

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Utilização do sistema de bioflocos na  
larvicultura de Tilápia-do-nilo**

**Raphael de Leão Serafini**

*Biólogo*

Jaboticabal, SP  
2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Utilização do sistema de bioflocos na  
larvicultura de Tilápia-do-nilo**

**Raphael de Leão Serafini**

**Orientadora: Dra. Maria Célia Portella**

**Co-orientador: Dr. Wilson Wasielesky Jr.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP como requisito para obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

Jaboticabal, SP  
2015

S481u Serafini, Raphael de Leão  
Utilização do sistema de bioflocos na larvicultura de Tilápia-do-  
nilo / Raphael de Leão Serafini. -- Jaboticabal, 2015  
xvi, 92 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de  
Aqüicultura, 2015

Orientadora: Maria Célia Portella

Co-orientador: Wilson Wasielesky Jr.

Banca examinadora: Rodrigo Schweitzer, Lúcia Helena Sipaúba  
Tavares, Rosângela Kiyoko Jomori Bonichelli, Antônio Fernando  
Monteiro Camargo.

Bibliografia

1. Bioflocos. 2. *Oreochromis niloticus*. 3. Larvicultura. 4.  
Qualidade de água. 5. Desempenho zootécnico. I. Título. II.  
Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.034

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

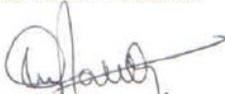
**TÍTULO:** "Utilização do sistema de bioflocos na larvicultura de Tilápia-do-nilo"

**AUTOR:** RAPHAEL DE LEÃO SERAFINI

**ORIENTADORA:** Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA

**CO-ORIENTADOR:** Prof. Dr. WILSON WASIELESKY

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Aquicultura , pela Comissão Examinadora:



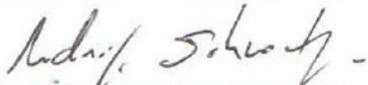
Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA

Departamento de Biologia Aplicada À Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. LUCIA HELENA SIPAUBA TAVARES

Laboratório de Limnologia, Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, Jaboticabal- SP



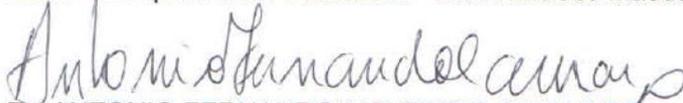
Prof. Dr. RODRIGO SCHVEITZER

Departamento de Ciências do Mar / Universidade Federal de São Paulo - Unifesp



Profa. Dra. ROSANGELA KIYOKO JOMORI BONICHELLI

Laboratório de Aquicultura / Faculdade "Dr. Francisco Maeda"- Fafram



Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO

Departamento de Ecologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Data da realização: 02 de fevereiro de 2015.

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”*

*Albert Einstein*

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I – Desempenho produtivo de larvas de tilápia-do-nylo criadas em água clara e em sistema de bioflocos (BFT) com diferentes períodos de maturação antes do povoamento

Figura 1: Quantidade de ração e melação fornecido ao longo do experimento e a biomassa estocada.....	29
Figura 2: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios $\pm$ desvio padrão (n=4).....	30
Figura 3: Curva de crescimento em peso das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle).....	33

### CAPÍTULO II – Efeito da utilização de substrato artificial e da adição de carbono orgânico na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos

Figura 1: a) vista superior dos tanques mostrando a disposição dos substratos artificiais nos diferentes tratamentos; b) visão transversal de um tanque com 10% de substrato artificial.....	41
Figura 2: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios (n=4).....	44

### CAPÍTULO III – Influência da densidade de estocagem na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos.

Figura 1: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios $\pm$ desvio padrão (n=4).....	59
Figura 2: Curvas de crescimento em peso (A) e em comprimento total (B) das larvas de tilápia-do-nylo submetidas às diferentes densidades de estocagem.....	61
Figura 3: Sobrevivência das larvas de tilápia-do-nylo submetidas a diferentes densidades de estocagem ao longo do experimento.....	62

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I – Desempenho produtivo de larvas de tilápia-do-nylo criadas em água clara e em sistema de bioflocos (BFT) com diferentes períodos de maturação antes do povoamento

Tabela 1. Variáveis de qualidade da água dos tanques de larvicultura de tilápia-do-nylo criados em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle). Média ± desvio padrão; n=4. Médias com diferentes letras nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).....	31
Tabela 2. Desempenho das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle). Média ± desvio padrão; n=4. Médias com diferentes letras nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).....	32

### CAPÍTULO II – Efeito da utilização de substrato artificial e da adição de carbono orgânico na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos

Tabela 1: Esquema dos tratamentos experimentais testados (cinco tratamentos com quatro repetições cada).....	41
Tabela 2: Variáveis de qualidade de água dos tanques das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos com adição diária de melaço (BFT) e sem adição de melaço (Controle) e com diferentes quantidades de substratos artificiais (0, 10 e 40% da área de superfície lateral do tanque).....	46
Tabela 3: Desempenho zootécnico das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos com adição diária de melaço (BFT) e sem adição de melaço (Controle) e com diferentes quantidades de substratos artificiais (0, 10 e 40% da área de superfície lateral do tanque).....	48

### CAPÍTULO III – Influência da densidade de estocagem na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos.

Tabela 1: Variáveis de qualidade da água dos tanques de larvicultura de tilápia-do-nylo com diferentes densidades de estocagem. Média ± desvio padrão (n=4).....	60
Tabela 2: Desempenho zootécnico das larvas de tilápia-do-nylo submetidas às diferentes densidades de estocagem após 28 dias de experimento.....	61

### CAPÍTULO IV – Avaliação de diferentes fontes de carbono e relações de carbono /nitrogênio na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos (BFT)

Tabela 1: Porcentagem de carbono e nitrogênio contida na ração e nas fontes de carbono usadas no experimento.....	73
Tabela 2: Valores médios dos parâmetros de qualidade de água medidos nos diferentes tratamentos e resultados da análise de variância (two-way ANOVA). AT, amônia total; N-NO <sub>2</sub> , nitrito; N-NO <sub>3</sub> , nitrato; P-PO <sub>4</sub> , ortofosfato; Alcal., alcalinidade; SST, sólidos suspensos totais; VBF, volume de bioflocos; OD, oxigênio dissolvido.....	76
Tabela 3: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para a concentração de ortofosfato (mg/L de P-PO <sub>4</sub> ) nos tanques de criação de tilápia-do-nylo.....	77
Tabela 4: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para o volume de bioflocos (mL/L) medido através do cone de Imhoff nos tanques que criação de tilápia-do-nylo.....	78

Tabela 5: Valores médios do peso médio final (PM), comprimento total final (CT), sobrevivência, biomassa final, taxa de crescimento específico (TCE), conversão alimentar aparente (CAA) das larvas de tilápia-do-nylo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, e resultados da análise de variância (two-way ANOVA).....	79
Tabela 6: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para o comprimento total (cm) das larvas de tilápia-do-nylo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, após 28 dias de cultivo.....	80
Tabela 7: Composição centesimal final (% da matéria seca) dos bioflocos e larvas de tilápia-do-nylo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, onde P.B. = proteína bruta, E.E. = extrato etéreo, M.M. = matéria mineral, e resultados da análise de variância (two-way ANOVA).....	81
Tabela 8: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para porcentagem de proteína bruta (P.B.) contida nas amostras de bioflocos (valores com base na matéria seca).....	82

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BFT	–	“Biofloc technology”
C/N	–	Relação entre carbono e nitrogênio
CAA	–	Conversão alimentar aparente
CAUNESP	–	Centro de Aquicultura da UNESP
GIFT	–	“Genetically Improved Farmed Tilapia”
mg/L	–	Miligramas por litro
NAT	–	Nitrogênio amoniacal total
N-NO <sub>2</sub>	–	Nitrito
N-NO <sub>3</sub>	–	Nitrato
N-NH <sub>3</sub>	–	Amônia não ionizada
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	–	Amônia ionizada
OD	–	Oxigênio dissolvido
P-PO <sub>4</sub>	–	Fósforo na forma de ortofosfato
SST	–	Sólidos suspensos totais
TCE	–	Taxa de crescimento específico
UNESP	–	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
VBF	–	Volume de bioflocos (medido no cone de Imhoff)

## SUMÁRIO

Dedicatória .....	xi
Agradecimentos .....	xii
Apoio Financeiro.....	xiv
Resumo .....	xv
Abstract .....	xvi
INTRODUÇÃO GERAL .....	17
1. Introdução.....	17
2. Justificativa .....	20
3. Objetivos.....	20
4. Referências Bibliográficas .....	21
CAPÍTULO I – Desempenho produtivo de larvas de tilápia criadas em água clara e em sistema de bioflocos (BFT) com diferentes períodos de maturação antes do povoamento .....	23
Resumo .....	23
Abstract .....	24
1. Introdução.....	25
2. Material e Métodos .....	25
3. Resultados.....	29
4. Discussão .....	33
5. Referências Bibliográficas .....	35
CAPÍTULO II – Utilização de substrato artificial na larvicultura de tilápia em sistema de bioflocos (BFT) .....	37
Resumo .....	37
Abstract .....	38
1. Introdução.....	39
2. Material e Métodos .....	40
3. Resultados.....	43
4. Discussão .....	49
5. Referências Bibliográficas .....	50

CAPÍTULO III – Influência da densidade de estocagem na larvicultura de tilápia em sistema de bioflocos (BFT) .....	53
Resumo .....	53
Abstract .....	54
1. Introdução.....	55
2. Material e Métodos .....	56
3. Resultados .....	58
4. Discussão .....	62
5. Referências Bibliográficas .....	65
CAPÍTULO IV – Avaliação de diferentes fontes de carbono e relações de carbono e nitrogênio na larvicultura de tilápia em sistema de bioflocos (BFT) .....	69
Resumo .....	69
Abstract .....	70
1. Introdução.....	71
2. Material e Métodos .....	72
3. Resultados.....	75
4. Discussão .....	83
5. Referências Bibliográficas .....	85
CONCLUSOES E CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	89
ANEXOS.....	91

## DEDICATÓRIA

A minha esposa, Andressa, pelo amor, carinho, compreensão, e apoio incondicional durante essa etapa de nossas vidas.

Aos meus pais, Regina e Sérgio, que sempre me incentivaram e proporcionaram condições para avançar em meus estudos, e as minhas irmãs, Flávia e Renata, pelo carinho.

Aos meus filhos, Bernardo e Stella, por alegrarem minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria Célia Portella pelos ensinamentos, paciência, amizade e principalmente por acreditar em mim e na minha proposta de trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr. (Mano) pela disponibilidade sempre que solicitado, conhecimento e sugestões durante a elaboração do projeto e condução dos experimentos.

Aos membros da banca de qualificação, Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares e Prof. Dr. João Batista K. Fernandes, pela disponibilidade na leitura criteriosa e sugestões importantes para melhoria deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Rodrigo Schweitzer, Profa. Dra. Rosângela Kiyoko Jomori, Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares, Prof. Dr. Antônio Fernando Monteiro Camargo pela leitura cuidadosa do trabalho e valiosas contribuições.

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro pela amizade e por disponibilizar as estruturas e equipamentos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Caunesp necessários para a realização deste trabalho de pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura pelos ensinamentos e experiências transmitidas.

Aos colegas e “irmãos” do laboratório de larvicultura: Juliana Tomomi Kojima, Thiago Mendes de Freitas, Thyssia Bonfim Araújo da Silva, Caroline Nebo, Amanda Halum Elias, Andressa C. Innocente, Olívia Cristina Camilo Menossi e Taís S. Lopes pela amizade e ajuda essencial para realização deste trabalho.

Aos amigos Anderson Wanser e Camila pelo agradável convívio durante este período que moramos em Jaboticabal e pela ajuda que nos deram em nosso retorno a Caçador.

Aos colegas da Estação de Marinha de Aquicultura da FURG, em especial ao Plínio Furtado, Fabiane Serra, Gabriele de Lara, Carlos Gaona, Carolina Costa e Luis Poersch pelos conhecimentos transmitidos sobre o sistema de bioflocos que foram fundamentais para a condução do presente estudo.

Aos colegas do laboratório de Nutrição: Thiago Nascimento, Ligia, Bruna, Hellen e Lidiane pelo convívio e auxílio durante a realização dos experimentos.

Ao Gustavo e Natália de Jesus Leitão pela ajuda no transporte das larvas de tilápia utilizadas no último experimento.

À funcionária Sílvia Ligeiro (Silvinha) pelo auxílio nas análises de água e funcionários do CAUNESP pelo apoio prestado quando solicitado.

Ao setor de Tilapicultura do Caunesp por fornecer as larvas de tilápia utilizadas nos primeiros experimentos.

À Profa. Dra. Márcia J. R. Mutton por disponibilizar o melaço utilizado nos experimentos.

Aos amigos da “Casa da Avó”, Gimbo, Tomys, Lidi e Dallas por me oferecerem um lar para eu ficar durante minhas idas para Jaboticabal.

Aos colegas da Epagri, Dr. Gabriel Berenhauser Leite e ao pesquisador Álvaro Graeff que me apoiaram e viabilizaram a minha autorização para realização deste curso de doutorado, Dr. Guilherme Rupp meu conselheiro acadêmico e a Tânia Bianchini pelo auxílio prestado sempre que solicitado.

A todos que apesar de não estarem listados aqui contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

## APOIO FINANCEIRO

Bolsa de doutorado no país: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Processo: 140963/2011-1 e 161509/2011-8.

Período: de março de 2011 a abril de 2011 e de novembro de 2011 a fevereiro de 2014.

Bolsa de doutorado no país: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Período: de maio de 2011 a outubro de 2011.

Licença remunerada concedida para realização do curso de Doutorado em Aquicultura do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UNESP: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI.

Período: de março de 2011 a agosto de 2014.

## RESUMO

Com o aumento da demanda mundial de pescado surge uma tendência de intensificação dos sistemas produtivos de criação de organismos aquáticos. Entre os sistemas intensivos de aquicultura, o sistema de bioflocos vem ganhando cada vez mais espaço por ser um sistema relativamente mais simples do que o sistema de recirculação de água e capaz de otimizar a utilização dos recursos hídricos. Apesar do sistema de bioflocos ser atualmente bastante estudado na carcinicultura marinha e na fase engorda de tilápia, a adoção dessa tecnologia na larvicultura de peixes de água doce ainda é um assunto novo e pouco avaliado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes variáveis de manejo na larvicultura de tilápia-do-nylo neste sistema de criação. Foram realizados quatro experimentos que avaliaram: o tempo de maturação do sistema de bioflocos antes do povoamento das larvas; a utilização de substrato artificial e a adição diária de melação; a densidade de estocagem das larvas; e diferentes fontes de carbono e relações entre carbono e nitrogênio. Em síntese, o sistema de bioflocos foi eficiente para a produção de juvenis de tilápia em sistemas estático sem a renovação de água, promovendo boa taxa de crescimento e sobrevivência das larvas e melhor aproveitamento da ração (conversão alimentar aparente mais eficiente). A utilização de um inóculo de água contendo bioflocos já estabelecido permite a dispensa de preparo prévio dos tanques de criação anteriormente ao povoamento das larvas, otimizando desta forma as unidades de produção (tanques e viveiros) da piscicultura. A utilização de substratos artificiais não promoveu nenhum benefício na manutenção dos parâmetros de qualidade de água e no desempenho das larvas criadas no sistema de bioflocos. A adição diária de melação nos tanques proporcionou melhores taxas de sobrevivência das larvas criadas em sistema de bioflocos. A densidade de estocagem máxima estimada que pode ser utilizada neste sistema de produção em pequena escala é de até quatro larvas por litro e podem ser utilizadas diferentes fontes de carbono orgânico para promover o desenvolvimento das bactérias heterotróficas importantes para manutenção deste sistema. Trabalhos futuros devem ser realizados para avaliar a utilização desse sistema de produção em escala comercial e os aspectos econômicos envolvidos na adoção desta tecnologia.

Palavras-chaves: Bioflocos, *Oreochromis niloticus*, larvicultura, qualidade de água, desempenho zootécnico.

## ABSTRACT

There is a tendency of intensification of aquaculture production systems with the increase in global fish demand. Amongst the intensive aquaculture systems, the biofloc system has been gaining more importance because it is a relatively simple system comparing to the recirculation aquaculture system (RAS), and enables to optimize the use of water resources. The biofloc system is currently widely studied and applied in marine shrimp culture and in tilapia grow out, but the adoption of this technology in larviculture of freshwater fish is still a new subject and scarcely evaluated. The aim of this study was to evaluate different aspects for utilization of this technology during the larviculture of Nile tilapia. Four experiments were performed to evaluate the following issues: time of maturation of the biofloc system before the larvae stocking; use of artificial substrate; daily molasses addition; stocking density; different carbon sources and C/N ratio. In synthesis, the biofloc system was quite efficient for the production of juvenile tilapia in static systems without water exchange, promoting good growth rate and survival of larvae and a better use of the aquafeeds (feed convention ratio more efficient). Using an inoculant containing biofloc water already established dispenses the preparation of tanks prior to larval stocking, optimizing the production units (tanks and ponds) of fish farming. The use of artificial substrates did not promote any benefit in maintenance of the water quality parameters and performance of larvae reared in the biofloc system. The daily molasses addition in tanks improved the larval survival rates. The estimated maximum stocking density that can be used in this low-scale system is up to four larvae per liter. Different organic carbon sources can be used to promote the development of heterotrophic bacteria important for maintenance of this system. Further work should be carried out to assess the use of this system of production on a commercial scale and the economic aspects involved in utilization of this technology.

Key words: Bioflocs, *Oreochromis niloticus*, larviculture, water quality, growth performance.

## INTRODUÇÃO GERAL

### 1. Introdução

A produção mundial de pescado vem crescendo constantemente nos últimos 50 anos, com uma taxa média anual de 3,2%, superando a taxa de crescimento da população humana de 1,6% (FAO, 2014). Para suprir o aumento da demanda por pescado é necessário o aperfeiçoamento das técnicas de produção de peixes e outros organismos aquáticos, uma vez que os estoques pesqueiros encontram-se estagnados.

A aquicultura é uma atividade que depende de grande quantidade de água e pode gerar muitos impactos negativos no ambiente em que está inserida. A adoção de sistemas intensivos de produção permite aumentar o rendimento de pescado sem a necessidade de utilizar novas áreas para construção de viveiros. Com a demanda cada vez mais acentuada por recursos hídricos para diversas finalidades, sistemas intensivos com baixa utilização de água estão ganhando cada vez mais importância no setor aquícola. Os principais fatores limitantes destes sistemas são o alto custo de produção e os problemas relacionados com a qualidade da água (Avnimelech, 2006).

Sistemas intensivos com baixa taxa de renovação de água tendem a acumular resíduos da alimentação, matéria orgânica e compostos nitrogenados tóxicos aos organismos produzidos. O sistema de recirculação com biofiltro externo é uma possibilidade para produção intensiva com manutenção da qualidade da água, porém apresenta alto custo de instalação e operação, sendo praticado com sucesso em menor escala, como laboratórios de produção de alevinos e de peixes ornamentais (Avnimelech, 2006). Uma alternativa para reduzir estes custos é a utilização do sistema de bioflocos. Esse sistema é caracterizado por promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que são capazes de assimilar grande parte dos compostos nitrogenados da água, evitando problemas de toxicidade destes compostos.

Os primeiros trabalhos com bioflocos foram realizados na década de 90 no Centro de Maricultura de Waddell, nos Estados Unidos, com objetivo de intensificar a produtividade das criações de camarões marinhos utilizando baixas taxas de renovação de água. Neste mesmo período, pesquisadores de Israel iniciaram os

trabalhos avaliando o desempenho da tilápia em sistemas heterotróficos (Avnimelech, 2009). Apesar de existem diversos termos utilizados por diferentes autores para definir esse modelo de sistema tais como: “zero exchange, aerobic and heterotrophic culture systems” (ZEAH), “active suspension pond”, “aerated microbial reuse systems”, “bioflocs technology system” (BFT), entre outros (Hargreaves, 2006), no presente trabalho adotou-se o termo sugerido por Avnimelech (2009) de sistema de bioflocos (BFT).

O princípio deste sistema é manter uma alta relação de carbono e nitrogênio (C/N), por meio da adição de carbono orgânico na água de cultivo, promovendo assim o desenvolvimento de bactérias heterotróficas capazes de assimilar o nitrogênio inorgânico dissolvido na água (Avnimelech, 2006; Schneider et al., 2005; Schneider et al., 2006). Outra vantagem em adotar o sistema de bioflocos é que além de utilizar menos água na criação de organismos aquáticos, possibilita taxas de conversão alimentar mais eficientes, uma vez que os flocos podem ser ingeridos pelos animais cultivados, servindo como uma fonte extra de alimento. (McIntosh, 2000; Burford et al., 2004; Wasielesky et al., 2006).

Com o aumento da biomassa bacteriana há a tendência de formação de agregados de microrganismos (bactérias, fitoplâncton e zooplâncton) com partículas, coloides, polímeros orgânicos e células mortas que são conhecidos como bioflocos (Jorand et al., 1995). De acordo com Wilen et al. (2003), entre 2 e 20% da fração orgânica contida nos flocos bacterianos são formados por células vivas enquanto que a matéria orgânica total pode representar de 60-70%, e o material inorgânico pode atingir de 30-40% do conteúdo do floco.

A maneira que esses agregados de micro-organismos se formam é um processo complexo que envolve mecanismos físicos, químicos e biológicos, que é bastante estudado pela engenharia sanitária que utilizam o sistema de lodo ativado. De uma maneira simplificada, nesse processo ocorre a formação de substâncias extracelulares poliméricas que mantêm as células microbianas encapsuladas, garantindo dessa maneira que os componentes que formam os flocos permaneçam aderidos uns aos outros (De Schryver et al., 2008). Dessa forma, a imobilização do nitrogênio promovida pelo crescimento de bactérias heterotróficas pode diminuir os compostos nitrogenados tóxicos (principalmente amônia) dentro de poucas horas, enquanto o processo de nitrificação obtida por meio de biofiltros é processo muito mais lento (Hargreaves, 2006).

O aproveitamento do bioflocos como fonte de alimento pelos animais aquáticos depende de vários fatores, tais como a preferência alimentar da espécie, da sua capacidade de ingerir e digerir os flocos microbianos, e da densidade de partículas em suspensão (Hargreaves, 2006). Alguns trabalhos avaliaram a importância do bioflocos na alimentação de organismos aquáticos por meio de análises de isótopos estáveis (Abreu et al., 2007; Avnimelech e Kochba, 2009; Burford et al., 2004; Epp et al., 2002), sugerindo que algumas espécies de camarões e de peixes são capazes de ingerir e assimilar os nutrientes presentes nos flocos bacterianos. Por outro lado, a composição nutricional do bioflocos também é variável.

Como em todo sistema intensivo, o monitoramento cuidadoso dos parâmetros de qualidade de água em cultivos heterotróficos é fundamental para manutenção do sistema. Além da suplementação de fontes de carbono, a aeração dos tanques deve ser vigorosa e constante para garantir a concentração adequada de oxigênio dissolvido e a manutenção da matéria orgânica suspensa na coluna da água (Avnimelech, 2009).

Outro papel importante do sistema com bioflocos é o fato de reduzir a carga de poluentes nos efluentes gerados pela atividade aquícola, além de possibilitar cultivos livres de patógenos (Hargreaves, 2013). Esse último aspecto é particularmente interessante na fase de produção de formas jovens, pois essa fase é o primeiro elo da cadeia produtiva, quando, geralmente, ocorrem problemas relacionados a doenças que podem comprometer todo sistema de produção. A adoção de um sistema biosseguro pode ser uma alternativa para contornar este problema.

O grupo das tilápias é formado por diversas espécies de ciclídeos e o cultivo dessas espécies é um dos ramos da aquicultura mais difundido no mundo, sendo praticado em mais de 135 países e regiões dos diferentes continentes (FAO, 2014). Embora existam muitas espécies de tilápia, as pertencentes aos gêneros *Sarotherodon* spp e *Oreochromis* spp e seus híbridos são as mais utilizadas na piscicultura (Furuya et al., 2012). Apesar do grande potencial de cultivo desse grupo de peixes, a produção de formas jovens dessas espécies ainda é um dos fatores limitantes para o aumento da produção mundial de tilápia.

A tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* possui diversas características favoráveis à criação em fazendas, tais como o rápido crescimento, resistência a doenças, capacidade de se adaptar a diversas condições de criação, qualidade e

sabor da sua carne (Beveridge e McAndrew, 2000). Outro aspecto importante da tilápia é seu hábito alimentar filtrador e detritívoro, permitindo que ela se alimente de partículas em suspensão na coluna da água e detritos, características importantes para possíveis candidatos para serem criados em sistema com bioflocos (Azim et al., 2003; Dempster et al., 1995).

Grande parte da produção comercial de tilápia-do-nilo realiza a criação monosexo, utilizando apenas os machos que apresentam uma taxa de crescimento maior. Para isso utilizam a técnica proposta por Guerrero (1975) que consiste na adição de hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona na dieta das larvas, durante o primeiro mês de vida. A utilização de sistemas fechados para a realização da reversão sexual da tilápia é desejado para evitar o aporte deste hormônio no meio ambiente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes fatores que influenciam os parâmetros de qualidade de água e o desempenho de larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos, gerando desta forma informações importantes para a adoção desta tecnologia durante esta etapa importante da cadeia produtiva da tilápia.

## 2. Justificativa

O sistema de bioflocos é uma tecnologia moderna muito utilizada na carcinicultura de peneídeos e na fase de engorda de tilápia, porém são poucos os trabalhos que adotam este sistema durante a fase inicial de criação de peixes de água doce. A geração de conhecimentos sobre o manejo de larvas de tilápia neste sistema e sobre os meios para promover o desenvolvimento das bactérias heterotróficas em tanques de larvicultura de tilápia é necessária para a utilização dessa nova tecnologia durante essa delicada fase de cultivo.

## 3. Objetivos

### Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a utilização do sistema de bioflocos na fase de larvicultura de tilápia-do-nilo.

## Objetivos específicos

- Comparar os parâmetros de qualidade da água e o desempenho produtivo das larvas de tilápia criadas em sistema de bioflocos (BFT) e no sistema convencional com água clara.
- Avaliar diferentes períodos de preparação da água antes do povoamento das larvas de tilápia criadas em sistema de bioflocos.
- Avaliar o efeito do aumento da densidade de estocagem das larvas de tilápia criadas em sistema de bioflocos.
- Avaliar a eficiência da utilização de substrato artificial na manutenção dos parâmetros de qualidade da água e no desempenho das larvas criadas em sistema de bioflocos.
- Testar o efeito de diferentes fontes de carbono e relações carbono/nitrogênio (C/N) no desempenho das larvas de tilápia e nos parâmetros de qualidade de água.
- Avaliar a composição nutricional dos bioflocos formados por meio da utilização de diferentes fontes de carbono e relações C/N.

## 4. Referências bibliográficas

Abreu, P.C.; Ballester, E.L.C; Odebrecht, C.; Wasielesky Jr., W.; Cavalli, R.O; Granéli, W.; Anesio, A.M. 2007. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 347, 88–96.

Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: The need for an new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34, 172–178.

Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

Avnimelech, Y.; Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks using  $^{15}\text{N}$  tracing. *Aquaculture* 287, 163–168.

Azim, M.E.; Verdegem, M.C.J.; Mantingh, I.; van Dam, A.A.; Beveridge, M.C.M. 2003. Ingestion and utilization of periphyton grown on artificial substrates by Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 34, 85-92.

Beveridge, M.; McAndrew, B. (Eds.), (2000). *Tilapias: Biology and exploitation*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

- Burford, M.A.; Thompson, P.J.; McIntosh, R.P.; Bauman, R.H.; Pearson, D.C. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525-537.
- 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.
- Dempster, P.; Baird, D.J.; Beveridge, M. (1995). Can fish survive by filter-feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspensions. *Journal of Fish Biology* 47, 7-17.
- Epp, M.A.; Ziemann, D.A.; Schell, D.M, 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. *Aquaculture Research* 33, 839-846.
- FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2014.
- Furuya, W.M.; Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Cyrino, J.E.P. 2012. Exigências nutricionais e alimentação da tilápia. In: Fracalossi, D.M; Cyrino, J.E.P. (Org.). *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis, 2012. 255-268p.
- Guerrero, R.D. 1975 Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society* 104 (2), 342-348.
- Hargreaves, J.A. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 34, 344–363.
- Hargreaves, 2013. Biofloc production systems for aquaculture. SRAC Publication 4503, 1-12.
- 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 (7), 1639–1647.
- McIntosh, R.P. 2000. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of heterotrophic bacterial communities. *Global Aquaculture Advocate* 3 (6), 52-54.
- Schneider O.; Sereti V.; Eding E.H.; Verreth J.A.J. 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquaculture Engineering* 32, 379-401.
- Schneider, O.; Sereti, V.; Machiels, M.A.M.; Eding, E.H.; Verreth, J. A. J. 2006. The potential of producing heterotrophic bacterial biomass on aquaculture waste. *Water Research* 40, 2684–2694.
- Wasielesky, W.Jr., 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.
- Wilen, B.M., Jin, B., Lant, P., 2003. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. *Water Research* 37 (9), 2127–2139.

## CAPÍTULO I – Desempenho produtivo de larvas de tilápia-do-nilo criadas em água clara e em sistema de bioflocos (BFT) com diferentes períodos de preparação da água antes do povoamento

### Resumo

Um experimento de 28 dias foi realizado para testar o desempenho de larvas de tilápia-do-nilo criadas em água clara e em sistema de bioflocos, e avaliar o melhor período de maturação do sistema de bioflocos antes do povoamento das larvas. Nos tratamentos com bioflocos foram testados quatro períodos de maturação (0, 5, 10 e 15 dias antes do povoamento), além de um controle positivo com renovação diária de água. Os tratamentos com bioflocos apresentaram resultados semelhantes tanto dos parâmetros de qualidade de água quanto do desempenho das larvas, independentemente do período de maturação do sistema. A sobrevivência do controle positivo (76,6%) foi significativamente inferior às taxas de sobrevivência das larvas submetidas aos tratamentos com bioflocos (87,3 a 96,2%). As taxas conversão alimentar aparente foram mais eficientes nos tratamentos com bioflocos (1,1 a 1,3) em relação ao controle positivo (2,2). Este estudo demonstrou que é possível utilizar o sistema de bioflocos na larvicultura de tilápia-do-nilo, e que não é necessário fazer a preparação prévia dos tanques antes do povoamento das larvas.

Palavras-Chaves: *Oreochromis niloticus*, tempo de maturação, bioflocos, larvicultura, desempenho zootécnico, qualidade de água.

Growth performance of Nile tilapia larvae reared in clear water and biofloc system (BFT) with different start-up periods before larvae stocking.

### Abstract

A 28-day experiment was conducted to investigate the growth performance of Nile tilapia larvae reared in clear water and biofloc systems, and to evaluate the best period of start-up of the biofloc system before the larvae stocking. In BFT treatments, four periods of start-up were tested (0, 5, 10 and 15 days before larvae stocking), as well as a positive control with daily water renewal. The treatments with biofloc presented similar results both in water quality parameters and the zootechnical performance, regardless of the period of start-up of the biofloc system before the larvae stocking. The survival of the positive control (76.6%) was significantly lower than the survival rates of larvae exposed to treatments with bioflocs (87.3 to 96.2%). Feed conversion rates were more efficient in biofloc treatments (1.1 to 1.3) than in positive control (2.2). This study showed that it is possible to use the biofloc system for Nile tilapia larviculture and that previous preparation is not necessary before the larvae stocking in the tanks.

Key words: *Oreochromis niloticus*, start-up, bioflocs, larviculture, growth performance, quality of water.

## 1. Introdução

De maneira geral, a quantidade de água necessária para produzir 1 quilograma de peixe diminui com a intensificação do sistema de produção. Sistemas extensivos em viveiros apresentam produtividade anual média de 2.000 kg/ha, e considerando as perdas de água por meio da evaporação e infiltração são necessários aproximadamente 17,5 m<sup>3</sup> de água para cada quilograma de peixes produzido neste sistema. O simples aumento da produtividade para 4.000 kg/ha resulta na diminuição pela metade da quantidade de água para a produção de 1 quilograma de peixe. Nos últimos anos alguns sistemas superintensivos de produção estão sendo utilizados possibilitando taxas de produtividades na faixa de 10-200 kg/m<sup>3</sup>/ano, aumentando cerca de 50-1.000 vezes a quantidade de peixe produzido por unidade de água em relação ao sistema extensivo (Avnimelech et al., 2008).

Uma das razões para intensificação dos sistemas de produção aquícolas é produzir cada vez mais pescados sem ter que aumentar significativamente a utilização dos recursos naturais (Avnimelech et al., 2008). O sistema de bioflocos (BFT) é um sistema intensivo que busca promover o desenvolvimento de bactérias nitrificantes capazes de oxidar a amônia em nitrato, e de bactérias heterotróficas as quais absorvem a amônia e o ortofosfato da água formando biomassa bacteriana. Esse modelo de controle dos compostos nitrogenados possibilita a manutenção dos parâmetros de qualidade da água dentro da zona de tolerância da espécie sem a necessidade de utilização de filtros externos ou altas taxas de renovação de água (Avnimelech, 2009).

Durante a maturação inicial (start-up) do sistema de bioflocos ocorrem mudanças nos parâmetros de qualidade da água semelhantes às que ocorrem em sistemas convencionais de recirculação. Durante este período é comum ocorrer picos de amônia e nitrito, pois o ambiente de criação ainda não está totalmente equilibrado para suportar o aporte de nutrientes contidos na alimentação (Hargreaves, 2013). Em cultivos com bioflocos não existem protocolos padronizados para maturação do sistema antes do povoamento dos animais, e os pesquisadores vêm desenvolvendo maneiras próprias de acordo com suas experiências. O cultivo de bactérias nitrificantes em tanques separados pode servir de inóculo para iniciar o sistema de bioflocos. A adição de solo de um viveiro também pode servir como fonte de bactérias para iniciar o sistema, porém esse procedimento pode ser um risco

para segurança do cultivo (Hargreaves, 2013). A forma mais comum é utilizar água contendo bioflocos já estabelecidos de um cultivo saudável para acelerar o desenvolvimento da comunidade de bactérias, protozoários e algas que ajudam no controle dos parâmetros de qualidade da água.

A tilápia-do-nylo é uma das espécies aquícolas mais produzidas no mundo, ficando atrás apenas das carpas (FAO, 2013). Essa espécie possui diversas características favoráveis ao cultivo como boa aceitação no mercado, rusticidade, rápido crescimento, qualidade do filé, entre outras. Para atender à demanda de formas jovens, muitas pisciculturas vêm aperfeiçoando suas estruturas para intensificar as taxas de produtividade. O sistema de bioflocos pode ser uma alternativa viável para aumentar a oferta de formas jovens de tilápia produzidas em sistema com baixa renovação de água, sem a necessidade de grandes investimentos para adequar as estruturas produtivas já existentes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes períodos de maturação do sistema com bioflocos antes do povoamento das larvas de tilápia sobre os parâmetros de qualidade de água e desempenho produtivo das larvas, e compará-lo com o sistema convencional com renovação diária de água.

## 2. Material e Métodos

O presente estudo foi realizado durante outubro e novembro de 2012 no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo - Brasil (21°15'22" Latitude Sul e 48°18'58" Longitude Oeste).

O experimento foi conduzido em delineamento totalmente casualizado e foram avaliados cinco tratamentos com quatro repetições para cada tratamento. Os tratamentos com bioflocos (BFT) foram preparados com 0, 5, 10 e 15 dias antes do povoamento das larvas. Foi testado um controle no qual as larvas foram mantidas em água clara por meio da renovação diária de 40% do volume do tanque.

As unidades experimentais utilizadas foram tanques retangulares com 50 litros de água mantidos com aeração constante (mangueira microperfurada). No momento do preparo dos tanques foi inoculado um volume correspondente a 20% de água de um tanque contendo bioflocos já maturado e estabelecido e o restante foi completado com água proveniente de poço artesiano. Cada unidade experimental

recebeu um substrato artificial feito com lã acrílica (“wool filter pads”) para promover a fixação das bactérias nitrificantes. Esse substrato foi fixado em uma moldura de arame para mantê-lo submerso no dia em que os tanques foram preparados, e com tamanho correspondente a 10% da superfície lateral do tanque.

As larvas de tilápia-do-nilo da linhagem GIFT com seis dias após a eclosão ( $8,93 \pm 1,84$  mg de peso úmido e  $9,6 \pm 0,6$  mm de comprimento total) foram transferidas para as unidades experimentais na densidade de 2 larvas por litro.

A fertilização de carbono orgânico foi realizada diariamente por meio da adição de melaço (32% C) conforme o cálculo proposto por De Schryver et al. (2008), considerando que 75% do nitrogênio contido na ração é excretado na forma de nitrogênio amoniacal total (NAT), e que são necessários 6,07 gramas de C para converter 1 grama de NAT (Ebeling et al., 2006).

As larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia com ração comercial farelada contendo 52% de proteína bruta (Guabi – Pirá Alevino 55), e adicionada 60mg/kg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona (Guerrero, 1975). A quantidade de ração fornecida foi de aproximadamente 60% do peso vivo no início do experimento, sendo gradativamente reduzida para 10% do peso vivo no final. O aporte diário de ração e melaço e a biomassa estimada estão representados na Figura 1.

## 2.1. Qualidade da água

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos duas vezes ao dia (manhã e tarde) por meio de um oxímetro (YSI 550). As concentrações dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato) foram medidas três vezes por semana, de acordo com as metodologias propostas por Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978). O pH foi medido duas vezes por semana, por meio de um pHmetro digital (YSI F1100). O volume de bioflocos (VBF) foi quantificado uma vez por semana utilizando um cone de Imhoff (Avnimelech, 2007). A alcalinidade e a concentração de ortofosfato foram mensurados semanalmente, de acordo com as metodologias descritas por Golterman et al., 1978.

## 2.2. Desempenho zootécnico

Ao final do experimento (28 dias de criação) as larvas foram contadas para avaliar a sobrevivência e classificadas em três classes de tamanhos: pequeno (<2,2cm), médio (2,2-2,8cm) e grande (>2,8cm). Após essa classificação, foi realizada uma amostragem de 20% das larvas de cada classe para mensurar individualmente o comprimento total e o peso úmido. Também foram realizadas biometrias semanais com 10 larvas por unidade experimental para avaliar o crescimento em peso e comprimento para acompanhamento do crescimento. Antes da biometria, as larvas foram anestesiadas com benzocaína (0,1mg/L) e o comprimento total foi medido com um paquímetro digital e o peso em balança com precisão de 0,0001g e após a biometrias as larvas retornavam para os respectivos tanques.

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram calculados: taxa de crescimento específico (TCE, %) =  $[(\ln PM_2 - \ln PM_1)/(t_2 - t_1) \times 100]$ , onde  $PM_2$  e  $PM_1$  são peso médio nos dias  $t_2$  e  $t_1$  respectivamente; conversão alimentar aparente (CAA) =  $[(\text{ração fornecida})/(\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})]$ ; Sobrevivência (%) =  $[(\text{número final de animais})/(\text{número inicial de animais}) \times 100]$ ; biomassa final (g) =  $(\text{peso médio final} \times \text{número final de animais})$ .

## 2.3. Análises estatísticas

Após avaliar a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e a homoscedasticidade das variâncias (teste de Levene), os resultados de qualidade da água e de desempenho das larvas foram submetidos à análise de variância paramétrica (one-way ANOVA). Quando verificada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Tukey de comparação múltipla das médias dos diferentes tratamentos. Antes da análise de variância os dados de sobrevivência e de porcentagem de cada classe de tamanho foram transformados conforme a seguinte equação:  $Y = \arcsin \sqrt{x/100}$ , sendo  $x$  o valor em porcentagem desses parâmetros. Para realizar as análises foi utilizado o software STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., 2004, Tulsa, Oklahoma, USA).

### 3. Resultados

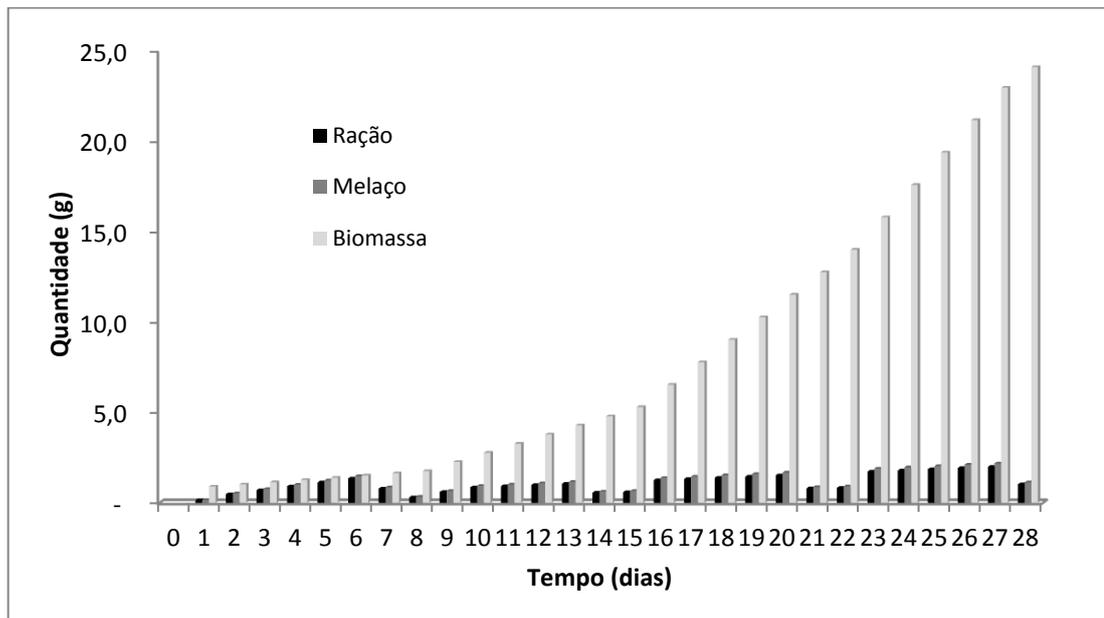


Figura 1: Quantidade de ração e melação fornecido ao longo do experimento e a biomassa estocada.

#### 3.1. Qualidade da água

No início do experimento ocorreu um pico de amônia total entre o 8<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> dia de experimento, que foi mais acentuado nos tratamentos com adição diária de melação (BFT) atingindo valores próximos de 2,5 mg/L. Após 15 dias de cultivo, os valores de amônia total mantiveram-se próximos de zero em todos os tratamentos até o final do experimento. A concentração de nitrito também apresentou um pico próximo ao 8<sup>o</sup> dia de experimento, porém os níveis deste composto ficaram abaixo de 0,7 mg/L de N-NO<sub>2</sub>. Ocorreu também um aumento gradual na concentração de nitrato em todos tratamentos testados, com exceção do controle no qual os compostos nitrogenados apresentaram-se sempre em níveis baixos devido à renovação diária de água (Figura 2).

Os valores médios das variáveis de qualidade de água avaliadas estão representados na Tabela 1. Os valores médios de temperatura da água não apresentaram diferenças entre os diferentes tratamentos testados. A concentração de oxigênio dissolvido medida pela manhã não apresentou diferenças entre os tratamentos testados, porém os valores médios de oxigênio dissolvido medidos no

período da tarde nos tratamentos com bioflocos foram inferiores aos valores do controle (Tabela 1).

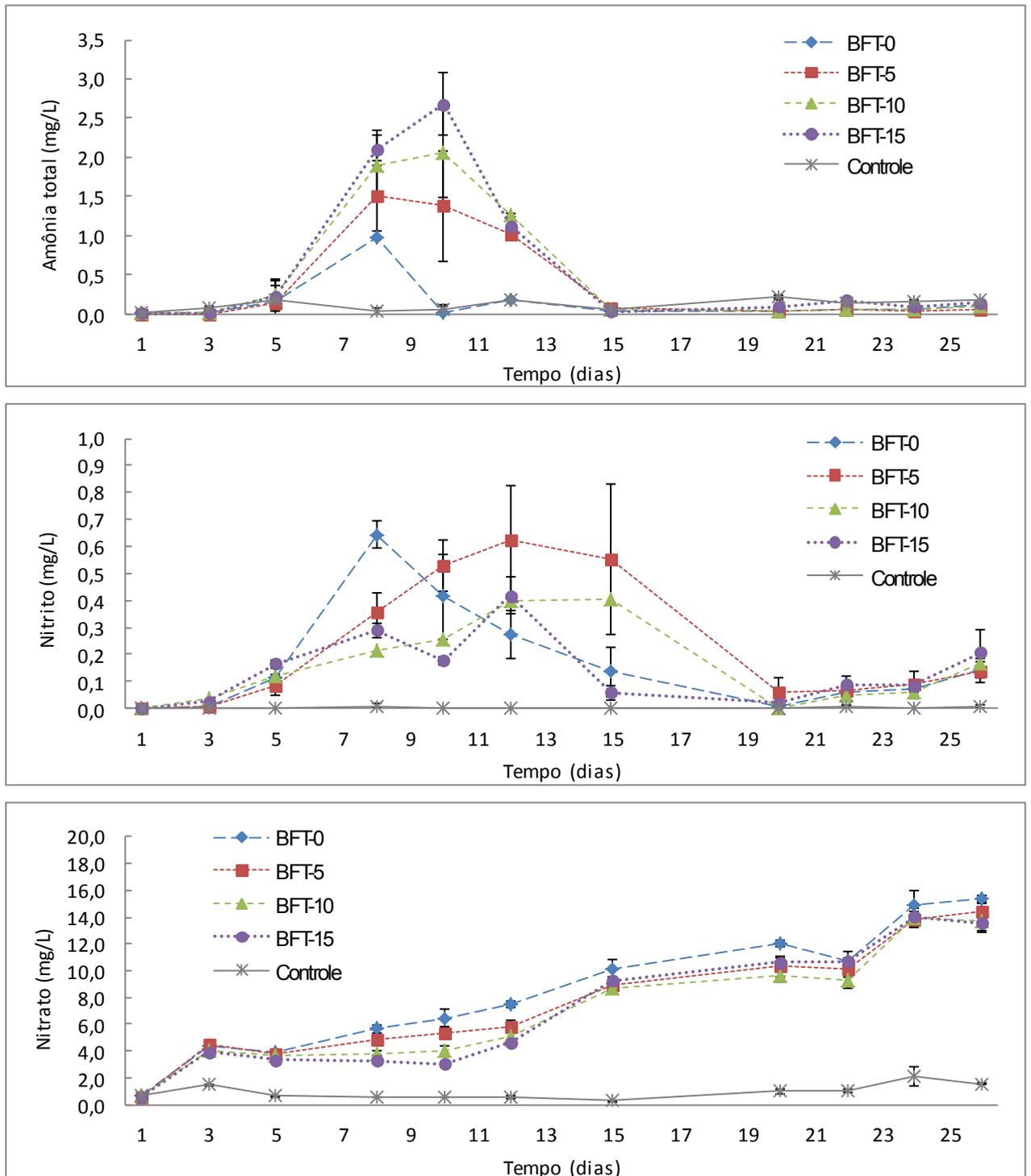


Figura 2: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios  $\pm$  desvio padrão (n=4).

Tabela 1: Variáveis de qualidade da água dos tanques de larvicultura de tilápia-do-nylo criados em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle). Média  $\pm$  desvio padrão; n=4. Médias com diferentes letras nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Qualidade de água	BFT-0	BFT-5	BFT-10	BFT-15	Controle
Temperatura ( $^{\circ}$ C)					
manhã	22,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	22,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	22,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	22,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	22,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
tarde	24,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	24,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	24,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	24,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	24,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
Oxigênio dissolvido (mg/L)					
manhã	7,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
tarde	6,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	6,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	6,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	6,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	7,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
pH	7,9 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	7,9 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	7,9 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	8,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	8,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
Alcalinidade (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	84,1 $\pm$ 4,0 <sup>b</sup>	97,4 $\pm$ 6,0 <sup>a</sup>	96,7 $\pm$ 6,0 <sup>a</sup>	100,3 <sub>a</sub> $\pm$ 5,0	91,0 <sub>ab</sub> $\pm$ 2,1
Ortofosfato (mg/L P-PO <sub>4</sub> )	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,2 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>
Volume de bioflocos (mL/L)	2,1 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	1,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>

A água utilizada no experimento foi proveniente de um poço artesiano que apresenta alcalinidade total constante e próxima a 90 mg/L de CaCO<sub>3</sub>. No controle a alcalinidade ficou perto deste valor devido à renovação diária de água. Alguns tratamentos com bioflocos (BFT-5, BFT-10 e BFT-15) apresentaram valores médios de alcalinidade superiores ao valor obtido no controle (Tabela 1). A concentração de fósforo na forma de ortofosfato foi significativamente mais baixa no controle do que nos tratamentos com bioflocos, que não apresentaram diferenças entre si.

O volume de bioflocos medido no cone de Imhoff manteve-se baixo durante o início do experimento e no 17<sup>o</sup> dia os tratamentos com bioflocos apresentaram um aumento no volume de material em suspensão. Os valores médios de volume de bioflocos nos tratamentos BFT-0, BFT-5 e BFT-10 foram mais altos que o valor mensurado no controle. Já o tratamento BFT-15 não apresentou diferença significativa no volume de bioflocos em relação aos demais tratamentos (Tabela 1).

### 3.2. Parâmetros zootécnicos

Os parâmetros de desempenho zootécnicos estão representados na Tabela 2. A taxa de sobrevivência final no controle positivo (76,6%) foi estatisticamente inferior aos demais tratamentos que variaram entre 87,3 a 96,2%.

Tabela 2: Desempenho das larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle). Média  $\pm$  desvio padrão; n=4. Médias com diferentes letras nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

<b>Desempenho zootécnico</b>	<b>BFT-0</b>	<b>BFT-5</b>	<b>BFT-10</b>	<b>BFT-15</b>	<b>Controle</b>
Sobrevivência (%)	87,3 $\pm$ 4,6 <sup>ab</sup>	93,9 $\pm$ 8,1 <sup>a</sup>	95,0 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	96,2 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	76,6 $\pm$ 4,1 <sup>b</sup>
Peso médio (mg)	289,8 $\pm$ 83,5 <sup>a</sup>	286,6 $\pm$ 34,2 <sup>a</sup>	274,3 $\pm$ 55,3 <sup>ab</sup>	298,2 $\pm$ 24,3 <sup>a</sup>	178,3 $\pm$ 16,0 <sup>b</sup>
Comprimento total (mm)	25,1 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	25,7 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	24,9 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	25,8 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	21,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
CAA	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	1,2 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	2,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
TCE 0-28dias (%/dia)	12,3 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	12,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	12,2 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	12,5 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	10,7 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Biomassa total (g)	25,1 $\pm$ 6,3 <sup>a</sup>	27,0 $\pm$ 4,9 <sup>a</sup>	26,0 $\pm$ 4,8 <sup>a</sup>	28,7 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	13,6 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
<b>Classe de tamanho (%)</b>					
P (<2,2 mm)	35,2 $\pm$ 21,8 <sup>ab</sup>	23,3 $\pm$ 8,5 <sup>b</sup>	27,6 $\pm$ 13,0 <sup>b</sup>	28,2 $\pm$ 2,6 <sup>b</sup>	62,7 $\pm$ 8,9 <sup>a</sup>
M (2,2 - 2,8 mm)	41,8 $\pm$ 10,2 <sup>bc</sup>	58,8 $\pm$ 9,7 <sup>a</sup>	55,7 $\pm$ 5,4 <sup>ab</sup>	45,8 $\pm$ 6,7 <sup>ab</sup>	28,1 $\pm$ 1,6 <sup>c</sup>
G (>2,8 mm)	23,0 $\pm$ 14,4	17,9 $\pm$ 7,8	16,7 $\pm$ 10,1	26,0 $\pm$ 7,2	9,2 $\pm$ 7,5

Os valores médios de comprimento total e conversão alimentar aparente observados no controle foram inferiores aos obtidos para os demais tratamentos. Já a taxa de crescimento específico e a biomassa total do controle foram inferiores aos valores verificados nos tratamentos com bioflocos.

O peso médio final dos peixes mantidos em água clara (controle) foi significativamente inferior ao peso médio dos animais submetidos aos tratamentos BFT-0, BFT-5 e BFT-15.

A frequência de peixes em cada classe de tamanho, resultado da classificação manual de todos os indivíduos, está representada na Tabela 2. A proporção de indivíduos classificados como grande não foi significativamente diferente entre os diferentes tratamentos. Já a frequência de indivíduos pequenos no tratamento controle foi significativamente maior que nos tratamentos BFT-5, BFT-10 e BFT-15. A frequência de indivíduos médios obtidos no tratamento BFT-5 foi superior às obtidas no tratamento BFT-0 e controle, porém semelhantes às observadas nos tratamentos BFT-10 e BFT-15.

A curva de crescimento em peso (Figura 3) indica que todos os tratamentos propiciaram um crescimento semelhante durante os primeiros 21 dias de experimento e a partir desse dia as larvas submetidas aos tratamentos com bioflocos apresentaram um crescimento mais acentuado.

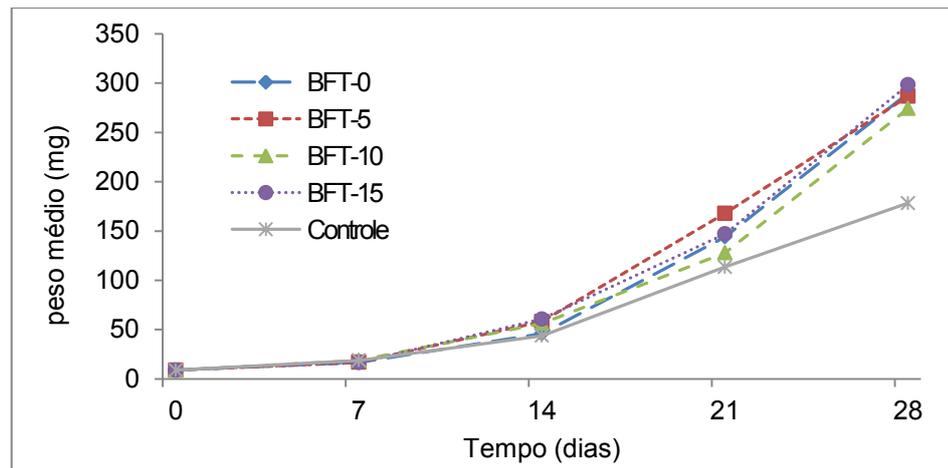


Figura 3: Curva de crescimento em peso das larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos (BFT) e em água clara (controle).

#### 4. Discussão

Um dos grandes desafios dos sistemas intensivos com baixa renovação de água é remover os compostos nitrogenados que podem ser tóxicos aos organismos aquáticos ou limitar a taxa de crescimento dos mesmos (Timmons et al., 2002). No presente trabalho foi observado um acúmulo inicial de amônia total seguido de um aumento sequencial de nitrito e nitrato muito semelhante ao que ocorre em sistemas de recirculação de água (Timmons et al., 2002; Hari et al., 2006) e em sistemas de bioflocos (Nootong e Pavasant, 2011; Azim e Little, 2008).

No presente trabalho, a temperatura média da água variou entre 22 e 25°C em grande parte do período experimental. Essa faixa de temperatura, apesar de ficar um pouco abaixo da temperatura ótima para o cultivo de larvas de tilápia de 28°C proposta por El-Sayed e Kawanna (2008), proporcionou boas taxas de crescimento e sobrevivência das mesmas. As concentrações de oxigênio dissolvido e os valores de pH mensurados neste estudo ficaram dentro da zona de conforto da espécie (De Long et al., 2009), independente do sistema de produção utilizado. Com exceção do controle, os valores de pH decresceram ao longo do tempo, tendência que pode estar relacionada ao acúmulo de gás carbônico associada com aumento da atividade respiratória dos peixes e da comunidade de bactérias heterotróficas que se formaram a partir da metade do período experimental (Ebeling et al., 2006).

A alcalinidade total da água representa a sua capacidade em neutralizar ácidos, sendo geralmente expressa na quantidade de carbonato de cálcio presente na água (mg/L de CaCO<sub>3</sub>). Em viveiros de aquicultura geralmente ocorre redução

nos valores de alcalinidade no decorrer do tempo de criação devido aos processos de respiração, nitrificação entre outros. O aumento na taxa de respiração dos organismos aquáticos aumenta a liberação de gás carbônico (CO<sub>2</sub>), que em contato com a água forma um ácido fraco (ácido carbônico), reduzindo desta maneira a alcalinidade da água (Esteves, 1998).

O presente estudo mostrou que é possível realizar a larvicultura de tilápia em um sistema fechado sem a necessidade de realizar trocas de água e obter boas taxas de sobrevivência e crescimento das larvas. As maiores taxas de sobrevivência foram obtidas nos tanques onde as larvas foram criadas em sistema com bioflocos. Essa diferença na taxa de sobrevivência pode estar relacionada com o manejo de limpeza das unidades experimentais dos tanques do controle (sifonagem e renovação parcial de água), que era realizado apenas neste tratamento com água clara. Poli et al. (2015) avaliaram a utilização do sistema de bioflocos na larvicultura de um bagre sul-americano (*Rhamdia quelen*) e obtiveram melhores taxas de sobrevivência nos tanques com bioflocos em comparação aos tanques mantidos com água clara em sistema de recirculação. Esses autores sugerem que esses resultados podem estar associados a uma redução de estresse devido a maior turbidez da água nos tratamentos com bioflocos, além de um possível efeito probiótico dos flocos bacterianos.

A taxa de crescimento (peso e comprimento) inferior, assim como a conversão alimentar aparente menos eficiente obtidas no controle podem ser resultado da menor disponibilidade alimentar, uma vez que não haviam flocos bacterianos nos tanque mantidos com água clara. A partir do 15º dia de experimento, justamente no momento que os bioflocos começaram a se formar, foi observado um aumento na curva de crescimento das larvas submetidas aos tratamentos com bioflocos, possivelmente devido à contribuição deste material no desenvolvimento dos peixes. Azim e Little (2008) também observaram um aumento na eficiência da conversão alimentar de tilápias criadas em sistema de bioflocos em relação ao sistema de recirculação de água, utilizando a mesma dieta para ambos sistema, sugerindo a capacidade da espécie em utilizar esses flocos bacterianos como fonte extra de alimento.

Krummenauer *et al.* (2012) avaliaram a reutilização de água em sistema de bioflocos com camarão e observaram que o tratamento que não recebeu água com bioflocos de um sistema já maturado apresentou altos valores de nitrito. No presente

trabalho foi inoculado um volume de 20% de água de um tanque com bioflocos já estabelecidos e isso ajudou na manutenção dos compostos nitrogenados em baixos níveis independente do tempo de maturação antes do povoamento das larvas. Após o preparo inicial dos tanques, não foi adicionado nenhum aporte de nutriente até o povoamento das larvas, quando teve início o fornecimento de ração. Esse tipo de manejo adotado pode ter levado à mineralização da matéria orgânica inoculada inicialmente e, por isso, a preparação prévia dos tanques antes do povoamento não promoveu nenhum benefício na manutenção dos parâmetros de qualidade da água e no desempenho das larvas criadas em sistema de bioflocos.

Em conclusão, o sistema de biofocos pode ser utilizado na fase de larvicultura de tilápia, favorecendo o crescimento e a conversão alimentar das larvas, e o desempenho das larvas criadas em sistema de bioflocos foi superior às mantidas em água clara. A preparação prévia dos tanques antes do povoamento das larvas não é necessária quando se reutiliza parte do volume do tanque de criação com água contendo inóculo de bioflocos de um sistema maturado.

## 5. Referências Bibliográficas

Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.

Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

Avnimelech, Y.; Verdegem, M.C.J.; Kurup, M.; Keshavanath, P. 2008. Sustainable land-based aquaculture: rational utilization of water, land and feed resources. *Mediterranean Aquaculture Journal* 1, 45-55.

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.

De Long, D.P.; Losordo, T.M.; Rakocy, J.E. 2009. *Tank Culture of Tilapia*. SRAC Publication 282, 1-8.

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.

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.

El-Sayed, A-F.M.; Kawanna, M. 2008. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. *Aquaculture Research* 39, 670-672.

Esteves, F.A. 1998. *Fundamentos de limnologia*. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Interciência. 602pp.

FAO, 2013. *Fishery and Aquaculture Statistics: 2011 yearbook*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2013.

Golterman, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. 1978. *Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwater*, Blackwell Scientific Publication, London, 1978.

Guerrero, R.D. 1975 Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society* 104 (2), 342-348.

Hari, B.; Kurup, B.M.; Varghese, J.T.; Schrama, J.W.; Verdegem, M.C.J. 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 252, 248–263.

Hargreaves, 2013. *Biofloc production systems for aquaculture*. SRAC Publication 4503, 1-12.

Koroleff, F. 1976. Determination of nutrients. In: K. Grassnof (ed.), *Methods of sea water analysis*, Verlag Cemie. Weinheim, New York.

Krummenauer, D.; Seifert Jr, C.A.; Poersch, L.H. Foes, G.K.; Lara, G.R.; Wasielesky Jr, W. 2012 Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. *Atlântica* 34, 103-111.

Nootong, K.; Pavasant, P. 2011. Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system. *Journal of the World Aquaculture Society* 42, 339-346.

Poli, M.A.; Schweitzer, R.; Nuñez, A.P.O. 2015. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: effect of suspended solids in the performance of larvae, *Aquacultural Engineering*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2015.01.004>.

Timmons, M.B.; Ebeling, J.M; Wheaton, F.W.; Summerfelt, S.T.; Vinci, B.J. 2002. *Recirculating aquaculture system*, 2nd edition. Cayuga Aqua Ventures, Ithaca, New York, USA. p. 800. NRAC Publication 01-002.

## CAPÍTULO II – Efeito da utilização de substrato artificial e da adição de carbono orgânico na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos

### Resumo

Uma das possíveis razões para a utilização de substratos artificiais no sistema de produção em bioflocos é aumentar a superfície de fixação para a colonização de bactérias nitrificantes, possibilitando assim a manutenção da qualidade de água nos tanques de criação. Em sistemas de bioflocos é comum a adição de carbono orgânico na água para ajustar a relação C/N, favorecendo desta forma o desenvolvimento de bactérias heterotróficas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de diferentes quantidades de substratos artificiais (lã acrílica) e da adição diária de melão nas variáveis de qualidade da água e no desempenho de larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos e controle (sem adição de melão). Para isso, foram testados três níveis de adição de substrato para os tratamentos com bioflocos (0, 10 e 40% da área de superfície lateral do tanque) e dois níveis para os tratamentos controles (0 e 10% da área de superfície lateral). O estudo foi realizado em caixas com 50 litros de água durante 28 dias e foram estocadas 150 larvas ( $7,3 \pm 1,6$  mg de peso úmido) para cada unidade experimental. A alimentação foi realizada quatro vezes ao dia com ração comercial e diariamente foi adicionado melão nos tratamentos com bioflocos (BFT) para promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas. Os tratamentos com adição de melão apresentaram melhor desempenho das larvas em termos de sobrevivência e biomassa final. A dinâmica dos compostos nitrogenados indica que o processo de nitrificação ocorreu mesmo sem a utilização de substratos artificiais, com exceção do tratamento com 40% de substrato artificial (BFT-40%), onde as concentrações de amônia da água aumentam até o final do experimento, atingindo níveis altos. Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que a utilização de substratos artificiais na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos é dispensável. Além disso, o uso de substratos em excesso é prejudicial para a manutenção dos parâmetros de água em tanque com baixo volume de água. A adição diária de melão nos tanques de criação proporciona melhores taxas de sobrevivência das larvas criadas neste sistema de produção.

Palavras-chaves: Substrato artificial, *Oreochromis niloticus*, bioflocos, qualidade de água, desempenho zootécnico, larvicultura.

## Effect of the use of artificial substrates and addition of organic carbon in larviculture of Nile tilapia reared in bio-flocs technology system

### Abstract

One of the possible reasons for the use of artificial substrates in biofloc systems is to increase the surface of fixation for the colonization of nitrifying bacteria, thus enabling the maintenance of water quality in the aquaculture tank. The addition of organic carbon in the water to adjust the C/N ratio is a common practice in bioflocs systems, favoring the development of heterotrophic bacteria. The aim of this study was to evaluate the effect of using different amounts of artificial substrates (wool filter pads) and daily molasses addition in water quality and production performance of Nile tilapia larvae reared in biofloc system and control (without addition of molasses). Three levels of addition of substrate (0, 10 and 40% of the lateral surface area of the tank) were tested for the treatments with biofloc and two levels for the treatments controls (0 and 10% of the area of lateral surface). This study was conducted in tanks of 50 liters of water for 28 days, and 150 larvae ( $7.3 \pm 1.6$  mg wet weight) were stocked in each experimental unit. The commercial feed was provided four times a day and molasses was added every day in the treatments with bioflocs (BFT) to promote the development of heterotrophic bacteria. The larvae reared in treatments with addition of molasses showed better performance in terms of survival and final biomass. The dynamic of nitrogen compounds (ammonia, nitrite and nitrate) indicates that the process of nitrification occurred even without the use of artificial substrates, with the exception of treatment with 40% of artificial substrates (BFT-40%), where the ammonia concentration increased until the end of the experiment, reaching high levels. The results suggest that the use of artificial substrates do not benefit the larviculture of Nile tilapia in small-scale biofloc system, and also that when in excess may be detrimental to the maintenance of the water parameters in good standards in tank with low volume of water. The daily addition of molasses in tanks provides best survival rates of Nile tilapia larvae reared in this system.

Key words: Artificial substrates, *Oreochromis niloticus*, bio-flocs, water quality, growth performance, larviculture.

## 1. Introdução

A fase de criação inicial de tilápia-do-nilo pode ser realizada em diversos ambientes, como hapas, viveiros externos de pequenos volumes e tanques de criação em laboratório acoplados a sistemas de recirculação de água. Nessa fase geralmente se realiza a masculinização das larvas por meio da adição de hormônio em dietas comerciais, conforme a metodologia proposta por Guerrero (1975). A utilização do sistema de bioflocos na larvicultura de tilápia ainda é tema pouco estudado, mas muito promissor, uma vez que há indicação que as larvas são favorecidas pela presença dos flocos que podem ser ingeridos, aumentando a taxa de crescimento das larvas e a eficiência na taxa de conversão alimentar (Serafini et al., 2013; Serafini et al., 2014).

O princípio básico deste sistema é controlar a relação de carbono e nitrogênio (C/N), por meio da adição de carbono orgânico na água de cultivo, promovendo desta maneira o desenvolvimento de bactérias heterotróficas capazes de assimilar o nitrogênio inorgânico dissolvido na água (Avnimelech, 2006; Schneider et al., 2006). De acordo com Ebeling et al. (2006), nos tanques ou viveiros de aquicultura geralmente existem três vias de transformação do nitrogênio inorgânico: fotoautotrófico (algas), bactérias quimioautotróficas (nitrificantes) e bactérias heterotróficas agindo em conjunto e competindo pelo mesmo substrato.

A utilização de substratos artificiais é uma prática muito comum em sistemas semi-extensivos baseados no desenvolvimento de perifiton, o qual serve como fonte extra de alimento, aumentando desta forma a produtividade do sistema aquícola (Richard et al., 2009). De acordo com Azim et al. (2003) são necessárias pelo menos duas semanas para que o perifiton se desenvolva sobre o substrato antes de realizar o povoamento dos peixes. A quantidade e qualidade do perifiton depende de diversos fatores como o tipo de substrato (Keshavanath et al., 2001; Azim et al., 2002), intensidade e qualidade da luz, tempo de submersão do substrato, entre outros (Azim et al., 2005).

O desenvolvimento do perifiton sobre substratos artificiais pode ser importante em alguns sistemas de produção, porém é possível que a presença desses organismos auxilie pouco no controle da qualidade de água em sistemas de bioflocos (Schveitzer et al., 2013). Uma das justificativas para a utilização de substratos artificiais é criar condições para a fixação das bactérias nitrificantes,

garantindo desta maneira a manutenção dos parâmetros de qualidade da água (Otoshi et al., 2006). Nos sistemas de recirculação de água com filtro biológico são utilizados diversos materiais tais como plástico, fibra de vidro, cerâmica, pedra ou outros materiais com grande área de superfície para que as bactérias nitrificantes possam colonizar. De uma maneira simplificada, quanto maior for a área de superfície disponível, mais células bacterianas podem ser aderidas, aumentando desta forma a capacidade de nitrificação do sistema (DeLong e Losordo, 2012).

A eficiência da utilização de substratos artificiais em sistemas de bioflocos vem sendo bastante estudada para camarão marinho (Moss e Moss, 2004; Arnold et al., 2006; Arnold et al., 2009; Lara, 2012; Schweitzer et al., 2013), porém não se conhece os efeitos desses substratos na criação de peixes em sistema de bioflocos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de substrato artificial e da fertilização com melação na manutenção dos parâmetros de qualidade da água e no desempenho de larvas de tilápia criadas em sistema de bioflocos.

## 2. Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo – Brasil (21°15'22" Latitude Sul e 48°18'58" Longitude Oeste), durante março e abril de 2013.

As unidades experimentais utilizadas foram tanques retangulares com 50 litros equipados com mangueiras microperfuradas acoplada a um soprador para garantir a aeração constante. Um dia antes do povoamento das larvas os tanques foram abastecidos com 45 litros de água proveniente de poço artesiano e 5 litros de água de um tanque contendo bioflocos já maturado e estabelecido. Durante todo período experimental não foi realizada nenhuma renovação da água, apenas a reposição do volume evaporado.

As larvas de tilápia da linhagem GIFT utilizadas neste experimento foram obtidas de uma fazenda comercial localizada no município de Santa Fé do Sul, SP. Cento e cinquenta larvas ( $7,3 \pm 1,6$  mg de peso úmido e  $8,7 \pm 0,6$  mm de comprimento total) foram estocadas em cada tanque na densidade de 3 larvas por litro. Para avaliar o efeito da utilização de diferentes quantidades de substratos artificiais na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema fechado (sem renovação de água) foi

realizado um experimento inteiramente casualizado com três tratamentos para o sistema de bioflocos com adição diária de carbono orgânico (BFT) e dois controles (sem a adição de fonte de carbono), com quatro réplicas de cada tratamento.

Os substratos artificiais utilizados foram feitos com lã acrílica (“wool filter pads”) e dispostos verticalmente nas unidades experimentais. Para calcular a proporção de substratos artificiais utilizados foi considerada a razão entre a área correspondente às duas faces do substrato e a área total de parede lateral dos tanques.

O esquema dos tratamentos está detalhado na Tabela 1. Para o sistema com adição diária de melação foram testados três níveis de adição de substrato artificial: sem substrato artificial (BFT-0%), adição de 10% da área da superfície lateral do tanque (BFT-10%) e adição de 40% da área da superfície lateral do tanque (BFT-40%). Nos tratamentos controles foram testados dois níveis de utilização de substrato artificial: sem adição de substrato artificial (Controle-0%) e adição de 10% da área de superfície lateral do tanque (Controle-10%). Os detalhes da disposição dos substratos artificiais estão ilustrados na Figura 1.

Tabela 1: Esquema dos tratamentos experimentais testados (cinco tratamentos com quatro repetições cada).

Tratamentos (Siglas)	Quantidade de substrato artificial (% da área de superfície lateral do tanque)	Adição de Melação
BFT-0%	sem substrato	sim
BFT-10%	10	sim
BFT-40%	40	sim
Controle-0%	sem substrato	não
Controle-10%	10	não

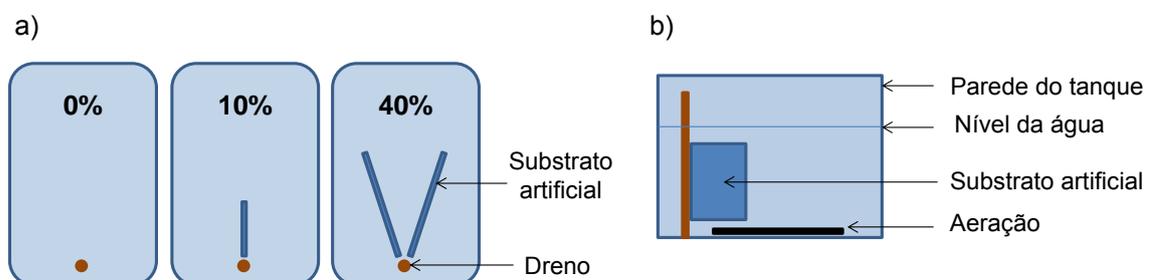


Figura 1: a) vista superior dos tanques mostrando a disposição dos substratos artificiais nos diferentes tratamentos; b) visão transversal de um tanque com 10% de substrato artificial.

A alimentação das larvas foi realizada quatro vezes ao dia com ração comercial farelada contendo 52% de proteína bruta (Guabi – Pirá Alevino 55) adicionada de 60mg/kg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona, de acordo com a metodologia sugerida por Guerrero (1975). A quantidade de ração fornecida foi calculada em função da biomassa estimada, sendo que a taxa de alimentação diária foi de 30% do peso vivo no início e foi diminuindo gradativamente para 10 % da biomassa no final do experimento. A fertilização de carbono orgânico foi realizada diariamente por meio da adição de melaço conforme o cálculo proposto por De Schryver et al. (2008) que considera que apenas 25% do nitrogênio contido na ração é retido pelos organismos aquáticos, e que são necessários 6,07 gramas de C para converter 1 grama de NAT (Ebeling et al., 2006).

## 2.1. Qualidade da água

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos duas vezes ao dia (manhã e tarde) por meio de um oxímetro portátil (YSI550). As concentrações de amônia total, nitrito e nitrato foram medidas três vezes por semana de acordo com as metodologias de Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978). O pH foi medido duas vezes por semana, com um pHmetro digital (YSI F1100).

O volume de bioflocos (VBF) e a quantidade de sólidos suspensos totais foram mensurados com a utilização do cone de Imhoff (Avnimelech, 2007) e gravimetricamente por meio da filtragem de 25 mL de amostras em filtros de fibra de vidro da marca Macherey-nagel GF-6 (Strickland e Parsons, 1972), respectivamente. A concentração de ortofosfato e a alcalinidade foram medidos de acordo com métodos propostos por Golterman et al. (1978).

## 2.2. Desempenho zootécnico

Semanalmente foi realizada uma biometria com 10 larvas por unidade experimental para avaliar o crescimento em peso e comprimento. Para isso, as larvas que foram anestesiadas com benzocaína (0,1mg/L), o comprimento total foi medido por meio de um paquímetro digital e o peso úmido individual foi determinado em balança analítica com precisão de 0,0001g. Ao final dos 28 dias de experimento, as larvas foram contadas para avaliar a sobrevivência e classificadas em três

classes de tamanhos: pequenos (<2,2cm), médios (2,2-2,8cm) e grandes (>2,8cm). Após essa classificação, foi realizada uma amostragem de 20% das larvas de acordo com a frequência de cada classe obtida para mensurar o comprimento total e o peso individual.

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram calculados: taxa de crescimento específico (TCE, %) =  $[(\ln PM_2 - \ln PM_1) / (t_2 - t_1) \times 100]$ , onde  $PM_2$  e  $PM_1$  representam o peso médio no dia  $t_2$  e  $t_1$  respectivamente; conversão alimentar aparente (CAA) =  $[(\text{ração fornecida}) / (\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})]$ ; Sobrevivência (%) =  $[(\text{número final de animais}) / (\text{número inicial de animais}) \times 100]$ ; biomassa final (g) = (peso médio final x número final de animais).

### 2.3. Análises estatísticas

Após avaliar a normalidade (Cramer-von Mises) e a homoscedasticidade das variâncias (Levene), os resultados de qualidade da água e de desempenho das larvas foram submetidos à análise de variância paramétrica unifatorial (one-way-ANOVA). Caso o resultado indicasse diferença estatística entre os tratamentos, foram realizadas quatro comparações por contrastes ortogonais (Yossa e Verdegem, 2015). O contraste 1 avaliou diferença entre o grupo BFT x Controle, o contraste 2 a diferença dentro do grupo controle (controle-0% x controle-10%) e os contrastes 3 e 4 avaliaram o efeito linear e quadrático dentro do grupo BFT, respectivamente). Antes da análise de variância os dados de sobrevivência e de porcentagem de cada classe de tamanho foram transformados conforme a equação:  $Y = \arcsin \sqrt{x/100}$ , sendo  $x$  o valor em porcentagem desses parâmetros. Para realizar as essas análises foi utilizado o software R (R Core Team, 2012).

## 3. Resultados

### 3.1. Qualidade da água

A flutuação dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato) está representada na Figura 2.

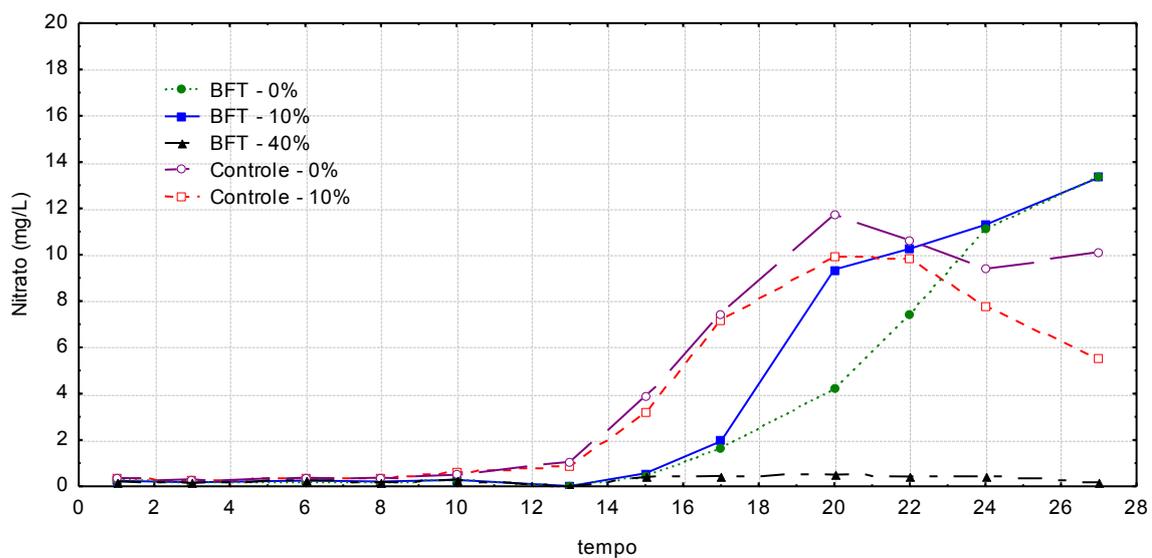
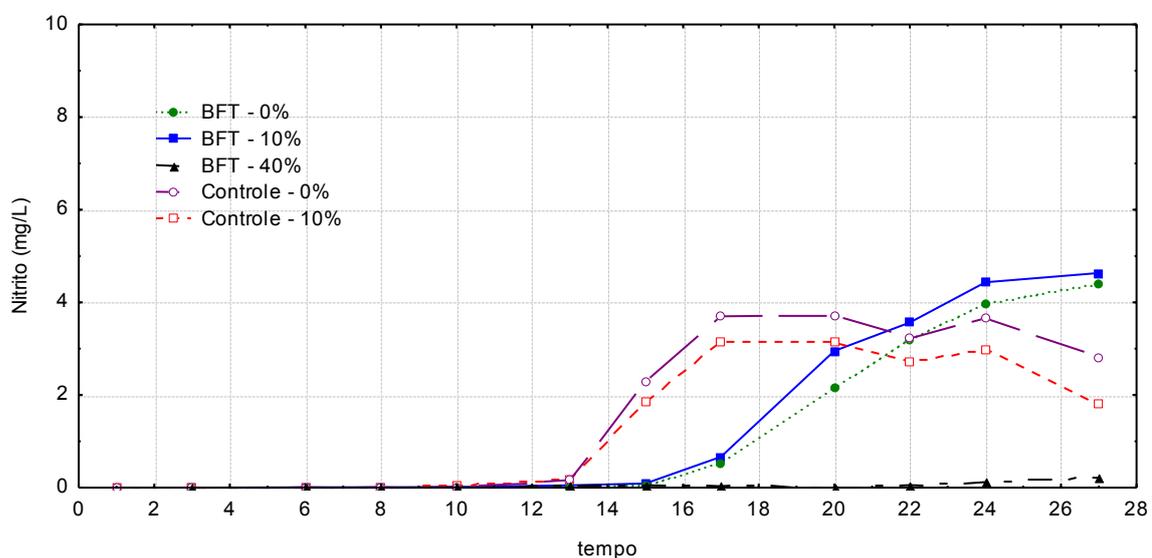
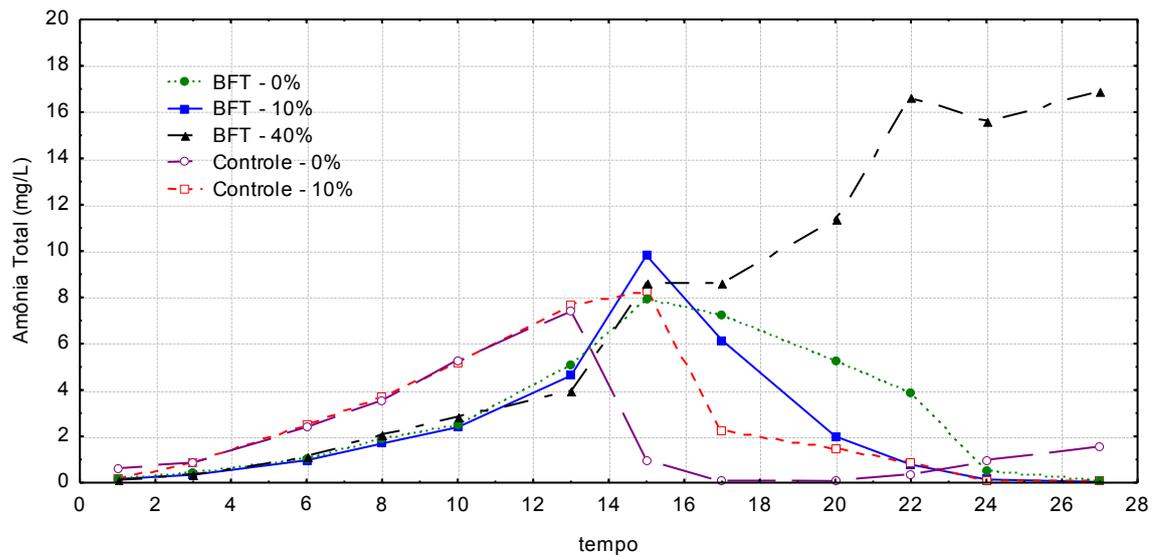


Figura 2: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios (n=4).

A concentração de amônia total apresentou um crescimento gradual para todos os tratamentos, atingindo valores próximos a 10 mg/L no 15º dia de experimento. Com exceção do tratamento com maior quantidade de substrato artificial (BFT-40%), onde a amônia continuou aumentando, nos demais tratamentos ocorreu uma redução gradativa nas concentrações de amônia seguida de um aumento nas concentrações de nitrito e nitrato.

Os valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis de qualidade de água e os resultados dos contrastes ortogonais estão representados na tabela 2.

Dentro do grupo que não recebeu a adição diária de melão (controle-0% e controle-10%), a utilização ou não de substratos artificiais não influenciou ( $P > 0,05$ ) nenhuma das variáveis de qualidade de água avaliadas (contraste 2 – tabela 2).

Nas comparações entre os grupos que receberam ou não o aporte diário de melão (tabela 2 – contraste 1) foram verificadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para as seguintes variáveis de qualidade de água: amônia total, nitrito, nitrato, ortofosfato, sólidos suspenso totais, volume de bioflocos e oxigênio dissolvido mensurado no período da tarde.

Os valores médios de ortofosfato nos tanques que receberam o aporte diário de carbono (BFT) variaram de 0,14 a 0,41 mg/L de P-PO<sub>4</sub>, enquanto nos tanques controles esse valores foram superiores e variaram entre 0,62 e 0,80 mg/L.

Avaliando a quantidade de material em suspensão na coluna da água nos tratamentos BFT é possível observar que o aumento da quantidade de substrato artificial é inversamente proporcional à quantidade de sólidos suspensos totais e volume de bioflocos.

A alcalinidade da água não foi influenciada pela adição ou não de melão nos tanques (contrate 1 – tabela 2), porém dentro do grupo BFT foi possível observar um efeito linear (contrate 3) indicando dessa maneira que o aumento da quantidade de substrato artificial resultou em valores mais altos desta variável.

Os valores médios de oxigênio dissolvido medido pela manhã, temperatura da água e pH não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos avaliados (Tabela 2). Por outro lado, os valores médios de oxigênio dissolvido mensurados no período da tarde foram influenciados pelo aporte de carbono nos tanque de criação (contraste 1).

Tabela 2: Variáveis de qualidade de água dos tanques das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos com adição diária de melação (BFT) e sem adição de melação (Controle) e com diferentes quantidades de substratos artificiais (0, 10 e 40% da área de superfície lateral do tanque). Valores médios  $\pm$  desvio padrão; n=4. CV=coeficiente de variação (%). Contrastes ortogonais (valor de P). Contraste 1 (C1) – BFT x controle; Contraste 2 (C2) – controle-0% x controle-10%; Contraste 3 (C3) – efeito linear no BFT; Contraste 4 (C4) – efeito quadrático no BFT.

Variáveis de qualidade de água	Tratamentos					CV (%)	Contrastes			
	BFT-0%	BFT-10%	BFT-40%	Controle-0%	Controle-10%		C1	C2	C3	C4
NAT (mg/L)	3,01 $\pm$ 1,22	2,42 $\pm$ 0,28	7,37 $\pm$ 1,13	2,01 $\pm$ 0,59	2,76 $\pm$ 1,33	28,3	0,001	0,310	0,000	0,019
N-NO <sub>2</sub> (mg/L)	1,19 $\pm$ 0,50	1,37 $\pm$ 0,32	0,05 $\pm$ 0,03	1,63 $\pm$ 0,62	1,33 $\pm$ 0,21	35,5	0,004	0,295	0,000	0,086
N-NO <sub>3</sub> (mg/L)	3,27 $\pm$ 0,90	3,99 $\pm$ 0,77	0,29 $\pm$ 0,12	4,68 $\pm$ 1,78	3,85 $\pm$ 0,33	30,1	0,001	0,247	0,000	0,031
P-PO <sub>4</sub> (mg/L)	0,41 $\pm$ 0,08	0,31 $\pm$ 0,18	0,14 $\pm$ 0,10	0,80 $\pm$ 0,14	0,62 $\pm$ 0,06	26,4	0,000	0,052	0,005	0,675
SST (mg/L)	105,7 $\pm$ 28,3	67,4 $\pm$ 15,9	37,4 $\pm$ 27,2	40,3 $\pm$ 5,1	19,9 $\pm$ 5,2	35,5	0,000	0,155	0,000	0,102
VBF (mL/L)	10,3 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 1,0	0,2 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 1,1	24,1	0,000	0,611	0,000	0,000
Alcalinidade (mg/L)	99,3 $\pm$ 6,8	98,7 $\pm$ 2,2	128,7 $\pm$ 5,9	94,7 $\pm$ 10,5	96,0 $\pm$ 3,3	6,2	0,000	0,773	0,000	0,070
pH	7,9 $\pm$ 0,0	7,8 $\pm$ 0,1	8,0 $\pm$ 0,0	7,9 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,0	0,6	0,256	0,060	0,003	0,250
OD manhã (mg/L)	6,8 $\pm$ 0,2	6,5 $\pm$ 0,1	6,5 $\pm$ 0,3	6,7 $\pm$ 0,0	6,7 $\pm$ 0,4	3,6	0,367	0,883	0,206	0,302
OD tarde (mg/L)	5,6 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,3	5,7 $\pm$ 0,2	6,2 $\pm$ 0,1	6,2 $\pm$ 0,6	6,2	0,007	0,938	0,682	0,928
Temp. manhã (° C)	25,8 $\pm$ 0,1	26,1 $\pm$ 0,5	26,0 $\pm$ 0,4	26,0 $\pm$ 0,1	25,8 $\pm$ 0,2	1,2	0,605	0,395	0,469	0,223
Temp. tarde (° C)	27,0 $\pm$ 0,1	27,3 $\pm$ 0,3	27,2 $\pm$ 0,3	27,2 $\pm$ 0,1	27,0 $\pm$ 0,2	0,8	0,509	0,374	0,391	0,064

NAT – nitrogênio amoniacal total; N-NO<sub>2</sub> – nitrogênio na forma de nitrito; N-NO<sub>3</sub> – nitrogênio na forma de nitrato; P-PO<sub>4</sub> – fósforo na forma de ortofosfato; SST sólidos suspensos totais; VBF – volume de bioflocos; OD oxigênio dissolvido; Temp. – temperatura.

### 3.2. Parâmetros zootécnicos

Os valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico e os resultados dos contrastes ortogonais estão representados na Tabela 3. As taxas de crescimento (peso médio final, comprimento total e taxa de crescimento específico) das larvas de tilápia não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos ( $P > 0,05$ ).

Os valores médios de conversão alimentar aparente (CAA) observados nos tratamentos que receberam adição de melão foram inferiores aos observados nos tratamentos-controle (contrate 1 – Tabela 3). As taxas de sobrevivência nos tratamentos com bioflocos foram superiores em relação aos controles, indicando um efeito benéfico da utilização da adição de melão ao sistema no desempenho das larvas de tilápia.

Os valores de biomassa total obtida nos tanques de 50 litros nos tratamentos BFT variaram de 30 a 38 gramas (Tabela 3), representando uma biomassa de aproximadamente 0,6 a 0,76 kg/m<sup>3</sup> de peixes. Já os valores de biomassa total para os tanques que não receberam a adição de melão (controles) variaram de 19 a 23 gramas, correspondendo a uma biomassa aproximada de 0,38 a 0,46 kg/m<sup>3</sup>.

A frequência de ocorrência de larvas em cada classe de tamanho (P, M e G), obtida por classificação manual, não apresentou diferença significativa nos diferentes tratamentos. Os valores médios de porcentagem de peixes em cada classe de tamanho foram de 18,2%, 41,5% e 40,3% de indivíduos pequenos, médios e grandes, respectivamente.

Tabela 3: Desempenho zootécnico das larvas de tilápia-do-nylo criadas em sistema de bioflocos com adição diária de melaço (BFT) e sem adição de melaço (Controle) e com diferentes quantidades de substratos artificiais (0, 10 e 40% da área de superfície lateral do tanque). Valores médios  $\pm$  desvio padrão; n=4. CV=coeficiente de variação (%). Contrastes ortogonais (valor de P). Contraste 1 (C1) – BFT x controle; Contraste 2 (C2) – controle-0% x controle-10%; Contraste 3 (C3) – efeito linear no BFT; Contraste 4 (C4) – efeito quadrático no BFT.

Desempenho zootécnico	Tratamentos					CV (%)	Contrastes			
	BFT-0%	BFT-10%	BFT-40%	Controle-0%	Controle-10%		C1	C2	C3	C4
Peso médio (mg)	298,1 $\pm$ 37,7	286,2 $\pm$ 54,7	275,8 $\pm$ 37,3	320,0 $\pm$ 42,2	313,6 $\pm$ 69,1	16,6	0,738	0,535	0,543	0,666
Comprimento total (mm)	27,4 $\pm$ 1,2	26,5 $\pm$ 2,2	28,1 $\pm$ 2,3	27,8 $\pm$ 1,3	27,6 $\pm$ 1,4	6,3	0,627	0,851	0,420	0,351
CAA	1,4 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 1,0	2,6 $\pm$ 1,0	3,1 $\pm$ 1,2	41,8	0,008	0,451	0,356	0,940
TCE 0-28dias (%/dia)	13,2 $\pm$ 0,5	13,1 $\pm$ 0,7	13,0 $\pm$ 0,5	13,5 $\pm$ 0,5	13,4 $\pm$ 0,9	4,8%	0,245	0,779	0,565	0,792
Sobrevivência (%)	84,2 $\pm$ 10,0	82,7 $\pm$ 6,7	75,5 $\pm$ 29,5	48,0 $\pm$ 20,0	41,7 $\pm$ 15,9	20,8	0,001	0,646	0,550	0,957
Biomassa total (g)	38,0 $\pm$ 9,0	35,7 $\pm$ 8,6	30,1 $\pm$ 9,9	23,0 $\pm$ 10,2	19,0 $\pm$ 6,9	30,9	0,005	0,538	0,219	0,950
Classe de tamanho (%)										
P (<2,2 mm)	17,6 $\pm$ 6,8	21,1 $\pm$ 9,4	18,8 $\pm$ 7,1	14,4 $\pm$ 8,5	19,2 $\pm$ 6,5	22,6	0,484	0,332	0,962	0,550
M (2,2 - 2,8 mm)	45,8 $\pm$ 6,5	39,5 $\pm$ 5,0	40,9 $\pm$ 11,8	41,1 $\pm$ 13,5	40,1 $\pm$ 7,6	14,0	0,737	0,909	0,597	0,425
G (>2,8 mm)	36,7 $\pm$ 10,6	39,5 $\pm$ 10,8	40,3 $\pm$ 17,4	44,5 $\pm$ 12,2	40,7 $\pm$ 12,1	19,3	0,526	0,668	0,735	0,813

CAA – Conversão alimentar aparente; TCE – Taxa de crescimento específico. P- pequenos; M – médios; G – grandes.

#### 4. Discussão

No presente trabalho esperava-se que a adição de substratos artificiais promovesse algum efeito benéfico no controle dos parâmetros de qualidade de água ou no desempenho das larvas de tilápia cultivadas em sistema de bioflocos sem renovação de água. Avaliando a flutuação temporal dos compostos nitrogenados é possível observar que o processo de nitrificação foi importante para a manutenção da concentração de amônia total e nitrito na água em níveis baixos a partir da segunda semana de criação (Figura 2). Isso indica que mesmo nos tratamentos sem a adição de substrato artificial, as bactérias nitrificantes foram capazes de se desenvolver e de transformar a amônia em nitrito e nitrato. Schweitzer et al. (2013) avaliaram a utilização de substratos artificiais em uma criação de camarões marinhos em sistema de bioflocos e observaram uma taxa de nitrificação semelhante nos tanques com e sem a presença de substratos, sugerindo que as bactérias presentes na coluna da água são capazes de realizar o processo de nitrificação.

A utilização de substrato em excesso no tratamento BFT-40% acabou prejudicando o processo de nitrificação ao invés de favorecer o desenvolvimento das bactérias nitrificantes, contrariando o que se esperava. A formação de zonas anaeróbicas nas camadas mais internas dos substratos pode ser uma das causas para a baixa eficiência do processo de nitrificação neste tratamento. Outra evidência desse efeito prejudicial foi o aumento no valor de alcalinidade deste tratamento que é muito comum quando ocorrem os processos de desnitrificação (Kim e Bae, 2000).

Luo et al. (2014), em um trabalho comparando os sistemas de bioflocos e de recirculação de água, sugerem que o crescimento e multiplicação dos microrganismos presentes no bioflocos favorecem a assimilação do fósforo que não é utilizado pelos peixes, possibilitando assim uma taxa de retenção mais eficiente deste nutriente nos peixes. A concentração de ortofosfato final nos tratamentos BFT foi significativamente inferior em relação aos tanques controles, indicando desta maneira que o manejo adição de melaço nos tanques auxiliou no controle da concentração de fósforo no sistema.

A utilização de substratos artificiais para aumentar áreas de superfície para fixação de organismos (biofilme) capazes de promover melhor desempenho dos animais ou na qualidade da água do sistema de produção parece ter maior

importância com o aumento do volume do tanque de criação, uma vez que com o aumento do volume do tanque diminui a razão entre a área de parede lateral e o volume de tanque. No presente estudo, foram utilizados tanques de baixo volume de água (50 litros) e as razões entre as áreas de superfície vertical (parede do tanque + substrato artificial) e o volume dos tanques foram de 95, 105 e 133 cm<sup>2</sup>/L para os tratamentos com adição de substratos artificiais nas proporções de 0, 10 e 40% da área de superfície lateral dos tanques. No trabalho de Lara (2012) foram utilizados tanques retangulares de 800 litros, gerando uma razão entre a área de superfície vertical e o volume de tanque de aproximadamente 34, 103 e 171 cm<sup>2</sup>/L para os tratamentos com a adição de substrato na proporção de 0, 200 e 400% da área de superfície lateral dos tanques, respectivamente. A utilização de substratos artificiais favoreceu o crescimento dos camarões e auxiliou no controle do nitrito da água; porém, no tratamento com a adição de 400% da área de superfície lateral do tanque, a concentração média de nitrato foi inferior em relação aos demais tratamentos, possivelmente devido ao desenvolvimento de algas formando um biofilme sobre o substrato.

Schweitzer et al. (2013) utilizaram tanque circulares de 850 litros e a razão entre a área de superfície vertical e o volume do tanque foi de aproximadamente 30 e 70 cm<sup>2</sup>/L para os tratamentos sem e com a presença de substratos artificiais, respectivamente. Nesse trabalho, os autores observaram melhor taxa de crescimento e sobrevivência nos tratamentos com a adição de substratos artificiais, principalmente em altas densidades de estocagem, indicando a importância da utilização de substrato para redução da densidade de estocagem relativa (área de superfície utilizada pelos animais).

Com base nos resultados obtidos é possível concluir que o manejo de adição diária de melaço nos tanques promove melhores taxas de sobrevivência das larvas. Já a adição de substrato artificial em excesso pode comprometer a qualidade de água resultando em pior desempenho das larvas de tilápia.

## 5. Referências Bibliográficas

Arnold, S.J., Sellars, M.J., Crocos, P.J., Coman, G.J. 2006. Intensive production of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon*: An evaluation of stocking density and artificial substrates. *Aquaculture* 261, 890-896.

Arnold, S.J.; Coman, F.E.; Jackson, C.J.; Groves, S.A. 2009. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: An evaluation of artificial substrates and stocking density. *Aquaculture* 293, 42-48.

Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34, 172–178.

Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.

Azim, M.E.; Verdegem, M.C.J.; Khatoon, H.; Wahab, M.A.; van Dam, A.A.; Beveridge, M.C.M. 2002. A comparison of fertilization, feeding and three periphyton substrates for increasing fish production in freshwater pond aquaculture in Bangladesh. *Aquaculture* 212, 227-243.

Azim, M.E.; Verdegem, M.C.J.; Singh, M.; van Dam, A.A.; Beveridge, M.C.M. 2003. The effects of periphyton substrate and fish stocking density on water quality, phytoplankton, periphyton and fish growth. *Aquaculture Research* 34 (9), 685-695.

Azim, M.E.; Verdegem, M.C.J.; van Dam, A.A.; Beveridge, M.C.M. 2005. *Periphyton: Ecology, Exploitation and Management*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 319 pp.

DeLong, D.P.; Losordo, T.M. 2012. *How to start a biofilter*. SRAC Publication 4502.

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.

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.

Golterman, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. 1978. *Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwater*, Blackwell Scientific Publication, London, 1978.

Guerrero, R.D. 1975 Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society* 104 (2), 342-348.

Keshavanath, P.; Gangadhar, B.; Ramesh, T.J.; van Rooij, J.M.; Beveridge, M.C.M.; Baird, D.J.; Verdegem, M.C.J.; van Dam, A.A. 2001. Use of artificial substrates to enhance production of freshwater herbivorous fish in pond culture. *Aquaculture Research* 32, 189-197.

Kim, E.W.; Bae, J.H., 2000. Alkalinity requirements and the possibility of simultaneous heterotrophic denitrification during sulfur utilizing autotrophic denitrification. *Water Science and technology* 42, 233–238.

Koroleff, F. 1976. Determination of nutrients. In: K. Grassnof (ed.), *Methods of sea water analysis*, Verlag Cemie. Weinheim., New York.

Lara, G.R. 2012. Técnicas de manejo aplicadas à redução das concentrações de nitrito na água de cultivo *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande - FURG. 67 pp.

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.

Moss, K.R.K.; Moss, S.M. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture Society* 35, 536-542.

R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Richard, M.; Trottier, C.; Verdegem, M.C.J.; Hussenot, J.M.E. 2009. Submersion time, depth, substrate type and sampling method as variation sources of marine periphyton. *Aquaculture* 295, 209–217.

Schneider, O.; Sereti, V.; Machiels, M.A.M.; Eding, E.H.; Verreth, J. A. J. 2006. The potential of producing heterotrophic bacterial biomass on aquaculture waste. *Water Research* 40, 2684–2694.

Schweitzer, R., Arantes, R., Baloi, M. F., Costódio, P. F. S., Arana, L. V., Seiffert, W. Q. & Andreatta, E. R. (2013). Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacultural Engineering* 54, 93-103.

Serafini, R.L.; Wasielesky Jr., W.; Portella, M.C. Growth performance of Tilapia fry *Oreochromis niloticus* reared in clear water and in bio-floc technology System (BFT) during the sex reversal phase. In: *Aquaculture 2013*. Nashville. Disponível em: <https://www.was.org/meetingabstracts/ShowAbstract.aspx?Id=29262> Acesso em: 10 de out. 2014.

Serafini, R.L.; Wasielesky Jr., W.; Portella, M.C. Influence of stocking density in larviculture of Nile Tilapia reared in bio-flocs technology system (BFT). In: *World Aquaculture Adelaide 2014*. Adelaide, South Australia. Disponível em: <https://www.was.org/meetingabstracts/ShowAbstract.aspx?Id=33411>. Acesso em: 10 de out. 2014.

Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Ottawa: Fishery Research Board Canada. 310 pp.

Yossa, R.; Verdegem, M. Misuse of multiple comparison tests and underuse of contrast procedures in aquaculture publications. *Aquaculture*, v. 437, p. 344-350, 2015.

### CAPÍTULO III – Influência da densidade de estocagem na larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos.

#### Resumo

O sistema de bioflocos vem se destacando por ser ecologicamente correto, não apenas por permitir a utilização de pouca quantidade de água, mas também porque permite taxas de conversão alimentar mais eficientes, uma vez que os flocos microbianos podem ser ingeridos por alguns organismos aquáticos. A densidade de estocagem dos animais varia de acordo com o sistema de produção utilizado e é um dos parâmetros que mais influenciam o desempenho produtivo dos peixes. O objetivo deste estudo foi avaliar a densidade de estocagem mais apropriada para larvicultura de tilápia-do-nylo em sistema de bioflocos. Para isso, foi realizado um experimento de 28 dias com larvas de tilápia estocadas nas densidades de 1, 3, 5 e 7 larvas por litro, em tanques de 50 litros de volume útil. Quatro vezes por dia as larvas foram alimentadas com ração comercial (52% PB), contendo 60 mg kg<sup>-1</sup> de 17-alfa-metil-testosterona, de acordo com a biomassa de peixes (10-30%), e diariamente foi adicionado melão com base no aporte de nitrogênio contido na ração. Após quatro semanas, os parâmetros zootécnicos foram negativamente influenciados pelo aumento da densidade de estocagem. As taxas de sobrevivência nos tratamentos com altas densidades (5 e 7 larvas/L) foram significativamente menores do que em densidades de estocagem mais baixas (1 e 3 larvas/L). Algumas variáveis de qualidade da água, tais como oxigênio dissolvido, pH, amônia total, sólidos suspensos totais e ortofosfato apresentaram alta correlação com as densidades de estocagem testadas. Com base nos resultados da análise de regressão da biomassa final, estima-se que quatro larvas por litro é a densidade de estocagem máxima que pode ser utilizada na larvicultura de tilápia em sistema de bioflocos.

Palavras-Chaves: *Oreochromis niloticus*, densidade de estocagem, bioflocos, qualidade de água, desempenho zootécnico, larvicultura.

## Influence of stocking density in larviculture of Nile tilapia reared in bio-flocs technology system (BFT)

### Abstract

The bio-floc technology system (BFT) has been in evidence for being ecologically friendly, not only because it allows water saving, but also because enables more efficient feed conversion rates, since the flocs can be ingested by certain aquatic species. The stocking density varies according to the production system used and is one of the parameters that greatly affect fish performance. The aim of this study was to evaluate the most appropriate stocking density for tilapia larviculture in small-scale BFT system. A 4-week trial was carried with tilapia larvae stocked at densities of 1, 3, 5 and 7 larvae per liter, in 50 liters tanks. Commercial feed (50% CP), containing 60 mg kg<sup>-1</sup> of 17-alpha-methyl-testosterone hormone, was supplied four times a day according to fish biomass (30-10%), and the molasses was added once a day based on the nitrogen content of the feed. After 4 weeks, the zootechnical parameters were negatively influenced by the increase in stocking density. Survival rates in the high-density treatments (5 and 7 larvae/L) were significantly lower than in lower stocking densities (1 and 3 larvae/L). Some variables of water quality, such as dissolved oxygen, pH, total ammonia, total suspended solids and orthophosphate showed high correlation with the stocking density. Based on the results of the final biomass regression analysis, it is estimated that 4 larvae per liter is the maximum stocking density that can be used during the larviculture of tilapia under small-scale bio-floc technology system.

Key words: *Oreochromis niloticus*, stocking density, bioflocs, water quality, growth performance, larviculture.

## 1. Introdução

A criação tilápia-do-nilo é muito importante na aquicultura mundial devido a algumas características favoráveis como sua rusticidade, crescimento rápido, hábito alimentar onívoro e qualidade do filé. Porém, a espécie apresenta a desvantagem de se reproduzir prematuramente nas unidades de produção ocasionando uma superpopulação que acaba prejudicando o crescimento e a homogeneidade do lote de peixes. Uma alternativa prática para este problema é a utilização de criações de indivíduos do mesmo sexo (apenas machos) que podem ser facilmente obtidos por meio do processo de masculinização, obtido pelo fornecimento de ração contendo hormônios masculinizantes (Buddle, 1984).

A densidade de estocagem de larvas é um dos fatores econômicos mais importantes na produção formas jovens uma vez que, por um lado pode permitir a otimização das unidades de produção, mas por outro também pode influenciar a taxa de sobrevivência e o crescimento dos organismos criados (Sanches e Hayashi, 1999). A densidade de estocagem ideal de larvas de tilápia durante a etapa de reversão sexual depende do sistema de produção utilizado (e.g. viveiros escavados, hapas, tanques de alvenaria etc.) e também do nível de renovação da água do sistema. Existem muitos trabalhos avaliando a densidade de estocagem de larvas de tilápia durante esta etapa do cultivo em hapas (Sanches e Hayashi, 1999; Vera Cruz e Mair, 1994), em sistemas de recirculação (Tachibana et al., 2008; Dambo e Rana, 1992; El-Sayed, 2002; Macintosh e Silva, 1984) e em água salinizada (Luz et al., 2012), porém não existe informação sobre a densidade de estocagem ideal de larvas de tilápia cultivadas em sistema de bioflocos.

O sistema de bioflocos é caracterizado por promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que são capazes de assimilar grande parte dos compostos nitrogenados da água, evitando problemas de toxicidade destes compostos. Quando a relação carbono e nitrogênio é bem equilibrada no sistema, os resíduos nitrogenados gerados pelos organismos cultivados (especialmente amônia) são convertidos em biomassa bacteriana (Schneider et al., 2005). A adição de fontes de carboidratos no ambiente de cultivo promove o crescimento bacteriano, imobilizando o nitrogênio inorgânico do sistema por meio da produção de proteínas microbianas (Avnimelech, 2009).

Outra vantagem em adotar o sistema de bioflocos é que além de utilizar menos água para o cultivo de organismos aquáticos, possibilita taxas de conversão alimentar mais eficientes, uma vez que os flocos podem ser ingeridos pelos animais cultivados, servindo como uma fonte extra de alimento (McIntosh, 2000; Burford et al., 2004; Wasielesky et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do aumento da densidade de estocagem nas variáveis de qualidade de água e no desempenho de larvas de tilápia criadas em sistema de bioflocos e estimar a densidade de estocagem segura para esse sistema de produção.

## 2. Material e Métodos

O presente estudo foi realizado durante março e abril de 2013, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo – Brasil (21°14'16"S 48°17'37"W).

As larvas de tilápia-do-nilo da linhagem GIFT com cinco dias após a eclosão ( $7,3 \pm 1,6$  mg de peso úmido e  $8,7 \pm 0,6$  mm de comprimento total) foram transferidas para tanques de 50 litros mantidos com aeração constante e sem renovação da água. Em cada tanque foi inoculado o volume de 10% de água de um tanque contendo bioflocos já estabelecidos, e adicionado substrato artificial (lã acrílica – “wool filter pads”).

As densidades iniciais de 1, 3, 5 e 7 larvas por litro foram testadas em um delineamento totalmente casualizado, com quatro repetições por tratamento. As larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia com ração comercial farelada contendo 52% de proteína bruta (Guabi – Pirá Alevino 55), adicionada de 60 mg/kg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona, de acordo com Guerrero (1975). A quantidade de ração fornecida foi calculada em função das biomassas iniciais e finais para cada densidade de estocagem, variando de 30% do peso vivo no início e diminuindo gradativamente para 10% da biomassa no final do experimento. A fertilização de carbono orgânico foi realizada diariamente por meio da adição de melaço conforme o cálculo proposto por De Schryver et al. (2008), que considera que apenas 25% do nitrogênio contido na ração é retido pelos organismos aquáticos, e que são

necessários 6,07 gramas de C para converter 1 grama de NAT (Ebeling et al., 2006).

A alimentação teve que ser suspensa no 22º dia de experimento no tratamento com densidade de 7 larvas/L devido a ocorrência de mortalidade de larvas. Diariamente, as larvas mortas eram retiradas e quantificadas e, ao final do experimento, procedeu-se a contagem total dos peixes para avaliar a sobrevivência nos diferentes tratamentos.

## 2.1 Qualidade da água

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos duas vezes ao dia (manhã e tarde) por meio de um oxímetro portátil (YSI550). As concentrações de amônia total, nitrito e nitrato foram medidas três vezes por semana de acordo com as metodologias de Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978). O pH foi medido duas vezes por semana, com um pHmetro digital (YSI F1100).

O volume de bioflocos (VBF) e a quantidade de sólidos suspensos totais foram mensurados com a utilização do cone de Imhoff (Avnimelech, 2007) e gravimetricamente por meio da filtração de 25 mL de amostras em filtros de fibra de vidro da marca Macherey-nagel GF-6 (Strickland e Parsons, 1972), respectivamente. A concentração de ortofosfato e a alcalinidade foram medidos de acordo com métodos propostos por Golterman et al. (1978).

## 2.2 Desempenho Zootécnico

Biometrias semanais foram realizadas com 10 larvas por unidade experimental para avaliar o crescimento em peso e comprimento. Para isso, as larvas foram anestesiadas com benzocaína (0,1mg/L), o comprimento total das larvas foi medido por meio de paquímetro digital e as larvas foram pesadas individualmente em balança analítica com precisão de 0,0001g. Ao final dos 28 dias de experimento, as larvas foram contadas para avaliar a sobrevivência e classificadas em três classes de tamanhos: P (<2,2cm), M (2,2-2,8cm) e G (>2,8cm). Após a classificação foi realizada uma amostragem de 10-30% das larvas de acordo com a frequência de cada classe obtida para mensurar o comprimento total e o peso individual dos peixes.

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram calculados: taxa de crescimento específico (TCE, %) =  $[(\ln PM_2 - \ln PM_1) / (t_2 - t_1) \times 100]$ , onde  $PM_2$  e  $PM_1$  representam os pesos médios no dia  $t_2$  e  $t_1$  respectivamente; conversão alimentar aparente (CAA) =  $[(\text{ração fornecida}) / (\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})]$ ; Sobrevivência (%) =  $[(\text{número final de animais}) / (\text{número inicial de animais}) \times 100]$ ; biomassa (g) =  $(\text{peso médio final} \times \text{número final de animais})$ .

### 2.3 Análise estatística

As variações das concentrações médias dos compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) ao longo do experimento foram representadas graficamente, e os valores médios das variáveis de qualidade de água foram submetidos à análise de variância seguido do teste Tukey para avaliar diferenças entre as densidades de estocagem. O nível de significância adotado foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

Os resultados de desempenho das larvas foram submetidos à análise de regressão polinomial, depois de verificadas a normalidade dos dados (Cramer-von Mises) e a homogeneidade das variâncias (Levene). Os graus de liberdade dessas variáveis foram desdobrados em efeitos linear, quadrático ou cúbico e adotou-se o modelo de maior grau significativo (Zar, 1996). Para realizar as análises de variância e de regressão polinomial foi utilizado o software R (R Core Team, 2012).

## 3. Resultados

### 3.1. Qualidade da água

Os gráficos dos compostos nitrogenados (Figura 1) indicam um acúmulo inicial de amônia total (AT) nos tratamentos com densidade acima de 3 larvas por litro com um pico próximo ao 15º dia de experimento. Após este pico, ocorreu a redução na concentração de AT e aumentou a concentração de nitrito e nitrato.

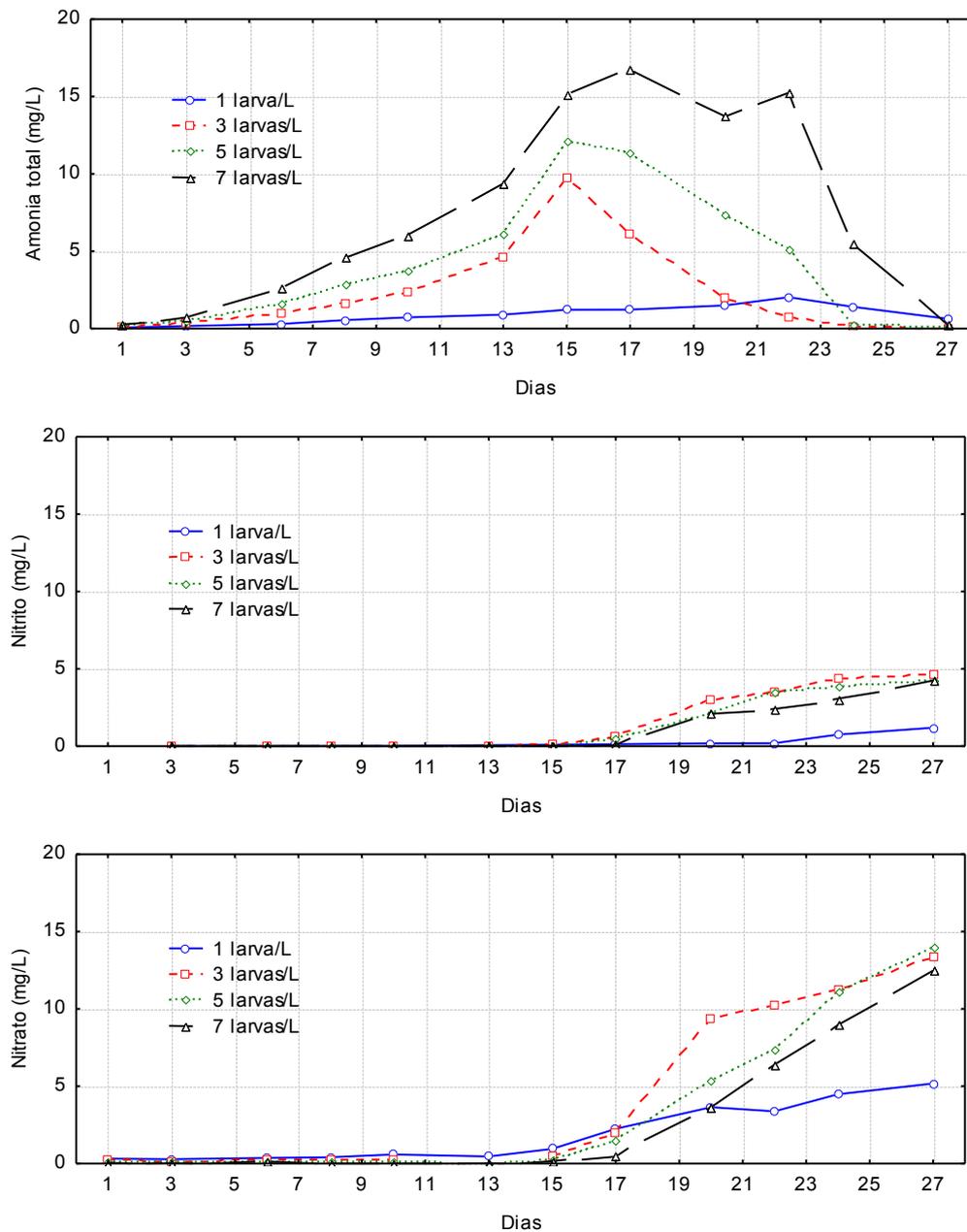


Figura 1: Variação temporal da concentração dos compostos nitrogenados (amônia total, nitrito e nitrato). Valores médios  $\pm$  desvio padrão (n=4).

As concentrações médias de amônia no tratamento com 7 larvas por litro foram maiores do que nos tratamentos com 1 e 3 larvas por litro ( $P < 0,05$ ), atingindo picos de até 30 mg/L de  $N-NH_4$  em algumas repetições deste tratamento.

A concentração de fósforo foi mais elevada ( $P < 0,05$ ) no tratamento com 7 larvas/L (Tabela 1), uma vez que o aporte de ração foi maior neste tratamento. Os valores de sólidos em suspensão e os volumes de bioflocos foram mais baixos nos tratamentos com 1 e 3 larvas por litros ( $P < 0,05$ ). Já as concentrações de oxigênio

dissolvido, principalmente no período da tarde, foram negativamente influenciadas ( $P<0,05$ ) pelas densidades de estocagem mais elevadas (5 e 7 larvas por litro).

Também a alcalinidade total foi superior ( $P<0,05$ ) no tratamento com 7 larvas/L comparada aos tratamentos com 1 e 3 larvas/litro, e o maior valor médio de pH foi observado na densidade de estocagem de uma larva por litro. Já as demais variáveis como nitrito, nitrato e temperatura não apresentaram diferenças significativas ( $P>0,05$ )

Tabela 1: Variáveis de qualidade da água dos tanques de larvicultura de tilápia-do-nilo com diferentes densidades de estocagem. Média  $\pm$  desvio padrão (n=4).

Variáveis	Densidade de Estocagem (larvas/L)			
	1	3	5	7
Amônia total (mg/L de N-AT)	0,90 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	2,42 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	4,31 $\pm$ 1,51 <sup>ab</sup>	7,53 $\pm$ 2,89 <sup>b</sup>
Nitrito (mg/L de N-NO <sub>2</sub> )	0,22 $\pm$ 0,06	1,37 $\pm$ 0,32	1,20 $\pm$ 0,65	1,00 $\pm$ 0,84
Nitrato (mg/L de N-NO <sub>3</sub> )	1,86 $\pm$ 0,46	3,99 $\pm$ 0,77	3,36 $\pm$ 0,82	2,70 $\pm$ 1,73
Ortofosfato (P-PO <sub>4</sub> )	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,31 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	0,80 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
Sólidos suspensos totais (mg/L)	18,1 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>	67,4 $\pm$ 15,9 <sup>a</sup>	180,5 $\pm$ 34,6 <sup>b</sup>	244,1 $\pm$ 61,6 <sup>b</sup>
Volume de bioflocos (mL/L)	6,8 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	23,9 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>	61,4 $\pm$ 11,7 <sup>b</sup>	82,5 $\pm$ 19,9 <sup>b</sup>
Alcalinidade (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	97,7 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	98,7 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>	102,7 $\pm$ 4,5 <sup>ab</sup>	125,3 $\pm$ 21,0 <sup>b</sup>
pH	8,02 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	7,84 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	7,79 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	7,80 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
Oxigênio dissolvido (mg/L)				
manhã	7,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	6,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	6,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	6,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
tarde	6,8 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	5,6 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	4,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	4,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
Temperatura da água (°C)	26,6 $\pm$ 0,2	26,7 $\pm$ 0,4	26,6 $\pm$ 0,2	26,8 $\pm$ 0,5

Médias com diferentes letras nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

### 3.2. Desempenho das larvas

O crescimento (peso médio e comprimento total) das larvas submetidas às diferentes densidades de estocagem foi semelhante até as duas primeiras biometrias (7 e 14 dias). A partir do 21º dia de experimento, o crescimento das larvas foi negativamente afetado pelo aumento da densidade de estocagem (Figura 2).

Os resultados dos parâmetros de desempenho final das larvas (peso médio, comprimento total e taxa de crescimento específico) foram inversamente proporcionais às densidades de estocagem avaliadas, indicando um efeito prejudicial com o aumento da densidade de estocagem (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho zootécnico das larvas de tilápia-do-nilo submetidas às diferentes densidades de estocagem após 28 dias de experimento.

Parâmetro	Densidade de estocagem (Larvas/L)				CV (%)	Valor de $P^1$			Equação de regressão
	1	3	5	7		linear	quadrática	cúbica	
Peso médio final (mg)	328,9	304,7	248,3	180,7	27,1	0,000	0,366	0,841	$Y = -25,052x + 365,830$ ( $r^2 = 0,9622$ )
Comprimento total (mm)	28,6	26,9	25,7	23,5	9,2	0,001	0,747	0,677	$Y = -0,834x + 29,508$ ( $r^2 = 0,9869$ )
TCE (%/dia)	13,6	13,3	12,5	11,4	8,5	0,001	0,292	0,956	$Y = -0,368x + 14,169$ ( $r^2 = 0,9456$ )
Sobrevivência (%)	91,5	82,7	60,2	19,4	49,4	0,000	0,040	0,883	$Y = -1,996x^2 + 4,035x + 89,228$ ( $r^2 = 0,9996$ )
Biomassa final (g)	15,0	37,9	39,1	13,7	62,5	0,915	0,002	0,853	$Y = -3,018x^2 + 23,995x - 6,184$ ( $r^2 = 0,9978$ )
CAA	1,11	1,39	1,80		25,8	0,007	0,672		$Y = 0,170x + 0,921$ ( $r^2 = 0,9871$ )

<sup>1</sup> Grau do polinômio (linear, quadrático e cúbico) do efeito do aumento da densidade de estocagem.

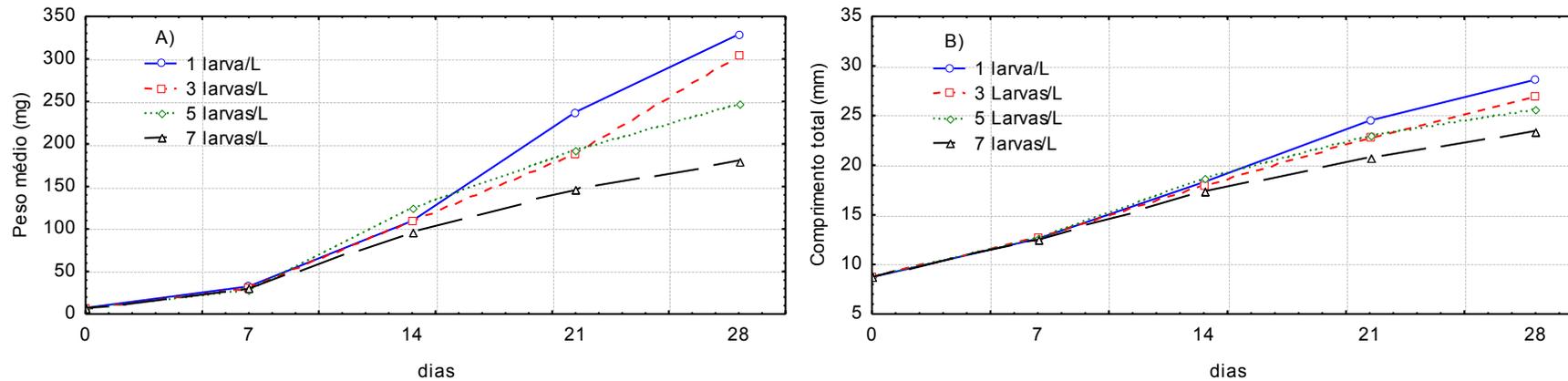


Figura 2: Curvas de crescimento em peso (A) e em comprimento total (B) das larvas de tilápia-do-nilo submetidas às diferentes densidades de estocagem.

As taxas de sobrevivências nos tratamentos com altas densidades (5 e 7 larvas/L) foram significativamente menores do que os tratamentos com baixa densidade de estocagem (1 e 3 larvas/L). A biomassa total quantificada ao final do experimento apresentou um efeito quadrático, e a densidade de estocagem máxima estimada através do modelo quadrático foi de quatro larvas por litro.

Na terceira semana de experimento foi observada grande mortalidade de larvas nos tanques estocados com 7 larvas/L, e a alimentação foi suspensa nesse tratamento para evitar que os parâmetros de qualidade de água piorassem ainda mais (Figura 3). A conversão alimentar aparente não foi quantificada nessa densidade devido à baixa taxa de sobrevivência final obtida neste tratamento. Para as demais densidades, a taxa de conversão alimentar aparente foi negativamente influenciada pelas densidades de estocagem, indicando menor eficiência no aproveitamento da ração em altas densidades de estocagem (Tabela 2).

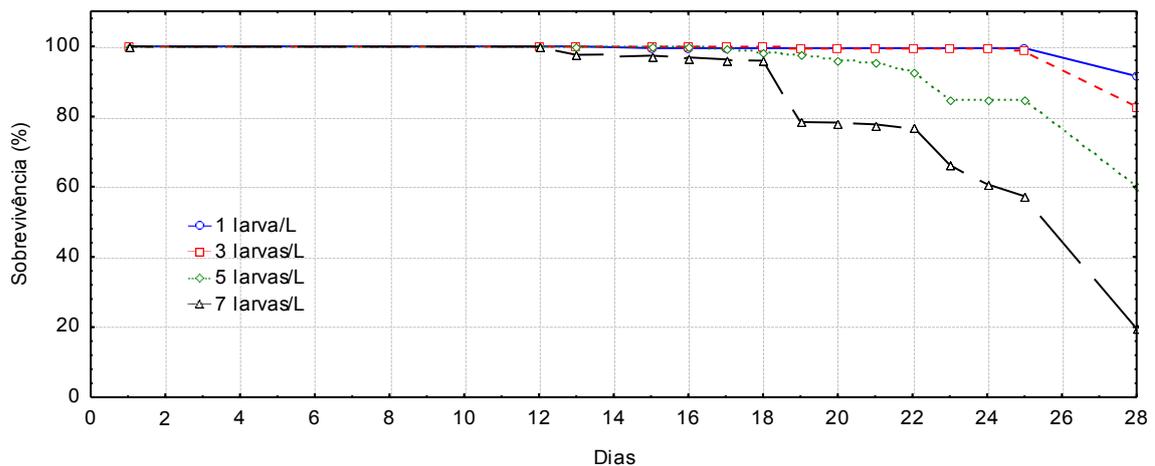


Figura 3: Sobrevivência das larvas de tilápia-do-nylo submetidas a diferentes densidades de estocagem ao longo do experimento.

#### 4. Discussão

Na densidade de estocagem de 7 larvas/L a concentração de amônia total manteve-se elevada devido ao alto aporte de nitrogênio da ração, indicando que os processos de nitrificação e/ou a assimilação de amônia pelas bactérias heterotróficas não foram suficientes para manter baixa a concentração deste nutriente. Os valores de amônia total neste tratamento só começaram a diminuir na terceira semana de experimento, justamente quando a alimentação para esta densidade de estocagem foi interrompida (Figura 2).

No presente estudo a temperatura média da água variou entre 26 e 28 °C, ficando sempre dentro da faixa ideal para o cultivo de larvas de tilápia (El-Sayed e Kawanna, 2008). Da mesma forma, o pH da água manteve-se dentro da faixa ideal para o crescimento e sobrevivência de juvenis de tilápia (entre 7-8), conforme determinado por El-Sherif e El-Feky (2009).

O aumento inicial da alcalinidade total, junto com a baixa concentração de nitrato nos primeiros 15 dias de experimentos, observado nos tratamentos com as maiores densidades de estocagem (3, 5 e 7 larvas por litros), pode ter ocorrido devido ao processo de desnitrificação, que é realizado por bactérias heterotróficas que transformam nitrato em gás nitrogênio com a formação de bicarbonato (Van Rijn et al., 2006). Após este período, ocorreu um aumento na concentração de nitrato e redução na alcalinidade, indicando que as condições de nitrificação foram estabelecidas.

O processo de nitrificação pode ser afetado pela concentração de oxigênio dissolvido, temperatura, pH, quantidade de bactérias nitrificantes e disponibilidade de superfícies; no entanto, muitos desses fatores estão inter-relacionados tornando essa dinâmica algo bastante complexo (Hargreaves, 1998).

No presente estudo, a partir do momento em que as bactérias nitrificantes aparentemente conseguiram se estabelecer, ficou evidente a importância do processo de nitrificação na redução das concentrações de amônia total. Apesar do sistema de bioflocos buscar o controle dos compostos nitrogenados por meio da assimilação destes pelas bactérias heterotróficas, algumas investigações indicam que o processo de nitrificação é uma via importante para manutenção desses compostos tóxicos dentro dos limites aceitáveis para os organismos cultivados em sistemas de bioflocos (Nootong e Pavasant, 2011; Rakocy et al., 2009; Burford et al., 2003).

A amônia é o principal produto nitrogenado do metabolismo de proteínas de peixes teleósteos (Foster e Goldstein, 1969) sendo encontrada nas formas ionizada ( $\text{N-NH}_4^+$ ) e não-ionizada ( $\text{N-NH}_3$ ). A forma não-ionizada é capaz de atravessar facilmente o epitélio branquial e por isso a toxicidade da amônia em organismos aquáticos é atribuída à essa forma molecular (Thurston et al., 1981). Benli e Koksall (2005) fizeram testes de 48 horas para definir a concentração letal média da amônia não-ionizada e obtiveram os valores de CL50 de 1,0 e 7,4 mg/L de  $\text{N-NH}_3$  para larvas e juvenis de tilápia, respectivamente. No presente trabalho, as altas taxas de

mortalidade observadas no tratamento com a densidade de estocagem de 7 larvas/L podem estar relacionados à toxicidade de amônia, uma vez que as concentrações de amônia não-ionizada alcançaram valores próximos a 1,3 mg/L de N-NH<sub>3</sub>.

Luz et al. (2012) avaliaram diferentes densidades de estocagem de larvas de tilápia em água salinizada artificialmente usando sistema fechado com duas renovações parciais de água por dia (80% do volume dos tanques em cada limpeza), e obtiveram bons resultados em todas as densidades estudadas (1 a 30 larvas por litro). Considerando a densidade máxima no sistema descrito (30 larvas por litro) seriam necessários aproximadamente 2.000 litros de água para produzir um milheiro de juvenis tilápia-do-nilo. No presente trabalho, apesar da densidade ótima obtida ser de apenas 4 larvas por litro, no sistema de bioflocos o consumo de água para produzir este mesmo número de juvenis seria de aproximadamente 380 litros (20% da quantidade de água necessária no outro sistema), demonstrando a eficiência desse sistema para a economia de água na produção aquícola.

Sanches e Hayashi (1999) avaliaram densidades de estocagem de tilápia-do-Nilo entre 2 e 10 por litro e não observaram efeitos negativos das mesmas sobre as taxas de sobrevivência final, ao contrário do que ocorreu com as taxas de crescimento das larvas. Esses autores concluem que com a utilização de densidades de estocagem menores os peixes atingem o tamanho comercial ideal (cerca de 3 cm) mais rapidamente. Por outro lado, adotando-se uma densidade de estocagem maior, faz-se necessário realizar uma nova fase de criação (recria) para permitir que os juvenis alcancem o tamanho ideal.

Por outro lado, em um sistema de recirculação de água, Tachibana et al. (2008) observaram que apesar da densidade de estocagem afetar o crescimento e a homogeneidade das larvas de tilápia-do-nilo, tal variável não influenciou a eficiência de reversão sexual. No presente trabalho a taxa de masculinização não foi avaliada, porém Pérez-Rostro et al. (2012) obtiveram melhores taxas de sobrevivência, ganho em peso e porcentagem de machos com a utilização do sistema de bioflocos em relação ao sistema convencional de recirculação da água.

Muitos outros autores sugerem uma correlação negativa entre a densidade de estocagem e a taxa de crescimento das larvas de tilápia (El-Sayed, 2002; Dambo e Rana, 1992; Sanches et al., 1999; Tachibana et al., 2008). Apesar da densidade de estocagem influenciar negativamente o crescimento individual das larvas, o aumento da densidade de estocagem possibilita um melhor aproveitamento das unidades de

produção (tanques e viveiros), desde que seja respeitada a densidade máxima também conhecida como biomassa econômica (Tachibana et al., 2008). De acordo com Jobling (1994), altas densidades de estocagem podem gerar limitações de espaço, reduzindo desta maneira a taxa de crescimento, além de ocasionar um aumento nos níveis de corticosteroides, indicando assim uma condição de estresse crônico. Barcellos et al. (1999) encontraram relação direta entre a densidade de estocagem e a concentração basal de cortisol no plasma de juvenis de tilápia, indicando um quadro de estresse crônico relacionados à interação social entre os indivíduos.

No presente trabalho, o aumento da densidade de estocagem de larvas de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos ocasionou altas concentrações de amônia tóxica. Essa condição provavelmente afetou negativamente o crescimento e as taxas de sobrevivência das larvas de tilápia. Devido ao desenho experimental utilizado, optou-se por não fazer a correção da amônia, pois se pretendia avaliar como essa variável iria se comportar com o aporte crescente de ração nas densidades mais elevadas. Portanto, supõe-se que o baixo desempenho das larvas nos tratamentos com densidades de estocagem mais elevadas deve ser atribuído mais à deterioração da qualidade da água devido ao alto aporte de nutrientes contidos na ração, do que à densidade propriamente.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a densidade de estocagem é um fator importante para garantir a manutenção dos parâmetros de qualidade de água na larvicultura de tilápia em sistema de bioflocos. O aumento da densidade pode ocasionar altas concentrações de amônia tóxica, afetando negativamente a taxa de crescimento e a sobrevivência das larvas. A densidade segura estimada por meio da análise de regressão da biomassa final que pode ser utilizada nas condições de criação e manejo usados neste experimento é de quatro larvas por litro.

## 5. Referências Bibliográficas

Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.

Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

- Barcellos, L.J.G.; Nicolaiewsky, S.; De Souza, S.M.G.; Lulhier, F. 1999. The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture Research* 30, 887-892.
- Benli, A. C., Koksul, G. & Ozkul, A. (2008). Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72, 1355-8.
- Buddle, R. 1984. Androgen induced sex inversion of *Oreochromis niloticus* Trewavas hybrid fry stocked into cages standing in an earthen pond. *Aquaculture* 40, 233-239, 1984.
- Burford, M.A.; Thompson, P.J.; McIntosh, R.P.; Bauman, R.H.; Pearson, D.C. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393-411.
- Burford, M.A.; Thompson, P.J.; McIntosh, R.P.; Bauman, R.H.; Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525-537.
- Dambo, W.B.; Rana, S.J. 1992. Effect of stocking density on growth and survival of *Oreochromis niloticus* (L.) fry in the hatchery. *Aquaculture and Fisheries Management* 23, 71-80.
- 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.
- 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.
- El-Sayed, A.M. 2002. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. *Aquaculture Research* 33, 621-626.
- El-Sayed, A.M.; Kawanna, M. 2008. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. *Aquaculture Research* 39, 670-672.
- El-Sherif, M.S.; El-Feky, A.M.I. 2009. Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. I. Effect of pH. *International Journal of Aquaculture and Biology* 11, 297-300.
- Foster, R.P.; Goldstein, L., 1969. Formation of excretory products. In: W.S. Hoar e D.J. Randall (editors), *Fish Physiology*, 1. Academic Press, New York, NY, 313-350.
- Golterman, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. 1978. *Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwater*, Blackwell Scientific Publication, London.

Guerrero, R.D. 1975 Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea*. Transactions of the American Fisheries Society 104, 342-348.

Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture 166, 181-212.

Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics Vol. XIV Chapman & Hall, London, 309 pp.

Koroleff, F. 1976. Determination of nutrients. In: K. Grassnof (ed.), Methods of sea water analysis, Verlag Cemie. Weinheim., New York.

Luz, R.K.; Souza e Silva, W.; Melillo Filho, R.; Santos, A.E.H.; Rodrigues, L.A.; Takata, R.; Alvarenga, E.R.; Turra, E.M. 2012. Stocking density in the larviculture of Nile tilapia in saline water. Revista Brasileira de Zootecnia 41, 2385-2389.

Macintosh, D.J; De Silva, S.S. 1984. The influence of stocking density and food ration on fry survival and growth in *Oreochromis mossambicus* and *O. niloticus* female x *O. aureus* male hybrids reared in a closed circulated system. Aquaculture 41, 345-358.

McIntosh, R.P., 2000. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of heterotrophic bacterial communities. Global Aquaculture Advocate 3, 52-54.

Nootong, K.; Pavasant, P. 2011. Effects of Organic Carbon Addition in Controlling Inorganic Nitrogen Concentrations in a Biofloc System. Journal of the World Aquaculture Society 42, 339-346.

Pérez-Rostro, C.I.; Hernández, M.P.; Pérez-Fuentes, J.A. 2012. Effect of 17 alpha metil testosterone in masculinization of tilapia *Oreochromis* sp. under biofloc conditions. In: AQUA 2012. Prague, Czech Republic. Disponível em: <<http://www.was.org/meetingabstracts/ShowAbstract.aspx?Id=26315>>. Acesso em: 20 de out. 2014.

Rakocy, J.E.; Bailey, D.S.; Thoman, E.S.; Shultz, R.C. 2004. Intensive tank culture of tilapia with a suspended, bacterial-based treatment process: new dimensions in farmed tilapia. In: Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Manila, Filipinas 2004. 584–596 p. Disponível em: <<http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ista6/ista6web/index.htm>>. Acesso em: 20 de mai. 2014.

R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Sanches, L.E.F; Hayashi, C., 1999. Densidade de estocagem no desempenho de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), durante a reversão sexual. Acta Scientiarum 21, 619-625.

Schneider, O.; Sereti, V.; Eding, E.H.; Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquaculture Engineering 32, 379-401.

Strickland, J.D.H; Parsons, T.R. 1972. A Practical Handbook of seawater Analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada. 310pp.

Tachibana, L; Leonardo, A.F.G; Corrêa, C.F.; Saes, L.A.2008. Densidade de estocagem de pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. Boletim do Instituto de Pesca 34, 483-488.

Thurston, R.V.; Russo, R.C.; Vinogradov, G.A., 1981. Ammonia toxicity to fish. Effect of pH on the toxicity of the un-ionized ammonia species. Environmental Science Technology 15, 837-840.

Van Rijn, J.; Tal, Y.; Schreier, H.J. 2006. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. Aquacultural Engineering 34, 364-376.

Vera Cruz, E.M.; Mair, G.C., 1994. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture 122, 237-248.

Wasielesky, W.Jr.; 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.

Zar, J.H. 1996. Biostatistical Analysis, Third Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA, 662 pp.

## CAPÍTULO IV – Avaliação de diferentes fontes de carbono e relações de carbono/nitrogênio na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos (BFT)

### Resumo

A utilização de fontes de carboidratos com o intuito de manter uma relação C/N favorável para o desenvolvimento de bactérias heterotróficas é uma prática comum em sistemas com bioflocos (BFT). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fontes de carbono e relações C/N nos parâmetros de qualidade de água e no desempenho de larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos. O experimento teve duração de 28 dias e foram testados oito tratamentos em delineamento fatorial com quatro fontes de carbono (melaço, farinha de milho, farelo de trigo e farelo de arroz) e duas relações C/N (6 e 10). As larvas foram estocadas na densidade de 4 larvas por litro em tanque com volume útil de 50 litros. A alimentação foi realizada quatro vezes ao dia de acordo com a biomassa nos tanques e diariamente foram adicionadas as fontes de carbono para manter a relação C/N nos níveis pré-estabelecidos. Ao final do experimento foram coletadas amostras dos bioflocos para avaliação da composição centesimal desse material. Todas as fontes de carbono testadas promoveram o desenvolvimento dos bioflocos, favorecendo, desta maneira, a manutenção dos parâmetros de qualidade de água dentro dos níveis adequados para o crescimento das larvas. As diferentes fontes de carbono influenciaram o crescimento das larvas (peso médio, comprimento total e taxa de crescimento específico), porém não apresentaram diferenças significativas nas taxas de sobrevivência, biomassa final e conversão alimentar aparente. A composição centesimal dos bioflocos apresentou diferença significativa nos tratamentos com as diferentes fontes de carbono, sendo os tratamentos que receberam melaço e farinha de milho apresentaram os maiores percentuais de proteína bruta. O aumento da relação C/N de 6 para 10 não proporcionou melhores índices de desempenho das larvas e na qualidade de água. Com base nos resultados, conclui-se que diferentes fontes de carbono podem ser utilizadas na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos e que a relação C/N de 6 é adequada para a formação dos flocos bacterianos.

Palavras-Chaves: *Oreochromis niloticus*, fontes de carbono, relação C/N, bioflocos, larvicultura, desempenho zootécnico, qualidade de água.

## Evaluation of different carbon sources and C/N ratio in larviculture of Nile tilapia reared in bioflocos system (BFT)

### Abstract

The use of carbohydrate sources aiming at the maintenance of a high C/N ratio for the development of heterotrophic bacteria is a common practice in biofloc systems technology (BFT). The objective of this study was to evaluate the effect of different carbon sources and C/N ratios on water quality parameters and performance of Nile tilapia larvae reared in biofloc system. A 28-day trial was carried with eight treatments in a factorial design with four carbon sources (molasses, corn meal, wheat bran and rice bran) and two C/N ratios (6 and 10). The larvae were stocked at the density of 4 larvae per liter, in 50 liters tanks. Commercial feed was supplied four times a day according to fish biomass, and the carbon sources were added once a day based on the feed nitrogen content to maintain the C/N ratios. At the end of the experiment samples from the biofloc tanks were collected to evaluate the centesimal composition (crude protein, crude lipid and ash). All carbon sources evaluated promoted the development of bioflocs, favoring the maintenance of water quality parameters within the appropriate levels for larval growth. The different carbon sources influenced the growth of larvae (weight, total length and specific growth rate), but no differences in survival rates, biomass and feed conversion were found. The centesimal composition of bioflocs showed significant differences in treatments with different carbon sources, and the treatments that received molasses and corn meal showed higher crude protein. The increasing of C/N ratio from 6 to 10 did not result in better larval growth performance and benefits to the water quality. These results indicate the possibility to use different carbon sources during the larviculture of Nile tilapia in biofloc system, and the C/N ratio of 6 as suitable for the formation of bioflocs.

**Key words:** *Oreochromis niloticus*, carbon sources, C/N ratio, bioflocs, larviculture, growth performance, water quality.

## 1. Introdução

A utilização do sistema de bioflocos (BFT) vem se destacando no setor aquícola por ser uma alternativa prática para controlar simultaneamente a qualidade da água e a reciclagem dos nutrientes no mesmo tanque onde os organismos são cultivados (Avnimelech, 2009; Crab et al., 2007). Este sistema consiste em manter uma relação entre o carbono e nitrogênio (C/N) elevada para promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que são capazes de assimilar os compostos nitrogenados tóxicos da água, resultando na formação de biomassa bacteriana rica em proteína (De Schryver et al., 2008; Wasielesky et al., 2006).

As espécies cultivadas são capazes de assimilar apenas uma porção do nitrogênio contido no alimento, sendo o restante excretado principalmente na forma de amônia que, por sua vez, acaba degradando a qualidade de água do cultivo. Nos sistemas de produção convencionais, estima-se que apenas 25% do nitrogênio contido na ração são assimilados pelos peixes, sendo que no sistema de bioflocos a eficiência na utilização de proteína pode dobrar, uma vez que os peixes podem aproveitar os flocos bacterianos como uma fonte extra de alimento (Avnimelech, 2009). Carboidratos são fontes baratas de energia comparadas com as proteínas, e a utilização desses ingredientes pode ser uma forma de reduzir o custo de produção de peixes. A adição de carboidratos na água com o objetivo de promover o desenvolvimento de bactérias heterotróficas é uma prática muito comum em sistema de bioflocos.

De acordo com De Schryver et al. (2008), dentre os diversos fatores que influenciam a formação e a composição dos flocos bacterianos, destacam-se a fonte de carbono utilizada, que interfere principalmente na composição química do floco (ácidos graxos, lipídeos, proteína e aldeídos), e o aporte de carbono orgânico (relação C/N), que pode influenciar a composição microbiana dos flocos (bactérias formadoras de flocos versus filamentosas). Crab et al. (2010) estudaram a utilização de diferentes fontes de carbono (acetato, glicerol e glicose) na composição nutricional dos bioflocos formados em reatores, e concluíram que a fonte de carbono tem grande influência na qualidade nutricional dos mesmos. Os resultados indicam que o tratamento que recebeu glicerol como fonte de carbono para formação dos bioflocos apresentou o melhor valor nutricional, com base tanto nas análises

bioquímicas dos bioflocos como nas taxas de sobrevivência das pós-larvas de camarão de água doce alimentadas com esse material.

O ajuste da relação entre carbono e nitrogênio pode ser feita pela utilização de uma dieta a base de grãos com baixo teor proteico ou pela a adição de carboidratos (Crab et al., 2009; Avnimelech, 1999). O cálculo da quantidade de carbono a ser adicionada é feito com base no conteúdo de nitrogênio da ração utilizada (De Schryver et al., 2008) ou em função da concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido na água de cultivo (Avnimelech, 2009).

A maior parte dos produtores de alevinos de tilápia-do-nilo faz a criação inicial das larvas em tanques de pequenos volumes com altas taxas de renovação de água ou em hapas instaladas em viveiros de terra. Estudos conduzidos por Serafini (2015, Capítulos 1, 2 e 3 desta Tese) indicaram que essa fase pode ser conduzida com sucesso em tanques de pequenos volumes em sistema de bioflocos, sem haver necessidade de um preparo antecipado dos tanques, podendo utilizar uma densidade de estocagem de até quatro larvas por litro. No entanto, não existem indicações das fontes de carboidratos e da relação C/N que resultem em melhor desempenho das larvas de tilápia durante a fase inicial de desenvolvimento neste sistema de produção.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fontes de carbono e relações de carbono e nitrogênio no desempenho de larvas de tilápia-do-nilo criadas em sistema de bioflocos, nos parâmetros de qualidade de água e na composição nutricional do bioflocos.

## 2. Material e Métodos

O presente estudo foi realizado durante novembro e dezembro de 2013, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo – Brasil (21°14'16"S 48°17'37"W). As larvas de tilápia da linhagem GIFT utilizadas neste experimento foram obtidas de uma fazenda comercial de produção de alevinos localizada no município de Santa Fé do Sul, SP.

As larvas com quatro dias após a eclosão ( $4,6 \pm 1,4$  mg de peso úmido e  $9,1 \pm 0,9$  mm de comprimento total) foram transferidas para tanques de 50 litros mantidos com aeração constante na densidade inicial de 4 larvas por litro. Em cada

tanque foi inoculado o volume de 10% de água de um tanque contendo bioflocos já estabelecido.

Para avaliar as diferentes fontes de carbono e a relação C/N foi utilizado um delineamento fatorial 4x2, com quatro fontes de carbono (melaço, farinha de milho, farelo de trigo e farelo de arroz) e duas relações C/N: 6 (Ebeling, 2006) e 10 (Avnimelech, 1999), totalizando oito tratamentos com quatro repetições cada. Com exceção do melaço que foi fornecido na forma líquida, as demais fontes foram finamente moídas e peneiradas (partículas menores que 0,45 mm) antes de serem adicionadas aos tanques de criação.

As larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia com ração comercial farelada contendo 45% de proteína bruta (Guabi – Pirá Mirim), adicionada de 60mg/kg de 17- $\alpha$ -metilttestosterona (Guerrero, 1975). A quantidade de ração fornecida foi calculada em função das biomassas iniciais e finais estimadas, e variou entre 20% do peso vivo no início do experimento sendo reduzida gradativamente para 5% no final. A fertilização de carbono orgânico foi realizada diariamente por meio da adição de fontes de carbono conforme o cálculo proposto por De Schryver et al. (2008), que considera que apenas 25% do nitrogênio contido na ração é assimilado pelos peixes e o restante é excretado na forma de amônia

Antes do início do experimento foi realizada uma análise do teor de carbono e nitrogênio contido na ração e nas fontes de carbono utilizadas neste experimento (Tabela 1) e, a partir desse resultado foram estabelecidas as quantidades de cada fonte de carbono para manter as relações de C/N avaliadas.

Tabela 1: Porcentagem de carbono e nitrogênio contida na ração e nas fontes de carbono usadas no experimento.

<b>Ingredientes</b>	<b>Carbono (%)</b>	<b>Nitrogênio (%)</b>	<b>C/N</b>
Ração comercial	43,7	7,1	6,2
Melaço	32,0	0,6	54,7
F. Milho	40,4	1,2	34,9
F. Trigo	40,2	2,4	16,5
F. Arroz	41,5	2,0	20,3

No final do experimento também foram coletadas amostras de bioflocos de cada tanque (decantação de 30 litros de água e centrifugação do material sedimentado), e de larvas para avaliação da composição centesimal dessas amostras. Essas amostras foram liofilizadas para serem analisados os seguintes

parâmetros: proteína bruta (método de combustão de Dumas em aparelho Leco FP-528 LC), extrato etéreo e matéria mineral seguindo os métodos propostos pela AOAC (1995) descritos por Silva e Queiroz (2002).

## 2.1. Qualidade da água

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos duas vezes ao dia (manhã e tarde) por meio de um oxímetro portátil (YSI 550). As concentrações de amônia total, nitrito e nitrato foram medidas três vezes por semana de acordo com as metodologias de Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978). O pH foi medido semanalmente por meio de um pHmetro digital (YSI 1100). O volume de bioflocos (VBF) e a quantidade de sólidos em suspensão foram mensurados semanalmente pela utilização do cone de Imhoff (Avnimelech, 2009) e gravimetricamente por meio da filtragem de 25 mL de amostras em filtros de fibra de vidro da marca Macherey-nagel GF-6 (Strickland e Parsons, 1972), respectivamente. A alcalinidade total e a concentração de ortofosfato foram medidas semanalmente pela metodologia proposta por Golterman et al. (1978).

## 2.2. Desempenho zootécnico

Semanalmente foram coletadas 10 larvas por unidade experimental para avaliar o crescimento em peso e comprimento. Para isso, as larvas foram fixadas em formol 4% e conservadas em álcool 70%. O comprimento total das larvas foi medido por meio de um paquímetro digital e as larvas foram pesadas individualmente em balança analítica com precisão de 0,0001g.

Ao final dos 28 dias de experimento, as larvas foram contadas para avaliar a sobrevivência e classificadas em três classes de tamanhos: P (<2,2cm), M (2,2-2,8cm) e G (>2,8cm). Após essa classificação foi realizada uma amostragem de 20% das larvas, de acordo com a frequência de cada classe obtida, para mensurar o comprimento total e o peso individual.

Os seguintes parâmetros zootécnicos foram calculados: taxa de crescimento específico (TCE, %) =  $[(\ln PM_2 - \ln PM_1)/(t_2 - t_1) \times 100]$ , onde  $PM_2$  e  $PM_1$  representam os pesos médios nos dias  $t_2$  e  $t_1$ , respectivamente; conversão alimentar aparente (CAA) =  $[(\text{ração fornecida})/(\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})]$ ; Sobrevivência (%) =

$[(\text{número final de animais})/(\text{número inicial de animais}) \times 100]$ ; biomassa (g)  $=(\text{peso médio final} \times \text{número final de animais})$ .

### 2.3. Análises estatísticas

Após avaliar a normalidade (Shapiro-Wilk) e a homoscedasticidade das variâncias (Levene), os resultados de qualidade da água e de desempenho das larvas foram submetidos à análise de variância fatorial (two way-ANOVA). Caso alguma variável indicasse interação entre os fatores (fonte de C e relação C/N), foi realizado o desdobramento da interação para a variável em questão. Para os resultados que apresentaram diferença estatística entre os tratamentos foi realizado o teste de Tukey de comparação múltipla das médias. Para realizar as análises de variância foi utilizado o software R (R Core Team, 2012).

## 3. Resultados

### 3.1 Qualidade da água

Os valores médios dos parâmetros de qualidade de água e os resultados das análises de variância (valores de  $F$  e de  $P$ ) estão representados na Tabela 2.

Os valores médios de amônia total não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelas diferentes fontes de carbono e das relações C/N avaliadas, e mantiveram-se próximos a zero ao longo de todo o período experimental. As concentrações médias de nitrito e nitrato apresentaram diferenças ( $P < 0,001$ ) tanto para as fontes de carbono quanto para as relações C/N, porém não foi observado efeito da interação destes dois fatores ( $P > 0,05$ ). Para as diferentes fontes de carbono testadas, os valores de nitrito e nitrato nos tratamentos com farelo de trigo e de arroz foram maiores que nos tratamentos com melaço e farinha de milho. Já a relação C/N foi inversamente proporcional às concentrações médias de nitrito e nitrato, indicando que com o aumento da relação de C/N ocorre uma redução nos valores de nitrito e nitrato.

Tabela 2: Valores médios dos parâmetros de qualidade de água medidos nos diferentes tratamentos e resultados da análise de variância (two-way ANOVA). AT, amônia total; N-NO<sub>2</sub>, nitrito; N-NO<sub>3</sub>, nitrato; P-PO<sub>4</sub>, ortofosfato; Alcal., alcalinidade; SST, sólidos suspensos totais; VBF, volume de bioflocos; OD, oxigênio dissolvido.

	AT (mg/l)	N-NO <sub>2</sub> (mg/l)	N-NO <sub>3</sub> (mg/l)	P-PO <sub>4</sub> (mg/l)	Alcal.(mg/l)	STS (mg/L)	VBF (ml/l)	pH	OD (mg/l)	Temp. (°C)
ANOVA <sup>1</sup>										
Fonte de C	1,36 (ns)	28,61 (***)	8,71 (***)	213,92 (***)	9,71 (***)	4,13 (*)	5,37 (**)	4,14 (*)	0,49 (ns)	0,82 (ns)
Relação C/N	2,44 (ns)	44,75 (***)	20,22 (***)	85,44 (***)	16,25 (***)	14,85 (***)	6,42 (*)	11,33 (**)	9,78 (**)	0,05 (ns)
Fonte de C x Relação C/N	0,38 (ns)	2,18 (ns)	2,40 (ns)	39,91 (***)	0,17 (ns)	1,35 (ns)	3,44 (*)	0,47 (ns)	0,50 (ns)	0,06 (ns)
Comparação Multipla (Tukey para Fonte de C) <sup>2</sup>										
Melaço	0,63	0,30 b	2,25 b	0,32	100,5 a	95,1 ab	15,2	7,47 b	6,36	26,18
Milho	0,87	0,29 b	2,12 b	1,18	97,8 ab	81,4 ab	4,9	7,54 a	6,45	26,12
F. Trigo	0,73	0,54 a	3,52 a	1,85	93,5 c	68,6 b	2,8	7,52 ab	6,39	26,16
F. Arroz	0,62	0,51 a	3,36 a	3,03	94,1 bc	100,2 a	22,4	7,55 a	6,48	26,05
Comparação Multipla (Tukey para Relação C/N) <sup>3</sup>										
6	0,64	0,49 a	3,37 a	1,23	94,4 a	72,9 a	6,3	7,55 a	6,55 b	26,12
10	0,79	0,33 b	2,26 b	1,96	98,6 b	99,9 b	16,3	7,49 b	6,30 a	26,12

<sup>1</sup> Valor de F (Valor de P: ns = não significativo; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001). Médias nas colunas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey, P<0,05).

<sup>2</sup> Valores correspondem a média das 8 repetições. <sup>3</sup> Valores correspondem a média das 16 repetições.

A alcalinidade total também apresentou diferenças ( $P < 0,001$ ) entre as diferentes fontes de carbono e relações de C/N utilizadas. As fontes que apresentaram os maiores valores de alcalinidade foram o melão e o farinha de milho e a média na relação C/N de 10 foi superior a de 6.

O valores de pH da água, apesar de apresentarem diferenças significativas de acordo com as diferentes fontes de carbono ( $P < 0,05$ ) e as relações de C/N ( $P < 0,01$ ) testadas, a amplitude de variação foi baixa e os valores ficaram dentro do intervalo de pH de 7,4 e 7,6.

As concentrações de oxigênio dissolvido não apresentaram diferença significativa entre as diferentes fontes de carbono utilizadas ( $P > 0,05$ ), porém o aumento do aporte de carbono (relação C/N) ocasionou redução nos valores de oxigênio dissolvido ( $P < 0,01$ ). Já a temperatura da água não apresentou nenhuma influência significativa devido aos diferentes tratamentos testados.

As concentrações médias de fósforo na forma de ortofosfato ( $P-PO_4$ ) apresentaram diferenças significativas entre as fontes e relações C/N testadas e também apresentou o efeito da interação dos fatores ( $P < 0,001$ ). O desdobramento da interação dos fatores (Tabela 3) indica que dentro das diferentes fontes de carbono, apenas a farinha milho não apresentou diferença significativa entre as diferentes relações C/N. O aumento quantidade de melão utilizada reduziu a concentração de ortofosfato da água, enquanto que aumento na quantidade de farelo de arroz e o farelo de trigo adicionado fez aumentar a concentração de ortofosfato da água. Avaliando as diferentes fontes de C dentro das diferentes relações C/N é possível observar que o melão foi a fonte de carbono mais eficiente no controle dos níveis de ortofosfato dissolvido na água, seguido da farinha de milho, farelo de trigo e farelo de arroz, para ambas as relações C/N avaliadas.

Tabela 3: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para a concentração de ortofosfato (mg/L de  $P-PO_4$ ) nos tanques de criação de tilápia-do-nilo.

Relação C/N	Fonte de C				média
	Melão	F. Milho	F. Trigo	F. Arroz	
6	0,501 Ad	0,963 Ac	1,428 Bb	1,835 Ba	1,138
10	0,129 Bd	1,248 Ac	2,269 Ab	4,037 Aa	1,965
Média	0,315	1,085	1,848	3,093	

A,B Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).  
a,b,c,d Médias nas linhas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

A quantidade de sólidos em suspensão (SST) e o volume de bioflocos (VBF) apresentaram diferenças significativas entre as diferentes fontes de carbono e as relações C/N utilizadas. Como o volume de bioflocos apresentou efeito da interação entre os fatores testados foi realizado do desdobramento desta interação (Tabela 4). Dentro das fontes de carbono avaliadas, apenas o farelo de arroz apresentou diferença significativa entre as diferentes relações C/N. As diferentes fontes de carbono não diferiram para a relação C/N 6. Já na relação C/N 10, o tratamento com farelo de arroz apresentou volumes de bioflocos maiores que os tratamentos com farinha de milho e farelo de trigo, porém semelhante ao tratamento que recebeu melaço como fonte de carbono.

Tabela 4: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para o volume de bioflocos (mL/L) medido através do cone de Imhoff nos tanques que criação de tilápia-do-nilo.

Relação C/N	Fonte de C				média
	Melaço	F. Milho	F. Trigo	F. Arroz	
6	11,3 Aa	4,9 Aa	2,3 Aa	6,7 Aa	6,3
10	19,0 Aab	4,9 Ab	3,3 Ab	38,2 Ba	16,3
média	15,2	4,9	2,8	22,4	

A, B Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).  
a, b Médias nas linhas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

### 3.2 Desempenho zootécnico

Os valores médios dos parâmetros de desempenho zootécnico e os resultados das análises de variância (valores de F e de  $P$ ) estão representados na Tabela 5. As taxas de sobrevivência final variaram entre 58 e 75% e não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos.

Os valores de peso médio final (PM) e taxa de crescimento específico (TCE) apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) para as diferentes fontes de carbono avaliadas, porém não foram influenciados pelas diferentes relações C/N e pelo efeito da interação entre os fatores. O crescimento em peso (PM e TCE) no grupo que recebeu melaço como fonte de carbono foi superior em relação aos tratamentos que receberam farinha de milho e farelo de arroz, porém não diferiu do grupo que recebeu farelo de trigo.

Tabela 5: Valores médios do peso médio final (PM), comprimento total final (CT), sobrevivência, biomassa final, taxa de crescimento específico (TCE), conversão alimentar aparente (CAA) das larvas de tilápia-do-nilo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, e resultados da análise de variância (two-way ANOVA).

	PM (g)	CT (cm)	Sobrevivência (%)	Biomassa (g)	TCE (%/dia)	CAA
ANOVA <sup>1</sup>						
Fonte de C	6,94 (**)	4,91 (**)	2,29 (ns)	2,40 (ns)	5,94 (**)	2,63 (ns)
Relação C/N	3,11 (ns)	7,76 (*)	0,01 (ns)	1,55 (ns)	2,55 (ns)	1,57 (ns)
Fonte de C x Relação C/N	1,96 (ns)	3,53 (*)	0,92 (ns)	2,12 (ns)	1,54 (ns)	2,47 (ns)
Comparação Multipla (Fonte de C) <sup>2</sup>						
Melaço	0,526 a	3,24	58,6	30,83	16,90 a	1,07
F. Milho	0,398 b	3,02	66,6	26,43	15,90 b	1,24
F. Trigo	0,461 ab	3,14	70,5	32,32	16,39 ab	1,02
F. Arroz	0,406 b	3,05	66,6	27,03	15,97 b	1,23
Comparação Multipla (Relação C/N) <sup>3</sup>						
6	0,467	3,17 a	65,3	30,23	16,43	1,10
10	0,430	3,05 b	65,8	28,15	16,15	1,18

<sup>1</sup> Valor de F (Valor de P: ns = não significativo; \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ). Médias nas colunas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

<sup>2</sup> Valores correspondem a média das 8 repetições. <sup>3</sup> Valores correspondem a média das 16 repetições.

A biomassa final não apresentou diferença significativa entre os diferentes tratamentos, que variaram entre 20 e 35 gramas por unidade experimental, correspondendo a uma biomassa aproximada de 0,4 a 0,7 kg/m<sup>3</sup>. As taxas de conversão alimentar aparente (CAA) também não diferiram entre os tratamentos e variaram entre 1,02 e 1,24.

Os valores médios finais do comprimento total (CT) apresentaram diferenças significativas entre as fontes e relações de C/N e também apresentou o efeito da interação destes dois fatores. O desdobramento da interação dos fatores (Tabela 6) indica que dentro das diferentes fontes de carbono, apenas o farelo de arroz apresentou diferença significativa entre as diferentes relações C/N. Dentro da relação C/N de 6 não foi observado diferenças entre as fontes de carbono. Dentro da relação C/N de 10, apenas os valores médios dos grupos que receberam farelo de trigo e farelo de arroz que apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 6: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para o comprimento total (cm) das larvas de tilápia-do-nylo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, após 28 dias de cultivo.

Relação C/N	Fonte de C				média
	Melaço	F. Milho	F. Trigo	F. Arroz	
6	3,34 Aa	3,10 Aa	3,08 Aa	3,17 Aa	3,17
10	3,14 Aab	2,95 Aab	3,20 Aa	2,88 Bb	3,04
Média	3,24	3,02	3,14	3,03	

A, B Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).  
a, b Médias nas linhas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

### 3.2 Análise centesimal dos bioflocos

Os resultados das análises da composição centesimal dos bioflocos e dos peixes estão representados na Tabela 7.

A análise da composição centesimal dos peixes indicou diferença significativa apenas para proteína bruta ( $P < 0,05$ ), sendo esta influenciada pelo tipo de fonte de carbono e não pela relação C/N utilizada. O teor de proteína bruta obtido nos peixes do grupo que receberam farelo de trigo foi maior que nos peixes do grupo que receberam farinha de milho como fonte de carbono.

Tabela 7: Composição centesimal final (% da matéria seca) dos bioflocos e larvas de tilápia-do-nylo criadas em bioflocos produzidos com diferentes fontes de carbono e relação C/N, onde P.B. = proteína bruta, E.E. = extrato etéreo, M.M. = matéria mineral, e resultados da análise de variância (two-way ANOVA).

	Bioflocos			Peixes		
	P.B.	M.M.	E.E.	P.B.	M.M.	E.E.
ANOVA <sup>1</sup>						
Fonte de C	106,16 (***)	27,76 (***)	6,01 (**)	3,80 (*)	1,57 (ns)	0,88 (ns)
Relação C/N	0,28 (ns)	76,48 (***)	0,11 (ns)	0,04 (ns)	2,01(ns)	0,00 (ns)
Fonte de C x Relação C/N	4,80 (***)	2,02 (ns)	0,78 (ns)	0,54 (ns)	0,40 (ns)	1,87 (ns)
Comparação Multipla (Fonte de C) <sup>2</sup>						
Melaço	41,26	15,62 b	1,53 b	62,24 ab	13,36	19,68
F. Milho	41,85	15,70 b	2,35 ab	60,40 b	12,76	18,62
F. Trigo	30,29	15,05 b	2,42 ab	62,69 a	12,82	19,97
F. Arroz	29,09	21,00 a	3,77 a	61,31 ab	12,86	17,70
Comparação Multipla (Relação C/N) <sup>3</sup>						
6	35,45	19,16 a	2,45	61,61	12,79	18,99
10	35,80	14,53 b	2,58	61,71	13,11	18,99

<sup>1</sup> Valor de F (Valor de P: ns = não significativo; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001). Médias nas colunas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey, P<0,05).

<sup>2</sup> Valores correspondem a média das 8 repetições. <sup>3</sup> Valores correspondem a média das 16 repetições.

A análise dos teores proteicos dos bioflocos indicou diferenças significativas ( $P < 0,001$ ) entre as médias obtidas nas diferentes fontes de carbono utilizadas e apresentou também o efeito da interação entre os dois fatores avaliados. O desdobramento da interação entre os fatores para o teor de proteína bruta dos bioflocos (Tabela 8) indica que dentro de cada fonte de carbono apenas o melaço apresentou diferenças entre as médias obtidas para as diferentes relações C/N utilizadas. Os valores médios de proteína bruta nos bioflocos formados pela adição de melaço e farinha de milho foram maiores que nos bioflocos formados pela utilização de farelo de trigo e farelo de arroz como fonte de carbono, independentemente da relação C/N utilizada.

Tabela 8: Desdobramento da interação entre fonte de carbono e relação C/N para porcentagem de proteína bruta (P.B.) contida nas amostras de bioflocos (valores com base na matéria seca).

Relação C/N	Fonte de C				média
	Melaço	F. Milho	F. Trigo	F. Arroz	
6	39,00 Ba	42,64 Aa	31,16 Ab	28,99 Ab	35,45
10	43,53 Aa	41,05 Aa	29,42 Ab	29,19 Ab	35,80
média	41,26	41,85	30,29	29,09	

A, B Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

a, b Médias nas linhas seguidas por letras minúsculas distintas diferem significativamente (Tukey,  $P < 0,05$ ).

Os percentuais de cinzas ou matéria mineral (M.M.) contidos nas amostras de bioflocos apresentaram diferenças tanto entre as fontes de carbonos quanto para as relações C/N utilizadas. A quantidade de cinzas obtida nos bioflocos formados a partir da adição de farelo de arroz como fonte de carbono foi mais elevado do que as obtidas nos bioflocos formados pela adição de outras fontes de carbono. Já o aumento da relação C/N foi inversamente proporcional ao teor de cinzas obtido nas amostras de bioflocos.

A análise de variância dos teores de gordura das amostras de bioflocos indica que existem diferenças significativas entre as diferentes fontes de carbono utilizadas, porém não teve diferença entre as diferentes relações C/N e nem o efeito da interação entre os dois fatores avaliados. O teor de extrato etéreo obtido no bioflocos formados a partir da adição de farelo de arroz foi superior em relação ao teor obtido nos bioflocos do grupo que recebeu melaço como fonte de carbono.

#### 4. Discussão

Uma das questões deste trabalho foi estudar se diferentes fontes de carbono seriam eficientes no controle dos parâmetros de qualidade de água no sistema de bioflocos e se causariam diferenças na composição centesimal dos flocos. O fato é que todas as fontes de carbono avaliadas promoveram o desenvolvimento dos bioflocos, permitindo assim o controle dos compostos nitrogenados, seja por meio da assimilação de nitrogênio pelas bactérias heterotróficas ou pelo processo de nitrificação. Diversos aspectos devem ser levados em consideração na escolha da fonte de carbono orgânico tais como a disponibilidade local, viabilidade econômica, compatibilidade com o sistema de produção entre outros (Prajith, 2011).

Ray e Lotz (2014) compararam sistemas baseados em bactérias nitrificantes e heterotróficas e observaram que a manipulação da relação C/N por meio da adição de fontes de carbono além de auxiliar no controle dos compostos nitrogenados também foi capaz de manter a concentração de ortofosfato baixa no sistema de bioflocos. No presente estudo o melão foi a fonte de carbono mais eficiente no controle do ortofosfato, sendo que a concentração deste nutriente deve ter sido influenciada pela porcentagem de fósforo contida nas diferentes fontes de carbono utilizadas, uma vez que a quantidade de fósforo varia conforme o tipo de alimento (valores do NRC, 1996): cana de açúcar (0,03% de P); farinha de milho (0,29% de P); farelo de trigo (1,02% de P); e farelo de arroz (0,99% de P).

O aumento do aporte de carbono (aumento da relação C/N) no sistema promoveu um aumento na quantidade de material em suspensão na água (STS e VBF). Zhao et al. (2014) avaliaram diferentes relações C/N na criação de carpas em sistemas de policultivo e observaram que a adição de fontes de carbono favorece o desenvolvimento do bioflocos capazes de controlar os parâmetros de qualidade de água além de possibilitar índices de conversão alimentar mais eficientes; porém, a utilização de uma relação C/N muito alta (23/1) acabou ocasionando um sério problema de hipóxia provocando mortalidade dos peixes.

As concentrações de oxigênio dissolvido mensuradas no presente trabalho, apesar de terem sido inferiores nos tratamentos com maior aporte de carbono orgânico, ficaram sempre acima de 3,1 mg/l que é concentração crítica de oxigênio dissolvido para tilápia-do-nilo (Abdel Magid e Babiker, 1975).

Apesar dos parâmetros de qualidade de água estudados neste trabalho estarem dentro dos níveis adequados para a criação de tilápia, as taxas sobrevivência finais das larvas foram inferiores às descritas na literatura para esta espécie (Sanches e Hayashi, 1999; Luz et al., 2012; Tachibana et al., 2008; El-Sayed, 2002) e variaram entre 58 e 75%. Essas taxas de sobrevivência podem ser consideradas baixas, e deve-se ao fato das larvas utilizadas no presente estudo apresentavam uma moderada infestação parasitária por monogenóides. Essa infestação foi constatada antes do início do experimento e as larvas foram submetidas a um banho terapêutico com NaCl (na concentração de 10 ppt durante aproximadamente uma hora) um dia antes do povoamento das larvas nas unidades experimentais; porém, durante o experimento, não foi realizado mais nenhum tipo de tratamento terapêutico nos peixes para não influenciar a formação dos bioflocos. Por isso, mortalidade moderada de larvas foi observada durante o experimento, em todos os tratamentos.

As taxas de crescimento obtidas no presente trabalho foram bastante satisfatórias indicando que as condições nutricionais e a qualidade da água possibilitaram um crescimento adequado para as larvas de tilápia. De maneira simplificada, as larvas iniciais apresentam uma taxa de crescimento muito rápida e por isso necessitam de uma alimentação rica em proteínas (40-50% PB), frequente (5 a 6 vezes por dia) e em alta quantidade de alimento (cerca de 30-45% do peso vivo), possibilitando dessa maneira um bom desempenho em crescimento (Ng e Romano, 2013).

Do ponto de vista nutricional dos microrganismos que constituem os bioflocos, a composição centesimal desse material varia bastante de acordo com a fonte de carbono, tipo de material orgânico, tipo de substrato utilizado, espécie cultivada, condição do sistema de criação, intensidade luminosa, proporção entre bactéria e fitoplâncton, entre diversos outros fatores (Martinez-Córdova et al., 2014). O conteúdo proteico dos bioflocos obtidos no presente estudo apresentou diferenças significativas conforme o tipo de fonte de carbono utilizada e variou de 29,0 a 43,5 % de proteína bruta. Esses valores foram muito semelhantes aos descritos por Maicá et al. (2012) em sistemas superintensivos de criação de camarões marinhos em diferentes salinidades que obtiveram valores entre 28,7 e 43,1% de proteína bruta, utilizando o melaço como fonte de carbono. Considerando o alto valor nutricional dos bioflocos, a utilização deste material como ingrediente de rações elaboradas para

organismos aquáticos pode auxiliar na mitigação dos impactos dos efluentes, além de servir como um possível substituto para as fontes de proteínas tradicionalmente utilizadas (Kuhn et al., 2010).

O teor de gordura contido em amostras de bioflocos geralmente é baixo e varia entre 1 e 4 % do peso da matéria seca (Ju et al., 2008; Maicá et al., 2012; Azim e Little, 2008); porém, Ekasari et al. (2010) obtiveram percentuais mais altos de lipídios (cerca de 6 a 9%) em bioflocos formados em reatores utilizando efluentes concentrados de fazendas de criação de tilápia. As quantidades de lipídeos obtidas nas amostras de bioflocos do presente estudo variaram de 1,5 a 3,8 % conforme a fonte de carbono usada, sendo que esses valores são muito semelhantes aos valores descritos na literatura (Crab et al., 2010; Ju et al., 2008, Maicá et al., 2012; Azim e Little, 2008).

Apesar da diferença da composição centesimal dos bioflocos produzidos com as diferentes fontes de carbono e relação C/N, a composição corporal dos peixes criados nos diferentes tratamentos foi praticamente semelhante, com exceção do teor de PB. Peixes criados com bioflocos produzidos com farelo de trigo apresentaram maior conteúdo de PB (62,7%) que os que receberam bioflocos produzidos a partir da farinha de milho (60,4%). Não obstante, esses valores são inversos aos verificados nas composições proteicas dos bioflocos dessas duas fontes e, aparentemente, não há nenhuma explicação biológica plausível para esse achado.

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que a relação C/N de 6 é suficiente para promover a formação dos bioflocos auxiliando no controle das variáveis de qualidade de água do sistema de produção. Além disso, diferentes fontes de carbono podem ser utilizadas no sistema de bioflocos, e a escolha dessas deve ser feita com base no custo e disponibilidade local.

## 5. Referências bibliográficas

- Abdel Magid, A.M.; Babiker, M.M. 1975. Oxygen consumption and respiratory behavior of three Nile fishes. *Hydrobiology* 46, 359-367.
- Avnimelech, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227-235.

- Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology – A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 182pp.
- 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.
- Crab, R.; Avnimelech, Y.; Defoirdt, T.; Bossier, P.; W. Verstraete. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1-14.
- Crab, R.; Kochva, M.; Verstraete, W.; Avnimelech, Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering* 40, 105-112.
- Crab, R.; Chielens, B.; Wille, M.; Bossier, P.; Verstraete, W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research* 41, 559-567.
- 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.
- 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.
- Ekasari, J.; Crab, R.; Verstraete, R. 2010. Primary nutritional content of Bio-Flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *HAYATI Journal of Biosciences* 17, 125-130.
- El-Sayed, A.M.; Kawanna, M. 2008. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. *Aquaculture Research* 39, 670-672.
- Golterman, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. 1978. *Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwater*, Blackwell Scientific Publication, London.
- Guerrero, R.D. 1975 Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea*. *Transactions of the American Fisheries Society* 104, 342-348.
- Ju, Z.Y.; Forster, I.; Conquest, L.; Dominy, W.; Kuo, W.C.; Horgen, F.D. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research* 39, 118-133.
- Koroleff, F. 1976. Determination of nutrients. In: K. Grassnof (ed.), *Methods of sea water analysis*, Verlag Chemie. Weinheim., New York.
- Kuhn, D.D.; Lawrence, A.L.; Boardman, G.D.; Patnaik, S.; Marsh, L.; Flick Jr., G.J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish

- effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303, 28-33.
- Luz, R.K.; Souza e Silva, W.; Melillo Filho, R.; Santos, A.E.H.; Rodrigues, L.A.; Takata, R.; Alvarenga, E.R.; Turra, E.M. 2012. Stocking density in the larviculture of Nile tilapia in saline water. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41, 2385-2389.
- Maicá, P.F.; Borba, M.R.; Wasielesky, W. 2012. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture Research* 43, 361-370.
- Martínez-Córdova, L.R.; Emerenciano, M.; Miranda-Baeza, A.; Martínez-Porchas, M. 2014. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. *Reviews in Aquaculture*, 6, 1-18.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 7 ed., 242 pp.
- Mg, W.K.; Romano, N. 2013. A review of nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Reviews in Aquaculture* 4, 1-35.
- Prajith, K.K. 2011. Application of biofloc technology (BFT) in the nursery rearing and farming of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Tese de doutorado. Cochin University of Science and Technology. 213 pp.
- Ray, A.J.; Lotz, J.M. 2014. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquacultural Engineering* 63, 54-61.
- Sanches, L.E.F.; Hayashi, C., 1999. Densidade de estocagem no desempenho de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), durante a reversão sexual. *Acta Scientiarum* 21, 619-625.
- Serafini, R.L. 2015. Utilização do sistema de bioflocos na larvicultura de tilápia-do-nilo. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do CAUNESP.
- Silva, D.J.; Queiroz, A.C. 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3ª ed. Viçosa: Editora UFV. 235pp.
- Strickland, J.D.H.; Parsons, T.R. 1972. A Practical Handbook of seawater Analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada. 310pp.
- Tachibana, L.; Leonardo, A.F.G.; Corrêa, C.F.; Saes, L.A. 2008. Densidade de estocagem de pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. *Boletim do Instituto de Pesca* 34, 483-488.
- 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.

Zhao, Z.; Xu, Q.; Luo, L.; Wang, C.; Li, J.; Wang, L. 2014. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter carp in minimum-water exchanged pond polyculture system. *Aquaculture* 434, 442-448.

## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho servem de subsídio para a adoção do sistema de bioflocos (BFT system) na fase de larvicultura de tilápia-do-nilo. Com base nos resultados dos quatro experimentos realizados conclui-se que:

- Com a utilização do sistema de bioflocos é possível realizar a etapa de masculinização de tilápia sem a renovação de água, evitando desta forma a emissão de efluentes contendo resíduos de hormônio no meio ambiente;
- O sistema de bioflocos favorece o crescimento e sobrevivência das larvas e promove taxas de conversão alimentares mais eficientes em relação ao sistema convencional com renovação de água (controle);
- A preparação prévia dos tanques antes do povoamento das larvas não promove nenhum benefício na qualidade de água e no desempenho das larvas criadas em sistema de bioflocos;
- O processo de nitrificação auxilia no controle dos compostos nitrogenados tóxicos aos peixes e ocorre nos tanques mesmo sem a utilização de substratos artificiais. A utilização de substratos artificiais em excesso em tanques de pequeno volume acaba prejudicando a qualidade de água do sistema com bioflocos;
- O sistema com bioflocos com aporte diária de carbono na água promove taxas de sobrevivência das larvas mais altas.
- A densidade de estocagem de até 4 larvas por litro é uma densidade segura para ser utilizada na larvicultura de tilápia-do-nilo em sistema de bioflocos sem renovação de água e sem correção dos compostos nitrogenados durante o cultivo.
- Várias fontes de carbono orgânico podem ser utilizadas com o objetivo de promover o desenvolvimento dos bioflocos, porém a qualidade nutricional deste material varia conforme a fonte de carbono utilizada.

Em nenhum dos experimentos apresentados nesta tese foi realizado a determinação da taxa de masculinização das larvas criadas em sistema de bioflocos e que receberam dieta contendo o hormônio masculinizante 17-alfa-metil-testosterna, na quantidade de  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$  de dieta. A razão para isso era a

necessidade de manutenção das larvas de cada experimento por, aproximadamente, mais 60 dias em laboratório, até a diferenciação gonadal, o que não foi possível. Não obstante, um experimento preliminar foi realizado, comparando o sistema de bioflocos com e sem a adição diária de melaço e o sistema convencional com renovação de água. Nesse trabalho as larvas foram criadas por 28 dias na densidade de 2 larvas por litro e alimentadas com ração contendo hormônio. Ao final do estudo, as larvas foram mantidas no laboratório por mais 60 dias, quando foi realizada a determinação da taxa de masculinização. Os resultados indicaram de 96,0 a 98,8% de masculinização nos sistemas com bioflocos (Tabela apresentada em anexo 1), confirmando a eficiência do sistema usado para esse fim.

Ainda assim, apesar dos avanços obtidos com o presente estudo, novos trabalhos devem ser realizados com o objetivo de avaliar:

- A viabilidade técnica e econômica da adoção desta tecnologia em escala comercial em tanque com volume maior;
- Avaliação da densidade de estocagem de larvas de tilápia em sistema de bioflocos que as concentrações dos compostos nitrogenados, especialmente a amônia tóxica, sejam corrigidas ao longo do experimento;
- Dietas com níveis de proteína bruta inferiores aos valores usualmente utilizados, buscando um melhor aproveitamento deste ingrediente da dieta;
- O aproveitamento dos bioflocos como fonte extra de alimento por meio de análise com isótopos estáveis;
- A utilização deste sistema de produção na larvicultura de outras espécies de peixes como carpas, jundiá, tambaqui entre outras que tenham hábito alimentar compatível com a ingestão dos bioflocos.

## ANEXO 1

### Experimento preliminar:

Tabela 1: Desempenho de larvas de tilápia-do-nylo criadas em água claras (controle) e em sistema de bioflocos (BFT) sem e com a adição diária de melão. Valores médios (n=4) seguidos de letras diferente nas linhas representam diferença significativa (Tukey P<0,05).

	Tratamentos		
	Controle	BFT- s/ melão	BFT – c/ melão
Peso médio final (mg)	206,4 ± 41,9 b	245,5 ± 43,4 b	335,5 ± 34,5 a
Comprimento final (mm)	23,2 ± 0,6 b	24,8 ± 1,5 ab	27,0 ± 1,9 a
Sobrevivência	76,8 ± 18,3 a	35,3 ± 6,0 b	90,8 ± 7,7 a
TCE (%/dia)	7,8 ± 0,6 b	8,7 ± 0,8 ab	9,7 ± 0,7 a
CAA	2,4 ± 1,0	2,7 ± 1,3	1,3 ± 0,2
Biomassa (g)	16,3 ± 3,3 b	8,1 ± 4,9 b	30,5 ± 2,6 a
Taxa de masculinização (%)	94,7	98,8	96,0

Fonte: Serafini et al., 2013.

Serafini, R.L.; Wasielesky Jr., W.; Portella, M.C. Growth performance of Tilapia fry *Oreochromis niloticus* reared in clear water and in bio-floc technology System (BFT) during the sex reversal phase. In: Aquaculture 2013. Nashville. Disponível em: <https://www.was.org/meetingabstracts/ShowAbstract.aspx?Id=29262> Acesso em: 10 de out. 2014.

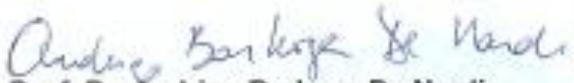
## ANEXO 2

### CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

#### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 027722/11 do trabalho de pesquisa intitulado "**Utilização do sistema de bioflocos na produção de peixes de água doce**", sob a responsabilidade da Profª Drª Maria Célia Portella está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião extraordinária de 13 de dezembro de 2011.

Jaboticabal, 14 de dezembro de 2011.

  
**Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi**  
Coordenador - CEUA