápias durante o período experimental. A alcalinidade apresentou altas flutuações (5 a 215 mg.L⁻¹), assim como os estudos de Azim e Little (2008) que encontraram variação de 8 a 250 mg.L⁻¹, fato que ocorreu mesmo com as correções realizadas.

Durante o amadurecimento dos bioflocos é de se esperar que ocorra o pico de N-AT e nitrito, o que aconteceu neste estudo. Contudo estes não ultrapassaram os níveis considerados tóxicos para os peixes, sendo que a N-AT manteve uma média abaixo de 2 mg.L⁻¹ e o nitrito com média abaixo de 0,5 mg.L⁻¹. O valor de nitrato é acumulativo durante o experimento, e por ser menos tóxico, não gera perdas no sistema. Os valores (medianas) de nitrato registrados ao final do experimento foram de 488,60 a 564,71 mg.L⁻¹ e não ultrapassaram o intervalo considerado seguro que, para a maioria das espécies, podem tolerar altos níveis, entre 1.000 e 3.000 mg.L⁻¹ (Arana, 1997).

4.1. Eritrograma, leucograma e trombograma

No eritrograma houve alteração na concentração da Hb, apresentando menores valores nos tratamentos controle (AC) e BC, e valores mais elevados nos tratamentos com MDPS, MI e PC. De acordo com Hrubec et al. (2000), os valores de referência para tilápias produzidas em sistemas de alta densidade, pesando em média 240g, são de 7,0-9,8 g.dL⁻¹ de Hb. Com base no estudo desses autores, os tratamentos MI e MDPS estiveram acima do limite esperado.

Os valores de HCM e CHCM estiveram acima do padrão de referência para MI e MDPS, estipulados por Hrubec et al. (2000; 28,3-42,3 g.dL⁻¹ e 22-29 g.dL⁻¹, respectivamente). No presente estudo, o HCM não apresentou diferença e o CHCM apresentou maior concentração nas fontes MI e MDPS. Esses índices são dependentes da taxa de Hb. De acordo com Tavares-Dias e Moraes (2004), o aumento na concentração da hemoglobina durante um estímulo de estresse pode ser causado pelo aumento na demanda de consumo de oxigênio; dessa forma, o aumento da Hb sugere maior capacidade de transporte de oxigênio devido ao aumento na demanda energética.

Neste estudo não foram observadas elevações constantes de nitrito, uma vez que não houve redução nos valores de Hb e Ht. A redução dos valores para Hb e Ht está diretamente ligada à presença de nitrito tóxico no sistema, que leva à formação de metahemoglobina (Martins et al., 2017) quando o nitrito entra no sangue por intermédio das brânquias, oxidando o Fe^{++} a Fe^{+++} e reduzindo a afinidade com o oxigênio, dificultando assim o processo de respiração (Avnimelech, 2009).

Bittencourt et al. (2003) realizaram um estudo para investigar valores hematológicos e bioquímicos de referência para a tilápia do Nilo cultivada em sistema semi-intensivo. Estes autores estabeleceram uma matriz de correlação para comparação dos graus de associação entre os dados biométricos e parâmetros hematológicos, e entre estes e os valores bioquímicos. Os resultados destes autores mostraram uma correlação positiva entre peso, comprimento, VCM e HCM, bem como entre o comprimento e Ht. Desta forma, conclui-se que as alterações da Hb e CHCM do presente experimento não estão diretamente ligadas ao peso dos peixes, pois os mesmos não apresentaram diferenças significativas em ganho de peso.

Tavares-Dias e Moraes (2004) mencionam que os eritrócitos maduros são as células mais numerosas no sangue e sua função é o transporte de oxigênio e gás carbônico pela hemoglobina. Nesse sentido, a contagem de RBC neste estudo não apresentou diferenças nos tratamentos, validando o uso das diferentes fontes de carbono avaliadas. A análise do sangue em peixes facilita a detecção de alterações orgânicas nos organismos e os desvios das condições normais observadas no sangue (Oliveira Ribeiro et al., 2000), auxiliando na avaliação das condições do ambiente em que se encontram.

Vosyliéné (1999) afirma que o estresse leva à ação de glicocorticoides no organismo dos peixes, havendo alterações dos níveis de cortisol no sangue, o que acarreta modificações fisiometabólicas que são observadas no aumento dos eritrócitos e na redução do VCM. Este evento não foi registrado neste estudo, estando os dados dentro dos valores de referência (115-183 fL) citados por Hrubec et al. (2000).

Em um momento de estresse, há liberação de catecolaminas e corticosteroides na corrente sanguínea dos peixes, causando mudanças fisiológicas no animal (Poli et al., 2021). Um dos efeitos causados pelas catecolaminas é o aumento da capacidade de oxigenação no sangue, o que faz com que, entre outros mecanismos, haja um aumento do volume dos eritrócitos, aumentando os níveis do

hematócrito (Wendelaar Bonga, 2011), surtindo efeito inverso no CHCM, o que também não ocorreu neste estudo.

Enquanto a série vermelha auxilia na avaliação clínica de identificação de processos anêmicos, o leucograma auxilia no diagnóstico de doenças infecciosas (Tavares-Dias e Moraes, 2004). A contagem de WBC não apresentou diferenças entre os tratamentos, o que também não ocorreu com a contagem diferencial leucócitos. O aumento do número de leucócitos pode ser observado no início de um processo de estresse na maioria dos peixes, como forma de recuperação da homeostase em desequilíbrio (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Entretanto, Tavares-Dias et al. (2001) citam diversos autores que demonstraram neutrofilia em peixes estressados, acompanhando a linfocitopenia. Assim, situações de estresse geram alterações em parâmetros hematológicos, redução de leucócitos, causando linfocitopenia (redução de linfócitos) e neutrofilia (aumento dos neutrófilos circulantes) (Tavares-Dias e Moraes, 2004), o que não ocorreu no presente estudo, sugerindo que o BFT não induziu processos inflamatórios nas tilápias juvenis.

Por outro lado, o trombograma apresentou diferenças dos tratamentos BC, MI e PC com o MDPS, sendo todos iguais ao AC. O MDPS apresentou valor maior de trombócitos. Os trombócitos são células de defesa orgânica, assim como os leucócitos; no entanto, há grande variação na contagem total destas células devido a diversos fatores, dentre eles a variação interespecífica e diferença de metodologias empregadas, como proposto por Tavares-Dias e Moraes (2004).

4.2. Bioquímica plasmática

Os níveis de ALT encontrados neste experimento, mesmo apresentando diferenças entre os tratamentos se mantiveram dentro dos padrões encontrados por Rodrigues et al. (2018), sendo a média de $52,02 \pm 34,6 \text{ UL}^{-1}$ para tilápias do Nilo com 0,9 a 1,1 Kg. Isso demonstra que, possivelmente, o ALT não sofreu interferência pelo tratamento. A AST não apresentou diferenças entre os tratamentos, mas apresentou grande variação e os valores deste estudo estão acima dos observados por Rodrigues et al. (2018) ($102,91 \pm 51,92 \text{ UL}^{-1}$). Os níveis de ureia encontrados neste estudo não apresentaram diferenças entre os tratamentos e se encontram dentro dos valores de referência observados por Rodrigues et al. (2018) ($18,32 \pm 5,45 \text{ mg.dL}^{-1}$). Esse aumento pode estar relacionado a diversos fatores, como

ambiente, densidade e concentração de amônia mais elevada, com a concentração plasmática da ureia tornando-se elevada para reduzir a intoxicação pela amônia.

A glicose tem sido usada como indicador de estresse fisiológico nos peixes pois é de fácil determinação (Silva et al. 2012; Wedemeyer et al. 1990). No presente estudo, a glicose não apresentou diferença entre os tratamentos, e os valores encontrados estão próximos aos demonstrados por Bittencourt et al. (2003), que encontraram média de $60,32 \pm 20,22 \text{ mg.dL}^{-1}$ para tilápias do Nilo em sistema semi-intensivo. Silva et al. (2012), estudando os parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo sob estresse por exposição ao ar encontraram níveis de glicose de $82,39 \pm 18,84 \text{ mg.dL}^{-1}$, indicando que a elevação nos níveis de glicose é uma consequência da situação de estresse.

Os valores de colesterol, triglicerídeos e proteína total deste estudo não apresentaram diferenças entre os tratamentos e se assemelharam aos valores encontrados por Rodrigues et al. (2018), que avaliaram as variações de parâmetros bioquímicos séricos de tilápias criadas em tanques rede e encontraram valores médios de $185,08 \pm 73,1 \text{ mg.dL}^{-1}$ para colesterol, $258,27 \pm 88,92 \text{ mg.dL}^{-1}$ para triglicerídeos e $5,64 \pm 1,16 \text{ g.dL}^{-1}$ para proteínas totais. Esses valores permitem perceber que há ampla variação dos parâmetros bioquímicos, pois podem ser influenciados por diversos fatores como idade, peso, espécie, manejo, nutrição, dentre diversos outros fatores. Silva et al. (2012) submeteram tilápias do Nilo ao estresse e encontraram médias de $99,19 \pm 17,30 \text{ mg.dL}^{-1}$ para colesterol, $195,09 \pm 55,61 \text{ g.dL}^{-1}$ para triglicerídeos e $2,92 \pm 10,02 \text{ g.dL}^{-1}$ para proteína total, que estão abaixo dos valores deste estudo. As características hematológicas (bioquímicas e enzimáticas) podem refletir o estado nutricional devido alterações na dieta, pois permite identificar mudanças fisiológicas nos animais. Os parâmetros séricos como níveis de proteínas totais, triglicerídeos e colesterol são indicativos de resposta a um determinado alimento (Rossato et al., 2013).

4.3. Morfometria de brânquias

Houve diferença ($p < 0,05$) na espessura das lamelas primárias, diâmetro do vaso central da lamela primária, celularidade e comprimento de lamelas secundárias entre os tratamentos. Alterações morfofisiológicas nos tecidos branquiais podem não ser necessariamente um indicador negativo, podendo ser consideradas uma

remodelação ou adaptação ao meio para atender as necessidades fisiológicas (Nilsoon, 2007; Alvarenga et al., 2018), o que pode ser evidenciado pela diferença ($p < 0,05$) na espessura das lamelas primárias, diâmetro de vasos, celularidade e comprimento de lamelas secundárias entre os tratamentos. Essas alterações são observadas, principalmente, quando há alteração do meio, como presença de agrotóxicos (Marcon et al., 2016), excesso de sólidos suspensos (Emerenciano et al., 2013), temperatura da água ou menor disponibilidade de oxigênio (Kubtiza, 1997).

Desta forma, a variação no diâmetro do vaso central da lamela primária pode ser uma forma de compensação por meio do relaxamento ou contração das células pilares nas lamelas primárias, aumentando ou reduzindo a área da superfície respiratória (Nilsoon, 2007). A redução do comprimento das lamelas secundárias pode ser consequência da fusão lamelar, podendo atingir o estágio I e II de acordo com os autores Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994). Neste estudo foram encontradas alterações em todos os parâmetros morfométricos analisados nas brânquias, indicativos de lesão nos tecidos branquiais.

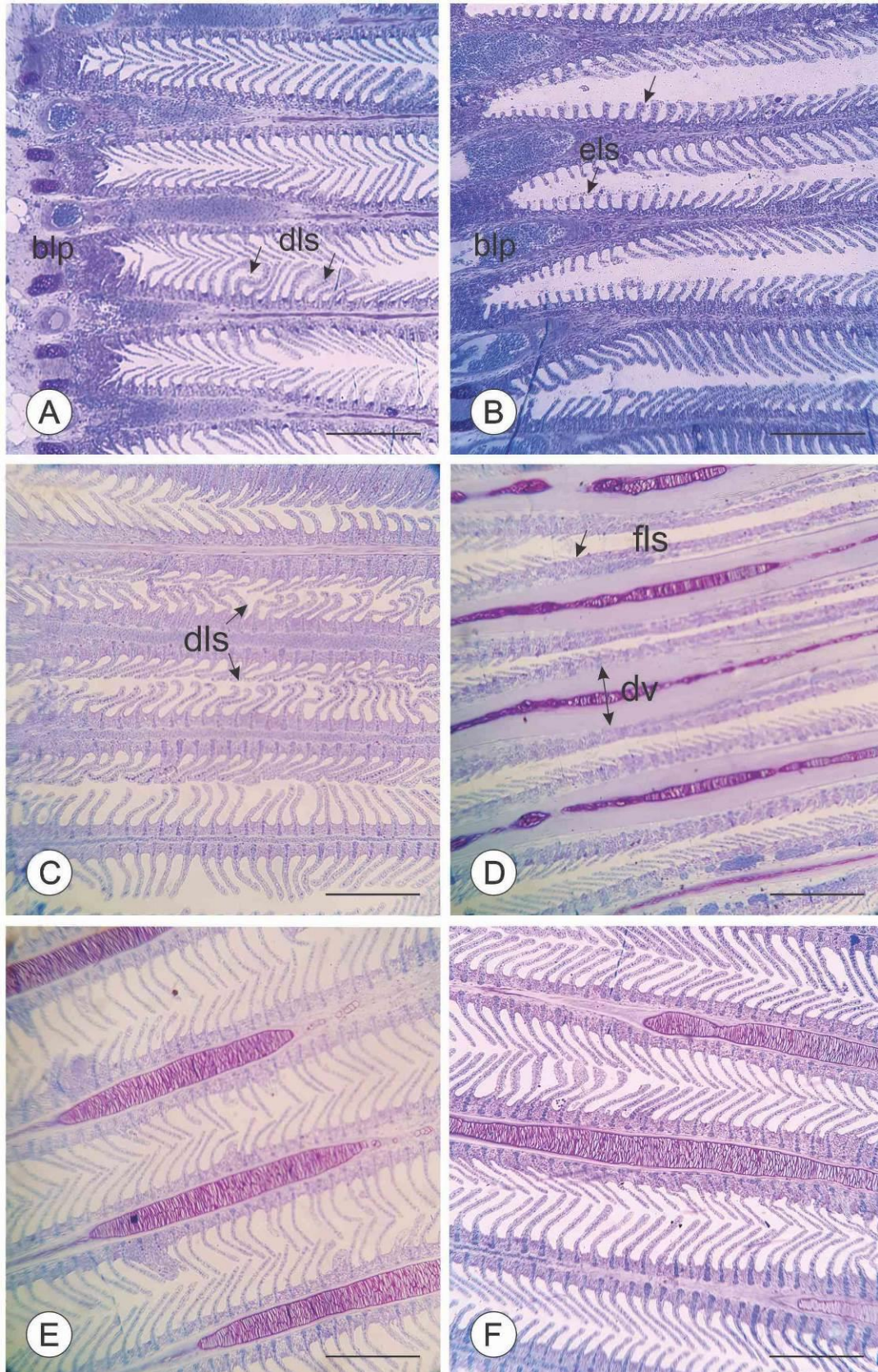


Figura 4 - Fotomicrografias de brânquias de tilápias (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema de bioflocos utilizando diferentes fontes de carbono. A e B – terço basal; C e D – terço médio; E e F – terço apical. dls = desarranjo de lamela secundária, els = encurtamento de lamela secundária, fls = fusão de lamelas secundárias, dv = dilatação de vasos. Coloração: azul de toluidina. Objetiva: 10x. Barra: 1.000 µm. Fotos: Joana D’Arc Silveira Souza, DVT-UFV, Viçosa (2021).

5. CONCLUSÕES

As diferenças encontradas neste estudo não demonstraram impacto da qualidade na água, produção e estado nutricional de tilápias juvenis produzidas em sistema de BFT com diferentes fontes de carbono, devido a características fisiológicas de adaptação da espécie em estudo. Neste sentido, as fontes de carbono testadas podem ser utilizadas como recursos para redução nos níveis de compostos nitrogenados em sistemas BFT para produção intensiva de tilápias juvenis como alternativa ao açúcar.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil em forma de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

- Adineh, H., Naderi, M., Khademi Hamidi, M., Harsij, M. (2019). Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density, **Fish and Shellfish Immunology**. 95, 440-448. Elsevier Ltda. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.057>
- Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Costa, G.R., Silva, M.A., Teixeira, E.A., Turra, E.M., (2018). Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. **Aquaculture Research**. 49, 2919-2926. <https://doi.org/10.1111/are.13728>
- Arana, L.V. (1997). **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura - uma revisão para peixes e camarões**. Ed. UFSC. Florianópolis. 166p.
- Avnimelech, Y. (2009). Biofloc technology - A practical guide book. 1st. ed. Louisiana, United States: **World Aquaculture Society**. 182p.
- Azim, M.E; Little, D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>
- Baldisserotto, B., Eurico, J., Cyrino, P., Urbinati, E.C. (2014). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal. Ed. Funep. 336p.
- Bittencourt, N. L.R., Molinari, L.M., Scoaris, D. O., Pedroso, R.B., Nakamura, C.V., Ueda-Nakamura, T., Abreu Filho, B.A., Dias Filho, B.P. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. 25, 385–389. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v25i2.2028>

Carlos, J. (2006). **Estudo morfológico e morfométrico do intestino delgado de camundongos imunodeprimidos submetidos a dieta enteral contendo prebiótico e contaminada por *klebsiella pneumoniae***. [Tese]. Departamento de Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 77f.

Collier, H.B. (1944). The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, 50(1), 550-552.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 356-357, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2015). **InfoStat versión 2015**. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Diniz, N. M.; Honorato, C. A. (2012). Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo - revisão. **Arquivos Ciências Veterinárias e Zoologia**. UNIPAR, Umuarama, 15(2), 149-154, jul./dez.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Arévalo, M., Mascaró Miquelajauregui, M., Gaxiola, G. (2013). Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance, biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared under biofloc conditions. **Aquaculture International**. 21, 987-1007. <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9607-4>

Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosious, E. (1971). Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, 56, 35-39.

Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., Smith, S.A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**. 29, 7-12. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x>

Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F. (2015). Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 448, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.017>

Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H. (2014). 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**, 422-423, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A., Assumpção, A.F., Cardoso, A.C., De Sales, S.C.M., Teixeira, E.A., Silva, M.A., Turra, E.M. (2020). Effects of a zero exchange biofloc system on the growth performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. **Aquaculture**, 521, 735064. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735064>

Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, E.R., Alves, G.F.O., Ferreira, N.H., Teixeira, E.A., Fernandes, A.F.A., Silva, M.A., Turra, E.M. (2021). Effects of different stocking densities on Nile tilapia performance and profitability of a biofloc system with a minimum water exchange. **Aquaculture**, 530, 735814. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735814>

Mansour, A.T., Esteban, M.A. (2017). 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 and Shellfish Immunology**, 64, 202-209. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>

Marcon, L., Lopes, D.S.; Munteer, A.H.; Goulart, A.M.A.; Leandro, M.V.; Benjamin, L.A. (2016). Pathological and histometric analysis of the gills of female *Hyphessobrycon eques* (Teleostei: Characidae) exposed to different concentrations of the insecticide Dimilin. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 131, 135-142.

Martins, G.B.; Tarouco, F.; Rosa, C.E.; Robaldo, R.B. (2017). 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**, 468, 10-17.

Menaga, M., Felix, S., Charulatha, M., Gopalakannan, A., Panigrahi, A. (2019). Effect of in-situ and ex-situ biofloc on immune response of genetically improved farmed tilapia. **Fish and Shellfish Immunology**, 92, 698-705. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.06.031>

Nilsoon, G. E. (2007). Gill remodeling in fish – a new fashion or an ancient secret? **Journal of Experimental Biology**, 210, 2403-2409. <https://doi.org/10.1242/jeb.000281>

Oba, T. E.; Mariano, S. W.; Romagreira, L. (2009). **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável**. In: Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Tavares-Dias, M. (Org.) Macapá: Embrapa. cap 8. 22p.

Oliveira-Junior, A.A.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J.L. (2009). Biochemical and hematological reference range for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. **Research in Veterinary Science**, 86, 146-151. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.015>

Oliveira Ribeiro, C. A.; Pelletier, E.; Pfeiffer, W. C.; Rouleau, C. (2000). Comparative uptake, bioaccumulation, and gill damages of inorganic mercury in tropical and Nordic freshwater fish. **Environmental Research**, 83, 286-292. <https://doi.org/10.1006/enrs.2000.4056>

Panigrahi, A., Sundaram, M., Saranya, C., Swain, S., Dash, R.R., Dayal, J.S. (2019). Carbohydrate sources differentially influence growth performances, microbial dynamics and immunomodulation in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under biofloc system. **Fish and Shellfish Immunology**, 86, 1207-1216. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.040>

Poleksic, V.; Mitrovic-Tutundzic, V. (1994). Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Muller, R.; Lloyd, R. Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish. United Nation: **Fishing News Books**, 30, 339-352.

Poli, M.A., Martins, M.A., Pereira, S.A., Jesus, G.F.A., Martins, M.L., Mouriño, J.L.P., Vieira, F.N. (2021). Increasing stocking densities affect hemato-immunological parameters of Nile tilapia reared in an integrated system with Pacific white shrimp using biofloc technology. **Aquaculture**, 536, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736497>

R Core Team (2020). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing II, Vienna, Austria.

Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B. de, Tavares-Dias, M., Egami, M.I. (2013). **Métodos para análise hematológica em peixes**. Fapesp, Maringá. 135p.

Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L., Leffler, J.W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, 299, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>

Rodrigues, G.M., Nascimento, F.G.D.O., Bizare, A., Oliveira, W., Guimarães, E.C., Mundim, A.V. (2018). Serum biochemical profile of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) bred in net cages during summer and winter. **Acta Scientiae Veterinariae**, 46, 1-8. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81814>

Rossato, S., Pretto, A., de Freitas, I.L., Kelm Battisti, E., Lazzari, R., Radünz Neto, J., (2013). Incorporação de farinhas de resíduos de Jundiá na dieta: Bioquímica plasmática, parâmetros hepáticos e digestivos. **Ciência Rural** 43, 1063-1069. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000600019>

Silva, M.A. (2016). **Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos em duas fases de crescimento**. [Dissertação]. Universidade Federal de Minas Gerais. 84f.

Silva, R.D., Rocha, L. O., Fortes, B. D. A., Vieira, D., Fioravanti, M.C.S. (2012). Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(1), 99-107.

Tavares-Dias, M.; Martins, M.L.; Moraes, F.R. (2001). Fauna parasitária de peixes oriundos de pesque-pagues do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, 8, 67-79.

Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. (2003). Características hematológicas de *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 capturada em “Pesque-Pague” de Franca, São Paulo, SP, Brasil. **Bioscience Journal**, 19, 103-110.
<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6443>

Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. (2004). **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias. 144p.

Thrall, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed., Ed Roca, 2007, 582p.

Ueda, I.K., Egami, M.I., Sassp, W. S., Matushima, E.R. (1997). Estudos hematológicos em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) - Parte I. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 34, 270.
<https://doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v34i5p270-275>

Vosylienė, M.Z. (1999). The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). **Acta Zoologica Lituanica**. 9, 76-82.

Wendelaar Bonga, S.E. (2011). Hormonal responses to stress | Hormone Response to Stress, **Encyclopedia of Fish Physiology**. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00183-0>

Wedemeyer, G. A., Barton, B. A. & McLeay, D. J. (1990). Stress and acclimation. In **Methods for Fish Biology** (Schreck, C. B. & Moyle, P. B., eds), p. 451–489. Bethesda, MD: American Fisheries Society.

CONCLUSÃO GERAL

Diferentes fontes de carbono podem ser utilizadas com sucesso na produção de tilápias juvenis em BFT, e as mesmas devem ser escolhidas pelo produtor de acordo com o custo e sazonalidade regional.

Embora as alterações nos parâmetros de qualidade da água, tamanho de flocos, parâmetros hematológicos e bioquímicos tenham apresentado diferenças, estas variáveis não impactaram na qualidade da água, na produtividade, na sobrevivência e no bem-estar das tilápias produzidas em sistema de bioflocos empregando diferentes fontes de carbono alternativas como milho, milho desintegrado com palha e sabugo e polpa cítrica.

Quanto a fonte bagaço de cana, os dados foram inconclusivos, sendo necessário mais pesquisas com fontes carbonáceas com maior teor de fibra.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Diferentes fontes de carbono podem ser utilizadas com sucesso em sistema de BFT, no entanto, são necessários estudos mais aprofundados das influências que cada fonte pode provocar no sistema, além de se buscar redução dos custos de produção e das perdas.
- O sistema de BFT é um sistema de produção de peixes e camarões de forma sustentável; porém, são necessárias pesquisas com diferentes espécies e etapas de produção para se garantir que realmente ocorrem ganhos econômicos e sociais.
- É fato que a aquicultura necessita de novas tecnologias de produção para atender a demanda. Mas, ainda são necessárias pesquisas com tecnologias que podem reduzir os custos de produção visando redução dos custos ao produtor.
- Sabe-se que a composição do BFT pode ou não ser alterada pela biomassa microbiana presente no sistema. Por esse motivo, novas pesquisas são necessárias

para averiguar a influência dessa composição na produção de tilápias como também de outras espécies de interesse na produção aquícola.

- São necessárias pesquisas para se estipular valores de referências de padrões hematológicos e bioquímicos de tilápias em sistemas de BFT.

- Pesquisas mais aprofundadas sobre a influência do BFT e das diferentes fontes de carbono sobre o funcionamento e morfologia das brânquias e as lesões produzidas nas mesmas continuam sendo necessárias.

- Outras fontes de carbono podem e devem ser estudadas, além de diferentes períodos experimentais, com coletas de material de estudo em diferentes momentos da pesquisa, buscando-se mais evidências para o amplo uso de produtos que possam servir como fontes de carbono no sistema BFT.

APÊNDICE A

Tabela 1: Intervalos de referência de hematologia para tilápias.

Variáveis	Valores de referência	Autor
Ht (%)	27-37	(Hrubec et al., 2000)*
	27,85±1,65	(Ueda et al., 1997)**
Hb (g.dL ⁻¹)	7,0-9,8	(Hrubec et al., 2000)*
	7,04±0,38	(Ueda et al., 1997)**
RBC (Erix10 ⁻⁶ µL)	1,91-2,83	(Hrubec et al., 2000)*
	2,35±0,12	(Ueda et al., 1997)**
VCM (fL)	115-183	(Hrubec et al., 2000)*
	118,6±3,53	(Ueda et al., 1997)**
HCM (pg)	28,3-42,3	(Hrubec et al., 2000)*
	30,31±1,64	(Ueda et al., 1997)**
CHCM (g.dL ⁻¹)	22-29	(Hrubec et al., 2000)*
	25,78±1,72	(Ueda et al., 1997)**

* Valores mínimos e máximos para híbridos (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) produzidas em sistema de alta densidade. ** Valores médios ± DP (*Oreochromis niloticus*).

Tabela 2: Intervalos de referência de leucograma para tilápias (*Oreochromis niloticus*).

Variáveis	Valores de referência	Autor
WBC	21,56-154,60 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
	16,08 (x10 ³ /mm ³)	(Ueda et al., 1997)**
Linfócitos	43,42 (%)	(Ueda et al., 1997)**
	6,78-136,39 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
Linfócitos	6.747,54±408,09 (/mm ³)	(Ueda et al., 1997)**
	6,37 (%)	(Ueda et al., 1997)**
Monócitos	400-4.286 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
	1105,93±208,79 (/mm ³)	(Ueda et al., 1997)**
Neutrófilos	50,08 (%)	(Ueda et al., 1997)**
	557-9.873 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
Neutrófilos	8.200,33±844,92 (/mm ³)	(Ueda et al., 1997)**
	0,04 (%)	(Ueda et al., 1997)**
Eosinófilos	35-1.645 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
	6,25±4,10 (/mm ³)	(Ueda et al., 1997)**
Trombócitos	25,07-85,22 (/µL)	(Hrubec et al., 2000)*
	61,69±±5,96 (x10 ³ /mm ³)	(Ueda et al., 1997)**

* Valores mínimos e máximos para híbridos (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) produzidas em sistema de alta densidade. ** Valores médios ± DP (*Oreochromis niloticus*).

Tabela 3: Intervalos de referência de bioquímica plasmática para tilápias.

Variáveis	Valores de referência	Autor
ALT (U/L)	57,19±42,79	(Rodrigues et al., 2018)*
AST (U/L)	9-102	(Hrubec et al., 2000)**
Colesterol (mg/DL)	110-318	(Hrubec et al., 2000)**
Triglicerídeos	242,02±91,82	(Rodrigues et al., 2018)*
Glicose	30-69	(Hrubec et al., 2000)**
Ureia (mg/dL)	2,25-13,38	(Ueda et al., 1997)***
Proteína total (g/DL)	2,9-6,6	(Hrubec et al., 2000)**

* Valores médios ± DP (*Oreochromis niloticus*) durante a estação de verão criadas em tanques rede. ** Valores mínimos e máximos para híbridos (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) produzidas em sistema de alta densidade. *** Valores médios ± DP (*Oreochromis niloticus*).