

Universidade Federal de Minas Gerais

**Exigência de energia e proteína para manutenção
estimada por restrição quantitativa de alimento
para Tilápia do Nilo em dois sistemas de produção**

Túlio Soares de Brito

Belo Horizonte, 2017

Túlio Soares de Brito

**Exigência de energia e proteína para manutenção
estimada por restrição quantitativa de
alimento para Tilápia do Nilo em dois sistemas
de produção**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para Obtenção do grau de Doutor em Zootecnia

Área de concentração: Nutrição Animal
Prof. Orientador: Dr. Edgar de Alencar Teixeira

Belo Horizonte

B862e Brito, Túlio Soares de, 1984-
Exigência de energia e proteína para manutenção estimada por restrição quantitativa de alimento para Tilápia do Nilo em dois sistemas de produção / Túlio Soares de Brito – 2017.
106p. : il.

Orientador: Edgar de Alencar Teixeira
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Tilápia do Nilo – Teses. 2. Tilápia – Alimentação e ração – Teses.
3. Proteínas na nutrição animal – Teses. 4. Energia digestível – Teses. I. Teixeira, Edgar de Alencar. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.
III. Título.

CDD – 639.31

Agradecimentos

Agradeço a todos que colaboraram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, aos professores do Laboratório de Aquacultura especialmente a meu Orientador Professor Edgar. Aos técnicos do laboratório que sempre apoiaram e colaboraram nas rotinas de trabalhos. Aos colegas e amigos que sempre se fizeram presentes nos momentos mais desafiadores.

Um agradecimento especial a minha família pelo amor incondicional, apoio e exemplo.

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	SISTEMA DE CULTIVO EM BIOFLOCO (BFT).....	18
2.1.1	<i>Aproveitamento do biofloco como fonte de alimento.....</i>	<i>20</i>
2.2	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE EXIGÊNCIA DE ENERGIA E PROTEÍNA.....	24
3	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	31
4	EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DA ENERGIA E PROTEÍNA E EXIGÊNCIA PARA MANUTENÇÃO	
	ESTIMADA ATRAVÉS DE RESTRIÇÃO QUANTITATIVA DE ALIMENTO PARA TILÁPIA	40
4.1.	Introdução	40
4.2.	Material e métodos	42
4.3.	Resultados e discussão	49
4.4.	Conclusão.....	64
4.5.	Referências bibliográficas	65

5 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ALIMENTAÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO EM SISTEMA DE

BIOFLOCO 65

5.1	Introdução	71
5.2	Material e Métodos	73
5.3	Resultados e discussão	79
5.4	Conclusão	98
5.5	Referências bibliográficas	99

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Retenção proteica em função do consumo de proteína digestível (valores preditos $\pm$ erro padrão, faixa sombreada ($\text{g kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$). $y = 0,99[1 - e^{(-0,51\text{PDi})}]$ 61

Figura 2. Valores preditos (linha azul) $\pm$ erro padrão (margem sombreada) da quantidade de proteína excretada em função do consumo de proteína digestível ($\text{g kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$). $y = 0,64 e^{(-0,39x)}$ 62

Figura 3. Figura 1: Concentração de nitrito (mg L^{-1} , $\pm$ erro padrão) durante os dias de experimento (Dia) para cada taxa de alimentação. $y = 1,63 - 0,1x - 0,3m$, (x = taxa de alimentação e m = manejo de adição de carbono).....	83
--	----

Figura 4. Volume de sólidos sedimentáveis (VSS, ml L^{-1} , $\pm$ erro padrão) em função dos níveis da taxa de alimentação e manejo de adição de carbono.....	86
--	----

Figura 5. Concentração de sólidos dissolvidos totais estimados pela condutividade elétrica (SDTe, g L^{-1} , $\pm$ erro padrão) em função da taxa de alimentação e manejo de adição de carbono.....	86
--	----

Figura 6. Ganho de peso médio por metro cúbico (GPD, $\text{g m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$, $\pm$ erro padrão) em função da taxa de alimentação e do manejo de adição de carbono	95
--	----

Figura 7. Conversão alimentar (CA $\pm$ erro padrão) em função taxa de alimentação e do manejo de adição de carbono	97
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da dieta experimental (%).....	44
---	----

Tabela 2. Efeito da taxa de alimentação (TA.) e da fase de crescimento (Fase) sobre o desempenho de Tilápia nilótica, <i>Oreochromis niloticus</i> , médias estimadas ($\pm$ erro padrão) por mínimos quadrados	50
--	----

Tabela 3. Coeficientes (Coef.) dos modelos lineares de efeitos mistos ajustados para os parâmetros de desempenho de crescimento em função taxa de alimentação (TA) e da fase de crescimento (Fase) para o cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	51
--	----

Tabela 4. Efeito da taxa de alimentação (TA) e da fase crescimento (Fase) sobre o balanço energético de Tilápia nilótica, <i>Oreochromis niloticus</i> , médias estimadas por mínimos quadrados	53
---	----

Tabela 5. Coeficientes (Coef.) dos modelos ajustados para os parâmetros de desempenho de crescimento em função das taxas de alimentação (TA) e fase de crescimento para o cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	54
--	----

Tabela 6. Modelos lineares ajustados para retenção energia em função do consumo de energia digestível (ED) e metabolizável (EM) durante cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> submetida a restrição alimentar	55
--	----

Tabela 7. Modelos multivariados fatoriais ajustados para o consumo de energia digestível e metabolizável (CED e CEM, kcal kg ^{-0,8} dia ⁻¹) em função do ganho de energia como proteína ou lipídio (kcal kg ^{-0,8} dia ⁻¹) durante cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	56
---	----

Tabela 8. Modelo lineares ajustados para o ganho de energia proteica em função do consumo de energia derivada da concentração de proteína digestível na ração durante cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> submetida a restrição alimentar.....	57
---	----

Tabela 9. Modelos exponenciais ajustados para estimativa da exigência para manutenção de proteína e eficiência de utilização estimada (modelos lineares) durante cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> submetida a diferentes taxas de alimentação (TA) 60	
---	--

Tabela 10. Efeito do manejo de adição de carbono (MAC) e taxa de alimentação (TA.) sobre os parâmetros físico químicos de água durante ensaio com Tilápia nilótica, <i>Oreochromis niloticus</i> , médias estimadas por mínimos quadrados	80
---	----

Tabela 11. Coeficientes (Coef.) dos modelos ajustados para os parâmetros físico químicos da água em função da taxa de alimentação (TA) e manejo de adição de carbono (MAC) para o cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	81
---	----

Tabela 12. Ajuste do modelo de Cox para análise de sobrevivência do cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	88
--	----

Tabela 13. Efeito do manejo de adição de carbono (MAC) e taxa de alimentação (TA) sobre o desempenho de Tilápia nilótica, <i>Oreochromis niloticus</i> , médias estimadas por mínimos quadrados	91
---	----

Tabela 14. Coeficientes (Coef.) dos modelos lineares de efeito misto ajustados para os parâmetros de desempenho em função da taxa de alimentação (TA) e manejo de adição de carbono (MAC) para o cultivo de Tilápia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	92
---	----

Resumo

As taxas de alimentação (TA) é uma das principais ferramentas de manejo, uma vez que adequando o aporte de nutrientes aumenta-se sua eficiência e reduzir o impacto ambiental. As exigências proteicas e energéticas, e suas respectivas eficiências de retenção (K_p e K_e) são fatores determinantes ao ajuste da TA. O manejo de adição de carbono (MAC) é uma ferramenta que pode determinar maior produtividade de um sistema em bioflocos (BFT). Assim, o objetivo do trabalho foi estimar as exigências de proteína e energia para manutenção e crescimento pelo método fatorial, e paralelamente se definir a taxa de alimentação e manejo de adição de carbono mais eficiente e os fatores de risco envolvidos no cultivo de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em um sistema do tipo BFT. No ensaio de exigência nutricional, utilizou-se o método de restrição quantitativa, com quatro TA (1, 0,75, 0,5 e 0,25). O trabalho foi dividido em duas fases subsequentes (P1 com duração de 39 dias e P2 com duração de 58 dias), para se verificar o comportamento das respostas avaliadas durante o crescimento. Para se estimar a eficiência de utilização da proteína, bem como exigência proteica para manutenção foi utilizado modelo exponencial. A eficiência de utilização da energia para deposição de proteína e lipídeos (K_p e K_L) e exigência de energia para manutenção foi calculada através do modelo fatorial. Durante

o ensaio em BFT foram utilizadas as mesmas TA mencionadas e dois MAC subsequentes. Em MAC 1 foi utilizada adição constante de melaço (fonte de carbono) para elevar a proporção de C:N para 1:17, em função da proteína adicionada via ração e o MAC 2 foi realizado em função da concentração de amônia (NH_3) na água, na proporção de 6 g de melaço para 1 g de NH_3 . Durante 99 dias, avaliou-se na água de cultivo: NH_3 , Nitrito (NO_2), alcalinidade, pH, sólidos dissolvidos totais estimados por condutividade elétrica (SDTe), volume de sólidos sedimentáveis (VSS). As interações entre TA e MAC sobre qualidade de água e crescimento foram feitas através de modelos lineares de efeitos mistos e o modelo de risco proporcional de Cox para determinar os fatores de risco associados a mortalidade. A exigência de energia metabolizável para manutenção avaliada foi de 11 kcal $\text{kg}^{-0,8}$. O K_p foi de aproximadamente 0,25 e o K_L 0,88. A exigência de proteína digestível para manutenção foi de 0,65 g $\text{kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$ e a capacidade de deposição proteica teórica máxima de 0,99 g $\text{kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$. Durante o ensaio em BFT verificou-se forte impacto das variáveis de qualidade de água no desempenho dos animais, VSS, TDSe e pH foram afetados por TA e MAC. TDSe foi o principal fator de risco que colaborou para a ocorrência de mortalidade. O crescimento foi favorecido com MAC 2 e a

eficiência de alimentação otimizada com a taxa de alimentação correspondente a 1,3% do peso corporal (TA 0,75).

Abstract

Feeding rates (TA) are one of the main management tools, since that the adjusting the nutrient may intake increases its efficiency and reduces the environmental impact. Protein and energy requirements, and their respective retention efficiencies (Kp and Ke) are determining factors for the adjustment of TA. The addition of carbon (MAC) is a tool that can determine higher productivity of a biofloc system (BFT). The carbon addition plan (MAC) can determine higher productivity of a biofloc system (BFT). The objective of the study was to estimate the protein and energy requirements for maintenance and growth by the factorial method for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, the most efficient TA and MAC and the risk factors involved in the cultivation of in BFT. In the nutritional requirement assay, the quantitative feed restriction method was used, with four TA (1, 0.75, 0.5 and 0.25). The experiment was split into two subsequent phases (P1 with duration of 39 days and P2 with duration of 58 days), to verify the behavior of the responses evaluated during growth. The efficiency of energy utilization for

protein and lipid deposition (K_P and K_L) and energy requirement for maintenance was calculated using the factorial model. In the BFT assay, the same TA and two subsequent MAC were used. A constant addition of molasses (carbon source) was used in MAC 1 to raise the ratio of C:N to 1:17, as a function of the protein added as feed and MAC 2 was performed as a function of ammonia concentration (NH_3) in water, in the proportion of 6 g of molasses to 1 g of NH_3 . Nitrite (NO_2), alkalinity, pH, total dissolved solids estimated by electrical conductivity (SDTe), sedimentable solids volume (VSS) were evaluated during of the 99 days of growth trial. The interactions between TA and MAC on water quality and growth were made through linear mixed effects models and the Cox's model of proportional hazards to determine the risk factors associated with mortality. The requirement for metabolizable energy for maintenance estimated was 11 kcal $\text{kg}^{-0.8}$. The K_P was 0.25 and the K_L was 0.88. The digestible protein requirement for maintenance was 0.65 g $\text{kg}^{-0.7}$ day⁻¹ and the theoretical maximum protein deposition capacity was 0.99 g $\text{kg}^{-0.7}$ day⁻¹. At BFT trial there was a strong impact of the water quality variables on the performance of the animals, VSS, TDSe and pH were affected by TA and MAC. TDSe was the main risk factor that contributed to the occurrence of mortality. Growth was favored with

MAC 2 and feed efficiency optimized with TA corresponding to 1.3% of body weight (TA 0.75).

1 Introdução geral

A utilização racional da água vem recebendo cada vez mais atenção, aumentando-se os esforços para se reduzir a quantidade de poluentes descartados nos corpos d'água e produzir com maior eficiência. Para isto, o desenvolvimento de tecnologias de produção sustentáveis é assunto de grande relevância para a aquacultura atual, uma vez que a maximização do aproveitamento dos recursos investidos é fundamental para a viabilidade econômica e ambiental da atividade. Conhecida como intensificação sustentável, a utilização das tecnologias existentes para se evitar os impactos negativos da produção sobre a biodiversidade, é uma das principais formas para se atender a demanda por alimento, que tende a ser crescente por pelos menos 40 anos (Godfray et al., 2010).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixe mais consumidas no Brasil e no mundo (FAO, 2010; MPA, 2015), apresentando ampla aceitação pelo mercado consumidor e grande potencial de adaptação às condições de cultivo intensivo, nas quais são utilizadas elevadas densidades de estocagem. Esta espécie é extensivamente pesquisada e produzida em Sistemas de Recirculação de água (Recirculating Aquaculture Systems - RAS) e em Tecnologia de Bioflocos (Biofloc Technology – BFT), desenvolvidos para se reduzir a

quantidade de água necessária para produção de peixes, possuindo em comum elevada capacidade de suporte (Luo et al., 2014; Badiola, 2015; Ekasari et al., 2015; Long et al., 2015; Pérez-Fuentes et al., 2016). Estes sistemas apresentam requisitos mínimos de utilização de água, necessitando de aproximadamente 1 a 2 m³ de água para que se produza 1 kg de peixe, enquanto sistemas convencionais de produção requerem em média 20 m³ kg⁻¹ (Martins et al., 2010).

Nos RAS, há um tratamento constante para a remoção dos resíduos sólidos e nitrogenados da água para que esta possa ser devolvida aos tanques de cultivo. O tratamento da água é realizado por filtros mecânicos, filtros biológicos e bombas hidráulicas, elevando assim os custos de implementação e operacionais destes sistemas. Nestes, os animais são totalmente dependentes do alimento fornecido sob forma de ração, visto que toda matéria orgânica e compostos nitrogenados são eliminados.

Os BFT se caracterizam principalmente pela presença de uma comunidade microbiana heterotrófica que, em condições ideais é capaz de utilizar a amônia presente na água para síntese de proteína e crescimento microbiano, formando flocos e exopolímeros extracelulares (Crab et al., 2012). Algumas espécies de peixe, dentre elas a tilápia, são capazes de filtrar e utilizar estes flocos microbianos ricos em proteína para suprir parte de suas necessidades nutricionais

(Avnimelech, 2007). As bactérias presentes no sistema desempenham papel importantes tanto na manutenção da qualidade da água quanto na reciclagem de nutrientes. Para que a microbiota do sistema se mantenha ativa é necessária a manutenção de uma proporção adequada entre carbono e nitrogênio (Avnimelech, 1999). Aeração constante também é necessária para que não ocorra depleção da concentração de oxigênio oriunda do metabolismo microbiano e para manter a matéria orgânica em suspensão permanente, otimizando a reciclagem de nutrientes no sistema (De Schryver et al., 2008).

A máxima utilização dos nutrientes oferecidos durante o cultivo é um objetivo central de qualquer sistema de alimentação, com vistas a se maximizar rendimentos. A utilização da proteína não é diferente, uma vez que o ideal é que 100% da proteína fornecida seja utilizada para crescimento corporal. O conhecimento da capacidade metabólica é fundamental para poder se predizer e formular com precisão dietas com a máxima precisão para as mais diversas condições de criação. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estimar as exigência de proteína e energia para manutenção e crescimento pelo método fatorial para tilápia nilótica, e determinar a taxa de alimentação e manejo de adição de carbono mais eficiente e os fatores de risco envolvidos no cultivo de tilápia em um sistema de cultivo em bioflocos.

2 Revisão de literatura

2.1 Sistema de cultivo em Biofloco (BFT)

O acúmulo de metabólitos tóxicos dentre eles o nitrogênio inorgânico (amônio e nitrito, NH_4^+ e NO_2^- respectivamente) é um dos principais limitantes à intensificação da produção de organismos aquáticos. Fazer uso filtros mecânicos e biológicos ou trocar regularmente a água são as soluções mais comuns para a remoção destes compostos, entretanto, é limitada pelo elevado custo operacional inerente ao seu bombeamento, risco de entrada de patógenos, e ainda, os impactos ambientais causados pelo descarte de grandes quantidades de água carregada de nutrientes quando é realizada renovação de água.

A concentração de carbono e nitrogênio (C/N) quando em proporções favoráveis sistema, os resíduos nitrogenados pode ser convertidos em biomassa microbiana e favorecer a produtividade e estabilidade do sistema. As relações C/N podem ser mantidas com a adição de fontes externas de carbono no sistema ou elevação dos níveis de carbono nas dietas (Crab et al., 2010; Pérez-Fuentes et al., 2016).

A quantidade de carbono (CH) a ser adicionada ao sistema de bioflocos pode ser determinada como uma função da eficiência de crescimento bacteriano (E), ou seja, o potencial

de assimilação de carbono, sua concentração na fonte (%C) utilizada e a relação carbono nitrogênio (C/N_{mic}) presente na célula microbiana. Desta forma, considerando a quantidade de nitrogênio total na água (N) a ser incorporada pela comunidade microbiana heterotrófica presente no sistema, adiciona-se a quantidade estimada de carbono, de acordo com a fórmula:

$$CH = \frac{N}{(\%C \times E \div (C/N)_{mic})}$$

(Avnimelech, 1999)

A principal variável determinante da quantidade de carbono a ser adicionado no sistema, depreende-se, pela equação, que é a quantidade de nitrogênio a ser assimilada pela comunidade microbiana. Neste sentido, a fração da proteína ingerida que é excretada assume um papel determinante para desempenho produtivo do sistema. Pois aumentando-se a eficiência de utilização de proteína pelos animais, uma menor quantidade de carbono haverá de ser adicionada no tanque e com menores flutuações na concentração de nitrogênio o sistema pode se tornar mais estável, otimizando a reciclagem da proteína no tanque de cultivo.

Uma outra via para se estimar a quantidade de carbono a ser adicionado ao sistema é através da concentração de amônia observada na água, controlando-se pontualmente flutuações na sua concentração. O resultado é uma reduzida adição de carbono na água, induzindo ao

crescimento de uma população microbiana diversa da heterotrófica. Em condições com limitada quantidade de carbono, organismos nitrificantes podem responder por uma parcela representativa da assimilação amônia via quimioautotrófica (Burford et al., 2003; Ebeling et al., 2006; Hargreaves, 2006; Samocha et al., 2007; Ray e Lotz, 2014) .

2.1.1 *Aproveitamento do biofloco como fonte de alimento*

O valor nutricional do biofloco para animais aquáticos é dependente, principalmente, do hábito alimentar da espécie cultivada, de sua habilidade de ingeri-lo e digeri-lo, assim como da densidade e qualidade das partículas em suspensão. A capacidade de adaptação a este tipo de sistema depende do potencial do animal em filtrar, digerir e aproveitar a proteína microbiana em suspensão, que é determinada principalmente pela relação entre o tamanho da partícula e do animal (Turker et al., 2003). No caso da tilápia, por ser um peixe filtrador e de hábito alimentar onívoro há um grande potencial de adaptação a esse tipo de sistema. Uma vez que a proteína microbiana pode ser aproveitada, a fração não utilizada da dieta pode ser reciclada servindo como alimento de elevado valor nutricional, capaz de melhorar assim a conversão alimentar (Avnimelech, 2007).

Uma parcela representativa dos custos com alimentação pode ser reduzida, ao se considerar os requerimentos nutricionais específicos para este sistema, com relações adequadas de C:N e C:P, maximizando assim o valor nutricional do flocos (Crab et al., 2012).

Os flocos servem como uma fonte adicional e representativa de proteína para camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em BFT, podendo se reduzir a inclusão de farinha de peixe na ração e otimizando a retenção (Xu et al., 2012). A inclusão da farinha de peixe para camarão marinho cultivado em BFT pode ser reduzida em até 40% (Scopel et al., 2011).

Apesar da relevância da produção de tilápia na aquacultura mundial e do impacto positivo da redução dos níveis proteicos das dietas para o desempenho econômico e ambiental, não foram encontrados na literatura trabalhos que quantifiquem a possibilidade real da redução de tais níveis, maximizando a reciclagem de nutrientes nos tanques de cultivo. Apenas alguns estudos indicam que os flocos microbianos presentes nos sistemas BFT podem contribuir substancialmente para o crescimento e produção de tilápia (Avnimelech, 2007; Azim e Little, 2008; Luo et al., 2014). O crescimento de tilápia cultivados em BFT comparado com RAS, apresentou peso final e conversão alimentar, respectivamente, 22% e 18 % superior aos cultivados em RAS (Luo et al., 2014). Azim e Little (2008) compararam dois manejos em BFT,

com juvenis de tilápia de 100 a 150g, alimentados com dietas contendo 35 ou 24% de proteína, e não observaram diferenças quanto à composição da matéria orgânica em suspensão. Contrastando com um tratamento controle, RAS, e alimentados com dieta com 35% de proteína, os autores confirmaram a utilização do biofloco como alimento. O desempenho dos animais cultivados em BFT com 24% de proteína não foi prejudicado e foi superior ao controle, RAS, recebendo dieta com 35% de proteína. Entretanto neste trabalho, valores de conversão alimentar acima ao esperado para esta fase de crescimento, foram encontrados, demonstrando possivelmente a necessidade de um melhor balanceamento das dietas utilizadas.

Avnimelech (2007) determinou que 1kg de tilápia é capaz de filtrar aproximadamente 10,28 g de matéria seca em suspensão diariamente, em função da variação da quantidade de sólidos em suspensão totais (SST) contendo aproximadamente 3,7% de nitrogênio (N). Por outro lado, neste mesmo trabalho, comparando-se com outra metodologia de avaliação, verificou uma taxa de assimilação diária de biofloco de $6,2 \text{ g kg}^{-1}$ utilizando como parâmetro a variação diária da concentração corporal do isótopo estável ^{15}N corporal e no tanque. Esta forneceu um valor de assimilação 60% menor que através da variação de SST. Ainda assim, utilizando a menor estimativa, de acordo com o autor, a quantidade total de biofloco filtrada

constitui aproximadamente 50% do consumo diário (2% do peso vivo) e ainda a taxa de assimilação diária de 0,3 g de N por kg equivale a 2 g de proteína por dia, aproximadamente 50% da exigência proteica para a categoria.

Tanto o acúmulo de ^{15}N corporal quanto a redução da concentração de SST, ocorreram após a manutenção dos animais sem o fornecimento de alimento durante uma semana. Entretanto, neste período, pressupõe-se de acordo com o autor que não ocorreu nem formação nem degradação de bioflocos. Entretanto, restringindo-se a alimentação dos animais, a dinâmica do sistema e o metabolismo dos animais são alterados de maneira significativa, uma vez que em BFT não somente os animais são alimentados, mas há uma comunidade microbiana cujo metabolismo é diretamente dependente das taxas de aporte de nutrientes (Ebeling et al., 2006).

Assim, a avaliação do valor nutricional adicional do cultivo em BFT, deve ser feita em condições que se assemelhem à de criação, considerando principalmente fatores como arraçoamento e densidade de estocagem, que são relacionados diretamente com o aporte de nutrientes ao sistema.

Em sistemas BFT dietas com níveis adequados de nitrogênio reduzem a necessidade de trocas de água e adição de carbono, em função principalmente da concentração de compostos nitrogenados na água, que por vezes podem exceder a capacidade de assimilação por parte da microbiota heterotrófica presente no sistema (Xu e Pan, 2013). Uma formulação adequada de dietas em termos de energia e proteína requer informações referentes a digestibilidade de seus ingredientes, requerimentos para manutenção e a eficiência de utilização dos nutrientes para crescimento.

A representatividade da quantidade de floco filtrada para a exigência nutricional do animal se trata, no entanto, de um estudo complexo, pela dificuldade de se avaliar com a devida precisão a quantidade de nutrientes e energia efetivamente ingeridos na forma de flocos microbianos. Diferentes processos ocorrem simultaneamente no tanque de cultivo, em um dado instante proteína microbiana está sendo formada, degradada e assimilada pelos animais.

2.2 Métodos de avaliação de exigência de energia e proteína

A energia presente nas fezes, chamada de energia fecal (EF), é subtraída da energia presente na dieta (energia ingerida, EI) para obtermos a energia digestível (ED), que é a energia que realmente pode ser utilizada pelos animais. O processo de digestão permite a absorção de

lipídeos, aminoácidos e carboidratos, que são os principais combustíveis metabólicos para os animais (Bureau et al., 2002). O catabolismo de lipídeos e carboidratos resulta na liberação de dióxido de carbono e água, enquanto os aminoácidos, quando utilizados como fonte de energia, promovem a liberação de compostos nitrogenados como amônia, uréia, trimetilamida e óxido de trimetilamida na água (NRC, 2011). A excreção destes compostos nitrogenados resulta em perdas de energia que devem ser contabilizadas no orçamento energético. Todas estas perdas energéticas não fecais, que ocorrem principalmente pelas brânquias (energia branquial; EZ) e em uma menor escala pela urina (energia urinária; EU) não são contabilizadas nos valores de ED, consequentemente, os valores de ED de uma dieta superestimam seus reais valores de energia para os peixes (Bureau et al., 2002). A energia fisiologicamente disponível de uma dieta para peixes é a energia metabolizável (EM), que pode ser definida pela seguinte equação:

$$EM = EI - (EF + EZ + EU)$$

Medir diretamente as perdas energéticas não fecais implica em quantificar precisamente todos os compostos nitrogenados excretados pela urina (nitrogênio urinário; NU) e pelas brânquias (nitrogênio branquial; NZ). Entretanto, em um ambiente aquático estes compostos se solubilizam, tornando sua avaliação direta complexa e muitas vezes pouco precisa. Desta forma,

foi proposto que a soma das perdas de nitrogênio branquial e urinário pode ser estimada pela diferença entre o nitrogênio digestível ingerido (NDI) e o nitrogênio retido (NR) (NRC, 2011).

Para converter os valores de NU + NZ para EU + EZ, as perdas de nitrogênio podem multiplicadas pelo valor de 5,85 kcal g⁻¹ de N (Elliott e Davison, 1975), obtendo-se a equação:

$$NZ+UM = NDI - NR$$

$$EZ+EU = (NZ+UM) (5,85 \text{ kcal g}^{-1} \text{ N})$$

$$EM = ED - (EZ+EU)$$

Apesar de sua importância do ponto de vista produtivo, a utilização da conversão alimentar pode não refletir corretamente o aproveitamento de nutrientes e energia. A quantidade física de alimento utilizado não é uma medida da quantidade biologicamente disponível de nutrientes e energia. O ganho de peso não reflete acuradamente a quantidade de energia e proteína retida, uma vez que a composição do ganho é variável (Meyer-Burgdorff et al., 1989). Neste sentido, os ensaios de crescimento visam estudar a retenção de nutriente obtida pelo método do abate comparativo. Para isto, amostras iniciais de cada grupo experimental são coletadas para se estimar a quantidade de nutrientes retidas ao final do ensaio (Hepher et al.,

1983; Meyer-Burgdorff et al., 1989; Xie et al., 1997; Lupatsch et al., 1998, 2003; Azevedo et al., 2005; Bureau et al., 2006; Helland et al., 2010).

O ajuste dos níveis proteicos e energéticos das dietas pode ser realizado por estudos de restrição quantitativa (Helland et al., 2010). Utilizando equações do tipo:

$$\text{Ganho de energia} = M \cdot PV^b + K_g \cdot ED_i$$

Em que:

ED_i energia digestível consumida;

M exigência de energia para manutenção;

K_g a eficiência de utilização da energia para ganho;

b expoente correspondente ao peso metabólico

PV Peso vivo.

O principal limitante deste tipo de modelo é o pressuposto que a eficiência de retenção de proteína e lipídeos são únicas, estimadas por um único coeficiente (Bureau et al., 2006).

As exigências de energia para manutenção em peixes são principalmente dependentes do tamanho do animal e da temperatura, enquanto as exigências para ganho de peso dependem

prioritariamente da capacidade genética e da composição do ganho (Whittemore et al., 2001; Lupatsch et al., 2003; Lopez e Leeson, 2008; Labussière et al., 2011)

A descrição precisa de taxas de deposição de nutrientes possui diversas aplicações em nutrição animal, abrangendo desde a formulação e balanceamento de dietas, até a estimativa de resíduos gerados durante o cultivo (Dumas et al., 2007; Strathe et al., 2015). A estimativa da fração energia consumida depositada como lipídeo e proteína é uma descrição mais coerente da eficiência de utilização do alimento. Assim, é proposto e utilizado para diversas espécies animais, o modelo fatorial, capaz de ponderar em uma única equação a fração da energia exigida para manutenção e as eficiências de utilização da proteína e lipídeos para ganho de energia corporal (Lupatsch et al., 1998, 2003; Noblet et al., 1999; Van-Milgen e Noblet, 2003; Azevedo et al., 2005; Bureau et al., 2006; Lopez e Leeson, 2008).

$$EM_i = EM_m + \frac{1}{K_p} \times PD + \frac{1}{K_L} \times LD$$

Em que:

EM_i Quantidade de energia metabolizável ingerida

EM_m Exigência de energia metabolizável para manutenção

K_p eficiência de utilização parcial para deposição proteica

PD Proteína depositada

K_L eficiência de utilização parcial para deposição de lipídeos

LD Lipídeos depositados

A dinâmica do crescimento de peixes resulta principalmente da deposição proteica e lipídeos, regulada para alcançar uma composição corporal específica (Dumas et al., 2007).

Possivelmente, o consumo em peixes é regulado acordo com a demanda por nutrientes para alcançar esta composição alvo (Azevedo et al., 2004). Assim, este modelo fatorial por utilizar o consumo como variável dependente, possui maior significado biológico.

A exigência de proteína digestível, também referida na literatura como exigência de N digestível, para tilápia é determinada como a quantidade suficiente para manter a composição corporal (PD_m) e possibilitar a deposição de proteína (PD) determinada pelo potencial genético do animal. Apesar da concentração de N se manter relativamente constante ao longo da vida do animal, existem evidências que a magnitude do *turnover* proteico, também denominado exigência para manutenção, é variável (Lupatsch et al., 2003; Dumas et al., 2007; Chowdhury et al., 2013).

A PD_m pode ser estimada como a perda de proteína corporal durante o jejum ou em animais recebendo dietas isentas de N. Entretanto, o metabolismo corporal se modifica nesta condição, podendo afetar inclusive as perdas oriundas de descamação do epitélio intestinal (Kaushik et al., 1995). Assim, a estimativa de PD_m vem sendo estimada através do estudo da taxa de deposição e excreção, equivalendo na curva de regressão a quantidade de N ingerido para a taxa de deposição 0 ou a quantidade excretada em condições de jejum proteico (Liebert et al., 2006; Trung et al., 2011).

São poucos os trabalhos que utilizam uma abordagem consistente para descrever a dinâmica de deposição de N para tilápia. A retenção proteica não aumenta linearmente a medida que se aumenta sua ingestão, existe um limite potencial máximo (Bureau et al., 2006; Dumas et al., 2007; Trung et al., 2011). A utilização de modelos lineares podem ser aplicáveis ao se investigar intervalos restritos de crescimentos, entretanto a medida que se aumenta a amplitude de avaliação, animais mais pesados apresentam um limiar máximo de deposição proteica reduzido (Whittemore et al., 2001).

Liebert et al. (2006) propõem um modelo exponencial, para estimar a PD_m e a capacidade máxima de deposição proteica, assim como sua eficiência de utilização para tilápia.

Este modelo foi empregado utilizando dietas com concentrações crescentes de proteína e mantendo-se a concentração constante de aminoácidos e apresentou um desempenho satisfatório apresentando resultados compatíveis com os descrito para outras espécies de animais.

3 Referência bibliográfica

Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 1999;176:227–235.

Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 2007;264:140–147.

Azevedo PA, Leeson S, Cho CY, Bureau DP. Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: Diet, species and size effects. *Aquaculture*. 2004;234:393–414.

Azevedo PA, van Milgen J, Leeson S, Bureau DP. Comparing efficiency of metabolizable energy utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) using factorial and multivariate approaches. *J Anim Sci*. 2005;83:842–851.

Azim ME, Little DC. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2008;283:29–35.

Badiola M. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquac Eng*. 2015;51:26–35.

Bureau DP, Hua K, Cho CY. Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600 g. *Aquac Res*. 2006;37:1090–1098.

Bureau DP, Kaushik SJ, Cho CY. Fish Nutrition. In: Halver JE, Hardy RW, organizadores. Third Edit. Elsevier Science (USA); 2002. p. 1–59.

Burford MA, Thompson PJ, McIntosh RP, Bauman RH, Pearson DC. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*. 2003;219:393–411.

Chowdhury MAK, Siddiqui S, Hua K, Bureau DP. Bioenergetics-Based Factorial Model to Determine Feed Requirement and Waste Output of Tilapia Produced under Commercial Conditions. *Aquaculture*. 2013;411:138–147.

Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquac Res.* 2010;41:559–567.

Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture. Elsevier B.V.*; 2012;356–357:351–356.

De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture.* 2008;277:125–137.

Dumas A, de Lange CF. M, France J, Bureau DP. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 2007;273:165–181.

Ebeling JM, Timmons MB, Bisogni JJ. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture.* 2006;257:346–358.

Ekasari J, Rivandi DR, Firdausi AP, Surawidjaja EH, Zairin M, Bossier P, De Schryver P. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture.* 2015;441:72–77.

Elliott JM, Davison W. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia*. 1975;19:195–201.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture [Internet]. FAO - Fisheries and Aquaculture Department, organizador. Food Agric. Organ. United Nations. Rome: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; 2010.

Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM and, Toulmin C. Food Security : The Challenge of Feeding 9 Billion People. 2010;327.

Hargreaves JA. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquac Eng*. 2006;34:344–363.

Helland SJ, Hatlen B, Grisdale-Helland B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post-smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*. 2010;305:150–158.

Hepher B, Liao IC, Cheng SH, Hsieh CS. Food utilization by red tilapia — Effects of diet composition, feeding level and temperature on utilization efficiencies for maintenance and growth. *Aquaculture*. 1983;32:255–275.

Kaushik SJ, Doudet T, Médale F, Aguirre P, Blanc D. Protein and energy needs for maintenance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J Appl Ichthyol. 1995;11:290–296.

Labussière E, van Milgen J, de Lange CFM, Noblet J. Maintenance Energy Requirements of Growing Pigs and Calves Are Influenced by Feeding Level. J Nutr. 2011;141:1855–1861.

Liebert F, Sünder A, Mohamed K. Assessment of nitrogen maintenance requirement and potential for protein deposition in juvenile Tilapia genotypes by application of an exponential nitrogen utilization model. Aquaculture. 2006;261:1346–1355.

Long L, Yang J, Li Y, Guan C, Wu F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. Elsevier B.V.; 2015;448:135–141.

Lopez G, Leeson S. Review : Energy partitioning in broiler chickens. Can J Anim Sci. 2008;205–212.

Luo G, Gao Q, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)

cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 2014;422–423:1–7.

Lupatsch I, Kissil GW, Sklan D. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): Energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture*. 2003;225:175–189.

Lupatsch I, Kissil GW, Sklan D, Pfeffer E. Energy and protein requirements for maintenance and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquac Nutr*. 1998;4:165–173.

Martins CIM, Eding EH, Verdegem MCJ, Heinsbroek LTN, Schneider O, Blancheton JP, Roque d’Obcastel E, Verreth JAJ. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquac Eng*. 2010;43:83–93.

Meyer-Burgdorff K., Osman MF, Günther KD. Energy Metabolism in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 1989;79:283–291.

MPA. Plano De Desenvolvimento Da Aquicultura Brasileira - 2015/2020. Ministério. Brasília, DF; 2015.

Noblet J, Karege C, Dubois S, Van Milgen J. Metabolic utilization of energy and maintenance requirements in growing pigs: Effects of sex and genotype. *J Anim Sci.* 1999;77:1208–1216.

NRC. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp [Internet]. Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, organizador. Aquaculture. Washington, D.C.: National Academies Press; 2011.

Pérez-Fuentes JA, Hernández-Vergara MP, Pérez-Rostro CI, Fogel I. C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture.* Elsevier B.V.; 2016;452:247–251.

Ray AJ, Lotz JM. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquac Eng.* 2014;63:54–61.

Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Ali A, Burger JM, Almeida R V, Ayub Z, Harisanto M, Horowitz A, Brock DL. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Eng.* 2007;36:184–191.

Scopel BR, Schweitzer R, Seiffert WQ, Pierri V, Arantes R da F, Vieira F do N, Vinatea LA. Substituição da farinha de peixe em dietas para camarões marinhos cultivados em sistema bioflocos. *Pesqui Agropecu Bras.* 2011;46:928–934.

Strathe AB, Danfær A, Jørgensen H, Kebreab E. A dynamic growth model for prediction of nutrient partitioning and manure production in growing–finishing pigs: Model development and evaluation. *J Anim Sci.* 2015;93:1061–1073.

Trung D Van, Diu NT, Hao NT, Glencross B. Development of a nutritional model to define the energy and protein requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture.* 2011;320:69–75.

Turker H, Eversole AG, Brune DE. Effect of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), size on phytoplankton filtration rate. *Aquac Res.* 2003;34:1087–1091.

Van-Milgen J, Noblet J. Partitioning of energy intake to heat, protein, and fat in growing pigs. *J Anim Sci.* 2003;81:E86–E93.

Whittemore CT, Green DM, Knap PW. Technical review of the energy and protein requirements of growing pigs: protein. *Anim Sci.* 2001;73:363–373.

Xie S, Cui Y, Yang Y, Liu J. Energy Budget of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to ration size. *Aquaculture*. 1997;154:57–68.

Xu WJ, Pan LQ. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. *Aquac Res*. 2013;1–10.

Xu WJ, Pan LQ, Zhao DH, Huang J. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*. Elsevier B.V.; 2012;350–353:147–153.

4 Eficiência de utilização da energia e proteína e exigência para manutenção estimada através de restrição quantitativa de alimento para tilápia

4.1. Introdução

Atualmente existem diversos sistemas para se estimar a exigência líquida de nutrientes.

A utilização do abate comparativo é utilizada desde as primeiras investigações da dinâmica envolvida para a deposição de nutrientes em animais (Lawes e Gilbert, 1859). Com o avanço da matemática computacional e estatística, novos modelos foram propostos para descrever e comparar principalmente a eficiência de utilização de nutrientes e as exigências para manutenção.

Através do fornecimento de diferentes níveis de arraçoamento é possível se extrapolar o gasto energético e proteico do metabolismo basal, bem como a ingestão mínima para que seja, mantida estável a composição corporal (Labussière et al., 2011). A utilização de taxas de arraçoamento para determinação da exigência de proteína e energia vem sendo utilizada para

diferentes espécies de peixes (Azevedo et al., 1998; Lupatsch et al., 2003; Lupatsch e Kissil, 2005; Helland et al., 2010), inclusive tilápia (Hepher et al., 1983; Meyer-Burgdorff et al., 1989; Xie et al., 1997) . Para tilápia, não foram encontrados trabalhos que avaliassem em conjunto o aproveitamento da energia digestível (ED) e metabolizável (EM) ingerida (ED_i e EM_i , respectivamente) bem como da proteína digestível (PD) ingerida (PD_i).

Uma etapa fundamental neste processo é a utilização de modelos que se adequem para a descrição do fenômeno biológico em questão. Existem evidências de uma forte relação linear existente entre a EM_i e energia retida (ER) (Bureau et al., 2002). Quanto a deposição proteica (P_d), sua linearidade não é sempre que pode ser aplicada, uma vez é observada redução da taxa de P_d a mediada que se aproxima ao peso a maturidade (Whittemore et al., 2001). Assim, é posposto um modelo de utilização de nitrogênio exponencial não linear fisiologicamente coerente, e que vem sendo utilizado para diversas espécies animais, inclusive tilápia (Liebert et al., 2006). A aplicação deste modelo para descrever o efeito da restrição alimentar sobre a taxa de P_d e estimar a exigência de proteína digestível para manutenção (PD_m) é de fundamental importância para expandir sua aplicação em diferentes contextos de ingestão de nutrientes.

O objetivo deste trabalho é determinar eficiência de aproveitamento e a exigência para manutenção de energia digestível e metabolizável e de proteína digestível para tilápia nilótica submetidas a níveis crescentes de restrição alimentar.

4.2. **Material e métodos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquacultura da Universidade Federal de Minas Gerais (LAQUA) no período de 22/10/2014 até 27/01/2015. O ensaio foi realizado em 16 tanques de 3 m³ no sistema de recirculação (RAS). Um total de 288 machos invertidos de tilápia nilótica, produzidos no próprio laboratório, de peso médio inicial de 230g foram utilizados no experimento. Os animais foram mantidos durante 15 dias prévios ao início do experimento para adaptação aos sistemas de cultivo. Durante este período e durante o ensaio de crescimento, os parâmetros de qualidade de água foram monitorados.

O trabalho foi dividido em duas fases subsequentes (P1 com duração de 39 dias e P2 com duração de 58 dias), para se verificar o comportamento das respostas avaliadas durante o crescimento. Ao final de cada fase experimental, foram coletados 4 animais de cada unidade

experimental e armazenados em freezer a -18°C para a realização das análises bromatológicas de composição corporal, ao início do experimento 10 animais foram coletados.

Os animais foram submetidos a quatro taxas de alimentação (TA) distintas, utilizando a saciedade como referência para os demais. Composto, assim, 1 (*ad libitum*); 0,75; 0,5; e 0,25 (equivalente a 25% do oferecido ao grupo 1). O ajuste da quantidade oferecida para cada regime foi realizado diariamente de acordo com a quantidade oferecida ao grupo recebendo TA 1, em que era oferecida uma quantidade mínima suficiente para proporcionar aproximadamente 10% de sobras.

A dieta utilizada foi formulada para 28% de PD e $3000 \text{ kcal kg}^{-1}$ de ED, apresentando uma relação de PD:ED 96 kg kcal^{-1} (Kaushik et al., 1995; Botaro et al., 2007) (Tabela 1). A dieta foi extrusada no próprio laboratório em matriz para pellets de 4 a 6 mm. Óxido de cromo foi adicionado à dieta como indicador inerte para determinação da digestibilidade.

Tabela 1. Composição da dieta experimental (%)

Ingredientes	(%)
Farelo de soja	40,00
Milho	17,07
Farelo de vísceras	16,30
Sorgo	10,00
Bentonita	4,95
Calcário	3,66
L-Lisina	1,00
DL-Metionina	0,48
Suplemento vitamínico e mineral *	0,40
Sal	0,50
Vitamina C	0,57
BHT**	0,02
Fosfato bicálcico	5,00
Óxido de crômio (indicador inerte)	0,05

Níveis de garantia do suplemento vitamínico e mineral (kg^{-1} do produto): folacina, 500 mg; ácido pantotênico, 12,5 g; Biotina, 150 mg; Cobalto, 50 mg; Cobre, 2.000 mg; Ferro, 15 g; Iodo, 125 mg; Lisina, 40 g; Manganês, 3.750 mg; Metionina, 50 g; Niacina, 20 g; Selênio, 75,15 mg; Vitamina A, 2.500.000 UI; Vitamina B₁, 2.500 mg; Vitamina B₁₂, 7500 mcg; Vitamina B₂, 5.000 mg; Vitamina B₆, 2.500 mg; Vitamina C, 75 g; Vitamina D₃, 300.000 UI; Vitamina E, 40.000 UI; Vitamina K₃, 2.260 mg; Zinco, 20 g ** Butil-hidroxi-tolueno.

Os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína e energia foram calculados

de acordo com a fórmula:

$$\text{CDa}_{(n)} = 100 - \left[100 \left(\frac{(\% \text{Cr}_2\text{O}_{3r})}{\% \text{Cr}_2\text{O}_{3f}} \right) \times \left(\frac{\% \text{N}_f}{\% \text{N}_r} \right) \right]$$

Em que: $\text{CDa}_{(n)}$ = Coeficiente de digestibilidade aparente; Cr_2O_{3r} = percentual de óxido de cromo na ração; Cr_2O_{3f} = percentual de óxido de cromo nas fezes; N_f = percentual do nutriente nas fezes; N_r = percentual do nutriente na ração.

Os tanques em que os animais foram alojados para a realização do ensaio de digestibilidade eram equipados com dispositivos de coleta de fezes do tipo Guelph modificado, totalizando 4 unidades experimentais e 100 L cada. Foram realizadas coletas de hora em hora,

de 8:00 às 19:00 horas, com intervalo para o horário de alimentação dos animais, após o qual era feita a limpeza do tanque para reiniciar as coletas. O ensaio de digestibilidade ocorreu paralelamente ao de desempenho de crescimento, com animais do mesmo lote e simultaneamente a P1. As fezes coletadas foram armazenadas e congeladas a -20 °C em pool para cada dois tanques. Durante este ensaio os animais foram alimentados de acordo com a quantidade oferecida T0.75. O efeito sobre os coeficiente de digestibilidade da energia, proteína, lipídeos e carboidratos da restrição alimentar é ausente ou reduzida, logo, como protocolado em outros trabalhos, foram adotados coeficientes de digestibilidade únicos para todos os regimes de alimentação (Xie et al., 1997; Azevedo et al., 1998; Bureau et al., 2002, 2006; Helland et al., 2010).

As fezes, assim como as sobras de ração, foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 96 horas. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, na Escola de Veterinária da UFMG. Foram realizadas análises de matéria seca, cinzas, extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta das dietas, fezes e das carcaças (AOAC, 2005). As análises de óxido crômico foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica (Teixeira et al., 2010).

As variáveis de qualidade de água foram monitoradas semanalmente nos tanques. A temperatura da água e a concentração de oxigênio e pH foram mantidos em $27,94 \pm 0,21$ °C, $4,53 \pm 0,67$ mg L⁻¹ e $7,39 \pm 0,13$ respectivamente, avaliados por meio do uso de uma sonda multiparâmetro YSI 6520 V2®. A amônia e nitrato foram mensuradas utilizando-se Kits comerciais colorimétricos Alfakit®, mantidas abaixo de 1,0 mg l⁻¹.

Para a avaliação do desempenho de crescimento de cada tratamento, ao final de cada fase foram calculados o consumo de alimento relativo ao peso vivo (FI), a conversão alimentar (CA), a taxa de crescimento específico (TCE) e Retenção de energia e proteína (RE e RP): PI (Peso inicial); PF (Peso final); $Cons. (g\ kg^{-0.8}dia^{-1}) = (consumo\ médio\ diário / peso\ geométrico\ médio^{-0.8}) \cdot 100$; $CA = consumo\ total\ por\ fase / ganho\ de\ peso\ total\ por\ fase$; $TCE\ (\% \text{ dia}^{-1}) = \{[(\ln(PF) - \ln(PI)) / dias] \cdot 100\}$; $PR\ (g\ \text{dia}^{-1}) = [(PF - PF_{pb}) - (PI - PI_{pb})] \cdot dias^{-1}$ Em que: PF_{pb} (concentração de proteína bruta ao final de cada fase) e PI_{pb} (concentração de proteína bruta ao início de cada fase).

A estimativa da perda de energia via excreção nitrogenada não fecal foi realizada utilizando o valor de referência de $5,95\ kcal\ g^{-1}$ de nitrogênio amoniacal. Foi considerando que toda excreção nitrogenada não fecal feita via amônia (Elliott e Davison, 1975).

As estimativas de eficiência de utilização de nutrientes realizadas e exigência de manutenção foram feitas de acordo com o peso metabólico do animais, utilizando o de 0,8 para energia e 0,67 para proteína (Lupatsch et al., 2003; Liebert et al., 2006). As médias geométricas $(PI - PF)^{1/2}$ do peso metabólico foram utilizadas para base do cálculo.

O modelo utilizado para avaliação da dinâmica de deposição proteica foi:

$$P_R = P_{Rmax} T \left(1 - e^{-b P B i} \right) \quad (1)$$

$$P_E = P D m . e^{c P B i} \quad (2)$$

$$P_D = P_{Dmax} T \left(1 - e^{-b P B i} \right) \quad (3)$$

Em que:

P_R retenção diária de proteína ($P_d + P B_m$) ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

P_E excreção diária de proteína ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

P_D deposição diária de proteína ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

$P D_m$ exigência diária de proteína digestível para manutenção ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

$P D_I$ consumo diário de proteína ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

$P_{Rmax} T$ Retenção máxima teórica de proteína ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

$P_{Dmax} T$ Deposição máxima teórica de proteína ($P_{Rmax} T - P B_m$) ($g \text{ kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$)

b coeficiente de inclinação da curva de retenção e deposição proteica (relativo a qualidade da proteína)

c coeficiente de inclinação da curva de excreção proteica (relativo a qualidade da proteína)

e número de Euler

Os coeficientes foram estimados utilizando a função *gnls* do pacote *nlme* do programa R, a homogeneidade da variância residual do modelo foi avaliada graficamente, e caso necessário foi selecionada a função de variância para modelar a estrutura de erro dentro dos grupo utilizando covariáveis (Pinheiro e Bates, 2000; Pinheiro et al., 2014).

O estudo do balanço energético foi realizado linearmente, em que o intercepto do eixo x ($y = 0$) foi considerado como a exigência para manutenção da ED e EM (ED_m e EM_m), e o coeficiente de inclinação da reta, considerada a eficiência de utilização da energia. Para os cálculos de eficiência de retenção energética como lipídeo e proteína, seus respectivos equivalentes energéticos foram estimados através de modelo fatorial (Lupatsch et al., 2003):

$$\text{Ganho de energia (kcal)} = a \text{ ganho de proteína (g)} + b \text{ ganho lipídico (g)}$$

O equivalente para proteína foi de $5,97 \pm 0,5 \text{ kcal g}^{-1}$ e para lipídios de $9,74 \pm 0,7 \text{ kcal g}^{-1}$.

Os coeficientes de eficiência de retenção e deposição de energia, bem como a exigência de energia para manutenção, e o efeito da restrição alimentar sobre os demais parâmetros de desempenho, foram estimados através de modelos mistos de regressão linear, utilizando a função *lme* do pacote *nlme* do programa R (Pinheiro et al., 2014). Os efeitos aleatórios avaliados

foram considerados em função da unidade experimental, fase e restrição alimentar. O procedimento de escolha do melhor ajuste dos modelos testados no presente trabalho foi de acordo com o AIC (critério de informação de *Akaike*), BIC (Critério de informação *Bayesiano*) e o teste da razão de verossimilhança (Pinheiro e Bates, 2000).

4.3. Resultados e discussão

Os peso dos animais em P1 foram de aproximadamente 230 a 350 g e de 250 a 550g em P2, observando-se diferença significativa somente para os dois planos mais severos de restrição. A TCE, representa a velocidade de crescimento dos animais, coerente com a variação observada para PF. Pode ser verificada também, uma redução na velocidade de crescimento em P2, para todos os planos de restrição. Os tratamentos utilizados foram eficientes em promover diferença significativa no consumo dos animais, com amplitude de 5,1 a 16 g kg^{-0,8}dia⁻¹. Durante P1 somente a CA de T0.25 diferiu significativamente dos demais planos de restrição, já em P2 somente T0.5 diferiu dos demais (Tabela2).

Tabela 2. Efeito da taxa de alimentação (TA) e da fase de crescimento (Fase) sobre o desempenho de Tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, médias estimadas ($\pm$ erro padrão) por mínimos quadrados

Fase	TA	Médias ($\pm$ Erro Padrão)				
		PI (g)	PF (g)	TCE (% dia ⁻¹)	Cons (g kg ^{-0,8} dia ⁻¹)	CA
1	0,25	226,8 $\pm$ 5,9	256,5 $\pm$ 4,9 ^a	0,3 $\pm$ 0,03 ^a	5.1 $\pm$ 0,3 ^a	2,2 $\pm$ 0,1 ^b
		227,6 $\pm$ 6,8	308,2 $\pm$ 5,6 ^b	0,8 $\pm$ 0,04 ^b	8.5 $\pm$ 0,3 ^b	1,7 $\pm$ 0,1 ^a
	0,75	229,9 $\pm$ 6,8	342,1 $\pm$ 5,6 ^c	1,0 $\pm$ 0,04 ^c	11,8 $\pm$ 0,3 ^c	1,6 $\pm$ 0,1 ^a
		226,3 $\pm$ 6,8	357,2 $\pm$ 5,6 ^c	1,2 $\pm$ 0,04 ^c	16,0 $\pm$ 0,3 ^d	1,8 $\pm$ 0,1 ^a
	0,25	253,8 $\pm$ 5,9 ^a	325,7 $\pm$ 8,9 ^a	0,4 $\pm$ 0,02 ^a	7,4 $\pm$ 0,3 ^a	2,6 $\pm$ 0,1 ^b
		317,4 $\pm$ 6,8 ^b	435,1 $\pm$ 10,2 ^b	0,5 $\pm$ 0,02 ^b	9,2 $\pm$ 0,3 ^b	2,1 $\pm$ 0,1 ^a
	0,75	343,8 $\pm$ 6,8 ^{bc}	510,8 $\pm$ 10,2 ^c	0,7 $\pm$ 0,02 ^c	13,5 $\pm$ 0,3 ^c	2,4 $\pm$ 0,1 ^b
		352,8 $\pm$ 6,8 ^c	546,2 $\pm$ 10,2 ^c	0,8 $\pm$ 0,02 ^c	15,7 $\pm$ 0,3 ^d	2,4 $\pm$ 0,1 ^b

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma coluna diferem significativamente para cada fase pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Cons (consumo); PI (Peso Inicial); PF (Peso Final); TCE (taxa de crescimento específico); CA = (conversão alimentar).

O efeito de fase experimental, conforme esperado, foi significativo para todas as respostas de desempenho avaliadas. Observa-se uma redução da TCE durante P2, e uma elevação do consumo diário. O aumento no ganho de peso em P2 não acompanhou o aumento no consumo dos animais, resultando assim uma piora na conversão alimentar (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficientes (Coef.) dos modelos lineares de efeitos mistos ajustados para os parâmetros de desempenho de crescimento em função taxa de alimentação (TA) e da fase de crescimento (Fase) para o cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus*

Coef.	Parâmetros do modelo ($\pm$ Erro Padrão)				
	PI (g)	PF (g)	TCE (% dia ⁻¹)	Cons ^{§1} (g kg ^{-0,8} dia ⁻¹)	CA ^{§2}
Intercepto	227,6 $\pm$ 3,3***	315,3 $\pm$ 2,7***	0,8 $\pm$ 0,02***	10,3 $\pm$ 0,2***	1,8 $\pm$ 0,03***
Fase	89,25 $\pm$ 8,3***	138,6 $\pm$ 3,2***	-0,2 $\pm$ 0,03**	1,1 $\pm$ 0,2**	0,6 $\pm$ 0,1***
TA. L	-	75,1 $\pm$ 5,2***	0,6 $\pm$ 0,04***	8,1 $\pm$ 0,2***	-0,3 $\pm$ 0,01**
TA. Q	-	-18,3 $\pm$ 5,4*	-0,2 $\pm$ 0,03*	-	-
Fase2: L	72,2 $\pm$ 9,2***	89,6 $\pm$ 6,3***	-0,4 $\pm$ 0,06**	-1,5 $\pm$ 0,4*	0,3 $\pm$ 0,01*
Fase2: Q	-25,1 $\pm$ 9,3*	-19,1 $\pm$ 6,5*	-	-	-
RMSE ^j	9,8	1,54	0,01	0,41	0,22
R ²	0,96	0,99	0,99	0,99	0,72

Coeficiente linear e quadrático para TA; Coeficiente linear e quadrático para TA em Fase2; ^{§1} Efeito cúbico ($p = 0,004$); ^{§2} Efeito cúbico (Coef. = -0,24, $p = 0,01$); *** $p < 0,0001$, ** $p < 0,001$ e * $p < 0,05$; ^j Raiz quadrada média do erro; Cons (consumo); PI (Peso Inicial); PF (Peso Final); TCE (taxa de crescimento específico); CA = (conversão alimentar).

A amplitude do consumo entre os planos de restrição avaliados foi menor em P2, este efeito possivelmente é decorrente do aumento da densidade dos animais no tanque de cultivo, nos quais foram observados maiores flutuações diárias no consumo de ração para T1.

O plano mais severo de restrição alimentar (T0,25), promoveu os maiores índices de conversão alimentar, em ambas as fases experimentais. Considerando as categorias de peso abordadas neste estudo, o desempenho dos animais pode ser considerado satisfatório, não

havendo fator externo que interferisse no efeito dos tratamentos adotados (Chowdhury et al., 2013).

A dieta utilizada apresentou 90,27; 76,7 e 85,42% de coeficiente de digestibilidade da matéria seca, energia bruta e proteína bruta apresentando 28,5 % de proteína digestível e 2954 kcal kg⁻¹. Os planos de alimentação apresentaram diferença sobre as médias de metabolizabilidade (METAB) da dieta somente em P1, na qual T0.25 apresentou o menor índice de aproveitamento. Este tratamento foi o único que apresentou perda de energia corporal durante o experimento (Tabela 4). Assim, o ganho de proteína foi o principal componente do ganho de peso nesta condição

Tabela 4. Efeito da taxa de alimentação (TA) e da fase crescimento (Fase) sobre o balanço energético de Tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, médias estimadas por mínimos quadrados

Fase	TA	Médias ($\pm$ Erro Padrão)					
		CED	CEM	METAB	CPD	ER	PR
1	0,25	14,9 $\pm$ 0,7 ^a	13,3 $\pm$ 1,4 ^a	92,6 $\pm$ 0,2 ^a	1,2 $\pm$ 0,1 ^a	-1,0 $\pm$ 1,3 ^a	0,2 $\pm$ 0,1 ^a
	0,5	25,06 $\pm$ 0,8 ^b	23,4 $\pm$ 4,0 ^b	93,5 $\pm$ 0,3 ^{ab}	2,1 $\pm$ 0,1 ^b	7,0 $\pm$ 3,3 ^{ab}	0,6 $\pm$ 0,1 ^a
	0,75	34,9 $\pm$ 0,8 ^c	32,8 $\pm$ 4,0 ^c	94,1 $\pm$ 0,3 ^b	3,0 $\pm$ 0,1 ^c	17,1 $\pm$ 0,7 ^b	1,1 $\pm$ 0,1 ^b
	1	47,1 $\pm$ 0,8 ^d	43,7 $\pm$ 2,7 ^d	92,7 $\pm$ 0,3 ^a	4,0 $\pm$ 0,1 ^d	18,9 $\pm$ 2,3 ^b	0,8 $\pm$ 0,1 ^b
2	0,25	21,8 $\pm$ 0,9 ^a	20,3 $\pm$ 1,5 ^a	93,2 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,1 ^a	3,8 $\pm$ 1,2 ^a	0,5 $\pm$ 6,4 ^a
	0,5	27,2 $\pm$ 1,1 ^b	25,4 $\pm$ 4,9 ^b	93,6 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,1 ^b	8,5 $\pm$ 4,0 ^{ab}	0,7 $\pm$ 7,4 ^{ab}
	0,75	39,8 $\pm$ 1,1 ^c	37,1 $\pm$ 5,3 ^c	93,2 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,1 ^c	11,3 $\pm$ 0,8 ^b	0,9 $\pm$ 7,4 ^b
	1	46,3 $\pm$ 1,1 ^d	43,1 $\pm$ 2,6 ^d	92,3 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,1 ^d	16,3 $\pm$ 2,1 ^b	0,9 $\pm$ 7,4 ^b

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma coluna diferem significativamente para cada fase pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Consumo de energia digestível, metabolizável e energia retida (CED, CEM e ER, kcal kg^{-0,8} dia⁻¹); METAB (metabolizabilidade, %); consumo de proteína digestível e proteína retida (CPD, PR, g kg^{-0,67} dia⁻¹).

TA efeito quadrático significativo sobre a METAB da dieta (Tabela 5). Não se observou efeito significativo da fase experimental sobre a retenção da energia e proteína corporal. Os planos de alimentação determinaram um efeito linear sobre a ER, enquanto que a PR apresentou um comportamento cúbico, justificando assim a utilização do modelo exponencial para descrever sua retenção e deposição.

Tabela 5. Coeficientes (Coef.) dos modelos ajustados para os parâmetros de desempenho de crescimento em função das taxas de alimentação (TA) e fase de crescimento para o cultivo de

Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus*

Coef.	Parâmetros do modelo (Valor $\pm$ Erro Padrão)					
	CED ^{§2}	CEM	METAB	CPD ^{§3}	ER	PR ^{§4}
Intercepto	30,5 $\pm$ 0,4***	28,4 $\pm$ 0,4***	93,2 $\pm$ 0,1***	2,6 $\pm$ 0,0***	10,5 $\pm$ 1,1***	0,7 $\pm$ 0,04***
Fase	3,3 $\pm$ 0,6**	3,0 $\pm$ 0,6**	-	0,4 $\pm$ 0,1**	-	-
TA. L	23,8 $\pm$ 0,7***	22,2 $\pm$ 0,6***		2,0 $\pm$ 0,1***	15,6 $\pm$ 2,1***	0,5 $\pm$ 0,08**
TA. Q	-	-	-1,2 $\pm$ 0,3*	-	-	-0,4 $\pm$ 0,09*
Fase 2: L	-4,5 $\pm$ 1,2**	-4,3 $\pm$ 0,7**	-	-0,3 $\pm$ 0,1*	-	-
Fase 2: Q	-	-	-0,9 $\pm$ 0,4*	-	-	0,3 $\pm$ 0,1*
RMSE ^j	0,24	1,1	0,1	1,1	0,58	0,02
R ²	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Coeficiente linear e quadrático para TA; Coeficiente linear e quadrático para TA na fase 2; ^{§1} Efeito cúbico (Coef. = -0,4; p = 0,02); ^{§2} Efeito cúbico (Coef. = -3,5; p = 0,02); ^{§3} Efeito cúbico (Coef. = -12,3; p = 0,06); ^{§3} Efeito cúbico na fase 2 (Coef. = -0,3; p = 0,01); ^{§4} Efeito cúbico (Coef. = -0,3; p = 0,02); *** p<0.0001, ** p<0.001 e * p<0.05; ^j Raiz quadrada média do erro; Consumo de energia digestível, metabolizável e energia retida (CED, CEM e ER, kcal kg^{-0,8}dia⁻¹); METAB (metabolizabilidade, %); consumo de proteína digestível e proteína retida (CPD, PR, g kg^{-0,67}dia⁻¹).

O efeito da restrição alimentar determinou comportamento da fração de energia e proteína retida semelhante ao observado para a conversão alimentar, em que os planos mais severos de restrição afetaram negativamente estas respostas. O efeito negativo de planos

severos de restrição alimentar sobre o aproveitamento do alimento também já foi observado para tilápia (Xie et al., 1997) e outras espécies (Helland et al., 2010)

De acordo com o modelo linear de aproveitamento da energia consumida para retenção de energia, a quantidade estimada de energia para manutenção foi de 15,14 e 14,38 kcal kg^{-0,8} dia⁻¹ de ED_m e EM_m (Tabela 6). A eficiência de aproveitamento K_g foram de 0,68 e 0,73, para ED_i e EM_i. Não se observou efeito de fase sobre esta variável.

Tabela 6. Modelos lineares ajustados para retenção energia em função do consumo de energia digestível (ED) e metabolizável (EM) durante cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* submetida a restrição alimentar

	Parâmetros do modelo (Valor $\pm$ Erro Padrão)					R ²
	Intercepto	K_g	P2: K_g	Manutenção	RMSE ^j	
ED	-10,3 $\pm$ 3,2*	0,68 $\pm$ 0,1***	-	15,14	0,78	0,99
EM	-10,5 $\pm$ 3,1*	0,73 $\pm$ 0,1***	-	14,38	0,76	0,99

K_g coeficiente angular na reta; exigência de consumo para manutenção (kcal kg^{-0,8} dia⁻¹, $-k_g$ / intercepto); *** p<0.0001, ** p<0.001 e * p<0.05; ^j Raiz quadrada média do erro.

A aplicação do modelo fatorial também possibilitou a estimativa das exigências de ED_m e EM_m (Tabela 7).

Tabela 7. Modelos multivariados fatoriais ajustados para o consumo de energia digestível e metabolizável (CED e CEM, kcal kg^{-0,8}dia⁻¹) em função do ganho de energia como proteína ou lipídio (kcal kg^{-0,8}dia⁻¹) durante cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus*

	Parâmetros do modelo (Valor ± Erro Padrão)				
	Manutenção	K_P	K_L	RMSE ^j	R ²
CED	11,69 ± 2,8***	0,25 ± 0,04***	0,79 ± 0,2***	8,74	0,70
CEM	10,6 ± 3,5***	0,27 ± 0,1***	0,88 ± 0,2***	7,94	0,71

K_P / coeficiente angular na reta; K_P eficiência de utilização da energia da proteína ; K_L eficiência de utilização da energia de lipídeos;*** p<0.0001, ** p<0.001 e * p<0.05; ^jRaiz quadrada média do erro.

Neste modelo o consumo de energia é dependente das eficiências de aproveitamento ganho de energia na forma de lipídeos e proteínas (K_L e K_P). A energia da fração proteica da dieta pode ser estimada através do calor produzido através da combustão de proteica (Azevedo et al., 2005). A utilização deste componente energético da dieta como dependente do ganho de energia corporal proveniente do ganho proteico permite estimar, alternativamente o K_P (tabela 5.8).

Tabela 8. Modelo lineares ajustados para o ganho de energia proteica em função do consumo de energia derivada da concentração de proteína digestível na ração durante cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* submetida a restrição alimentar

ER _p	Parâmetro do modelo (Valor ± Erro Padrão)		
	K_P	RMSE ⁱ	R ²
	0,26 ± 0,00***	0,7	0,86

ER_p Energia retida como proteína corporal (kcal kg^{-0,8} dia⁻¹, 5,96 kcal g⁻¹ de proteína retida); K_P eficiência de utilização da energia da proteína *** p<0.0001, ** p<0.001 e * p<0.05; ⁱRaiz quadrada média do erro.

Ambas vias de cálculo permitiram estimativas semelhantes de K_P , o efeito de fase não foi observado para este parâmetro quando estimado linearmente, não sendo incluído, pois, no modelo fatorial.

A utilização de um coeficiente único para se estimar a eficiência de utilização da energia ingerida para ganho de energia corporal (K_g) considera que K_P e K_L , são similares, o que é improvável de ocorrer (Azevedo et al., 2005). No entanto, para comparação este método também foi realizado, uma vez que as estimativas encontradas na literatura para tilápia foram estimadas considerando a ER como variável dependente (Meyer-Burgdorff et al., 1989; Schrama et al., 2011; Trung et al., 2011; Haidar et al., 2016). O K_g apresentou uma diferença de 0,05 unidades entre a eficiência de utilização da ED e EM. A magnitude destes índices foram

levemente superiores a observada para tilápia consumido dietas com 18% de extrato etéreo (K_g de 0,63 e 0,67 para ED e EM) é possível que as condições de ambiente tenham favorecido, assim, a retenção de energia (Schrama et al., 2011; Trung et al., 2011). Pode-se considerar que os valores de K_g aqui relatados se encontram dentro do esperado para tilápia (Schrama et al., 2011; Haidar et al., 2016)

As estimativas de ED_m para tilápia encontradas na literatura variam de 6,2 a 22,9 kcal $kg^{-0,8} \text{ dia}^{-1}$ (Meyer-Burgdorff et al., 1989; Schrama et al., 2011; Trung et al., 2011; Haidar et al., 2016). Os valores aqui encontrados estão dentro da variação observada e semelhantes aos observados por Meyer-Burgdorff et al. (1989) e Schrama et al. (2011) trabalhando com tilápia, e ao observado também para outras espécies de peixe (Lupatsch et al., 2003; Bureau et al., 2006; Helland et al., 2010) .

A utilização do modelo fatorial gerou estimativas levemente inferiores de ED_m e EM_m . Lupatsch et al. (2003) também reportaram diferenças nas estimativas de ED_m e EM_m , semelhante a observada no presente trabalho, quanto ao modelo utilizado. As estimativas de K_P foram bastante inferiores as observadas para outras espécies de peixe (Rodehutscord e Pfeffer, 1999; Lupatsch et al., 2003; Azevedo et al., 2005). Para suínos em crescimento o K_P

pode variar de 0,35 a 0,8 e para frangos em crescimento de 0,38 a 0,63 (Fuller et al., 1979 e Klein e Hoffmann, 1989, citados por Azevedo et al., 2005). O presente trabalho aborda uma fase de cultivo mais tardia, em que os animais estão mais próximos a idade de abate. A eficiência de retenção energia como proteína é reduzida com o crescimento, esperando-se um aumento na deposição de gordura a medida que ocorre aumento do peso, além de dependerem do genótipo e das condições ambientais, em frangos de corte e suínos em crescimento (Van-Milgen e Noblet, 2003; Lopez e Leeson, 2008). A utilização do modelo linear para estimar o ganho de energia como proteína em função do consumo de energia proteica gerou estimativa de K_p semelhante ao modelo fatorial, indicando que o valor deste índice provavelmente não é consequência do modelo empregado. Quanto aos valores de K_L estimados, estão dentro dos valores observados para outras espécies animais (Noblet et al., 1999; Lupatsch et al., 2003; Van-Milgen e Noblet, 2003; Azevedo et al., 2005; Bureau et al., 2006; Lopez e Leeson, 2008).

As estimativas da eficiência de aproveitamento proteína da dieta e PD_m foram estimadas exponencialmente (Tabela 9).

Tabela 9. Modelos exponenciais ajustados para estimativa da exigência para manutenção de proteína e eficiência de utilização estimada (modelos lineares) durante cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* submetida a diferentes taxas de alimentação (TA)

	Parâmetros do modelo (Valor $\pm$ Erro Padrão)				
	$P_{\max}T$	PB_m	b	RMSE ^j	R ²
P_R	$0,99 \pm 0,0^{***}$	-	$0,51 \pm 0,0^{***}$	0,17	0,76
P_E	-	$0,65 \pm 0,0^{***}$	$0,39 \pm 0,2^{***}$	0,12	0,97
P_D	0,34	-	$0,46 \pm 0,0^{***}$	1,91	0,87
	Eficiência de utilização da proteína digestível ingerida				
	Fase	TA 1	TA 0,75	TA 0,5	TA 0,25
Retenção	1	$0,21 \pm 0,0^a$	$0,26 \pm 0,0^b$	$0,31 \pm 0,0^c$	$0,37 \pm 0,0^d$
	2	$0,21 \pm 0,0^a$	$0,23 \pm 0,0^b$	$0,29 \pm 0,0^c$	$0,33 \pm 0,0^c$
Deposição	1	$0,07 \pm 0,0^a$	$0,08 \pm 0,0^b$	$0,09 \pm 0,0^c$	$0,11 \pm 0,0^d$
	2	$0,06 \pm 0,0^a$	$0,07 \pm 0,0^b$	$0,09 \pm 0,0^c$	$0,11 \pm 0,0^d$

Proteína retida (P_R) ou depositada (P_D) teórica máxima ($P_{\max}T$) ($\text{g kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$); exigência de proteína bruta para manutenção ($\text{g kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$); índice de eficiência de utilização da proteína ingerida para P_r , P_d , ou P_e (proteína excretada); *** $p < 0.0001$; ^jRaiz quadrada média do erro

A capacidade máxima teórica de retenção proteica ($P_{R\max}$) é limiar máximo da curva exponencial, compondo um elemento fundamental do modelo, por representar o potencial genético para retenção de proteína (figura 5.1).

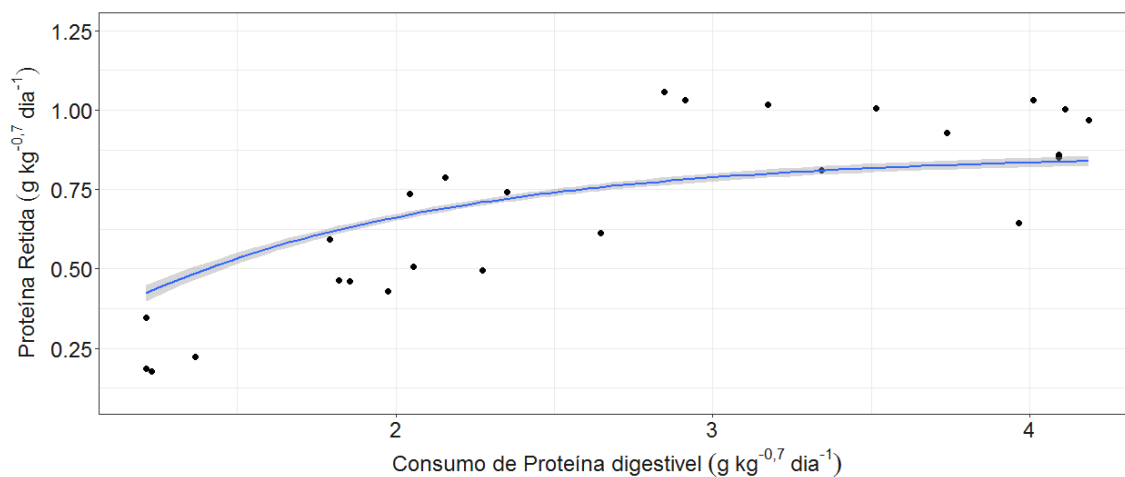


Figura 1. Retenção proteica em função do consumo de proteína digestível (valores preditos $\pm$ erro padrão, faixa sombreada ($\text{g kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$). $y = 0,99[1 - e^{(-0,51PDi)}]$

O índice b depende da qualidade da proteína da dieta, determinando seu aproveitamento para a retenção total. A PD_m foi estimada como a quantidade de proteína excreta quando o consumo é 0, interseção com o eixo y , não correspondendo necessariamente a exigência diária de consumo de PD, mas a quantidade equivalente às perdas endógenas em jejum (Liebert et al., 2006) (Figura 5.2). Este parâmetro é descontado da P_{Rmax} para se estimar a P_D ($\text{g kg}^{-0,67} \text{ dia}^{-1}$), similarmente o índice b é um índice da qualidade da proteína utilizada e, neste caso, referente a sua eficiência de utilização para ganho. Através deste modelo foi estimada a quantidade de proteína retida e depositada em função da quantidade ingerida. O efeito dos

planos de restrição e da fase experimental foram estimados linearmente. Nota-se que a restrição alimentar promoveu um efeito significativo no aproveitamento da proteína, tanto para deposição quanto para retenção.

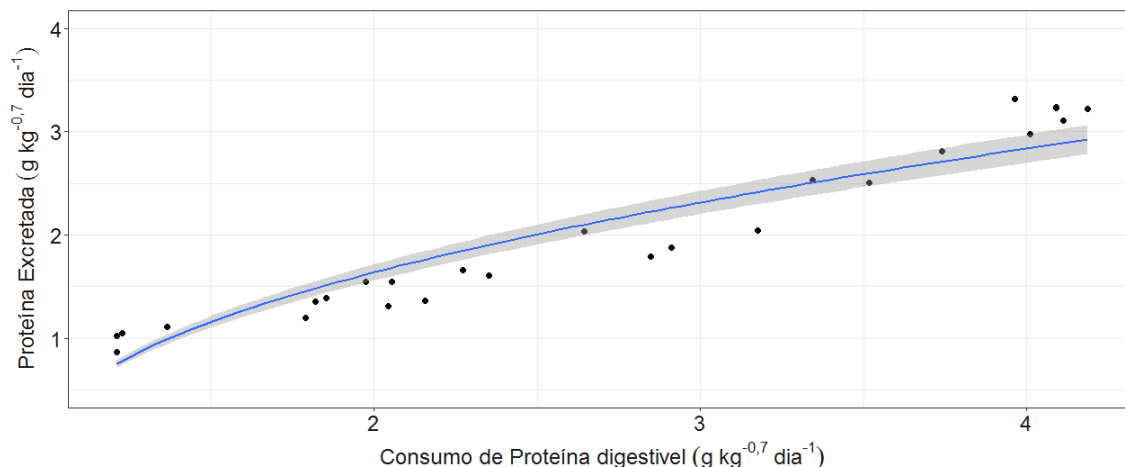


Figura 2. Valores preditos (linha azul) $\pm$ erro padrão (margem sombreada) da quantidade de proteína excretada em função do consumo de proteína digestível ($\text{g kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$). $y = 0,64 e^{(-0,39x)}$

Um componente determinante para a reduzida capacidade de retenção proteica aqui observada, possivelmente, foi a maior exigência de PD_m ($0,65 \text{ g kg}^{-0,7}\text{dia}^{-1}$) estimada. Liebert et al. (2006) encontraram valores inferiores para a PD_m ($0,43 \text{ g kg}^{-0,67}\text{dia}^{-1}$) para animais menores (10 a 100g). Trung et al. (2011) também reportaram valor inferior ($0,45 \text{ g kg}^{-0,8}\text{dia}^{-1}$) utilizando animais de 20g. Os índices reportados para *Sparus aurata*, para animais de até 250g, estimados pelos método fatorial são semelhantes ao do presente estudo (Lupatsch et al., 1998). Não foram

encontrados na literatura trabalhos que avaliassem o efeito do tamanho corporal sobre a PD_m . Independente das características do alimento a taxa de deposição de nutrientes é regulada para alcançar uma determinada composição corporal. Visto que existe uma tendência de significativa redução na P_D observada em outras espécies de peixes e animais, a magnitude relativa do *turnover* proteico assim como sua ineficiência metabólica associada, provavelmente acompanha esta modificação metabólica que ocorre com o aumento do peso (Whittemore et al., 2001; Van-Milgen e Noblet, 2003; Dumas et al., 2007)

A medida que se aumenta a quantidade de PD_i se reduz sua fração retida e depositada, este resultado está de acordo com o de outros trabalhos para tilápia (Kaushik et al., 1995; Liebert et al., 2006). A eficiência de deposição proteica é bastante inferior à observada para tilápia em outro estudo (Liebert et al., 2006); porém semelhante a observada para *Sparus aurata* (Lupatsch et al., 1998). O peso vivo interfere na taxa de deposição proteica que será direcionada para PR, considerando a tendência que animais maiores apresentam em depositar lipídeos, reduzindo a eficiência de utilização de proteína (Lupatsch et al., 1998, 2003; Azevedo et al., 2004; Dumas et al., 2007). Para outras espécies animais observa-se uma redução da P_{RMAX} à medida que

ocorre aumento do peso. Assim, a PD é mais sensível a variações no consumo em animais pesados que naqueles em fases mais iniciais de cultivo (Van-Milgen e Noblet, 2003).

4.4. Conclusão

A restrição alimentar não promoveu uma melhora significativa na conversão alimentar, e retenção de energia ou proteína; Animais de 200 a 300g apresentam uma conversão alimentar inferior aos de 300 a 500g, mas sem diferença quanto a retenção de energia e proteína. A taxa de alimentação não interferiu na metabolizabilidade do alimento. A exigência de energia metabolizável para manutenção de tilápia nilótica é de aproximadamente 11 kcal kg^{-0,8}. A eficiência da energia metabolizável para deposição de proteína é de 0,25 e 0,88 para lipídeos. A exigência de proteína digestível para manutenção é de aproximadamente 0,65 g kg^{-0,7}dia⁻¹ e a capacidade teórica máxima para a linhagem estudada é de 0,99 g kg^{-0,7}dia⁻¹. A eficiência de retenção e deposição, são dependentes da quantidade de alimento fornecido.

4.5. Referências bibliográficas

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th ed. Horwitz W, Latimer GW, organizadores. Gaithersburg, Maryland , USA: AOAC International; 2005.

Azevedo PA, Cho CY, Leeson S, Bureau DP. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat Living Resour. 1998;11:227–238.

Azevedo PA, Leeson S, Cho CY, Bureau DP. Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: Diet, species and size effects. Aquaculture. 2004;234:393–414.

Azevedo PA, van Milgen J, Leeson S, Bureau DP. Comparing efficiency of metabolizable energy utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) using factorial and multivariate approaches. J Anim Sci. 2005;83:842–851.

Botaro D, Furuya WM, Silva LCR, Dos Santos LD, Silva TSDC, Dos Santos VG. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. Rev Bras Zootec. 2007;36:517–525.

Bureau DP, Hua K, Cho CY. Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600 g. Aquac Res. 2006;37:1090–1098.

Bureau DP, Kaushik SJ, Cho CY. Fish Nutrition. In: Halver JE, Hardy RW, organizadores. Third Edit. Elsevier Science (USA); 2002. p. 1–59.

Chowdhury MAK, Siddiqui S, Hua K, Bureau DP. Bioenergetics-Based Factorial Model to Determine Feed Requirement and Waste Output of Tilapia Produced under Commercial Conditions. Aquaculture. 2013;411:138–147.

Dumas A, de Lange CF. M, France J, Bureau DP. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 2007;273:165–181.

Elliott JM, Davison W. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. Oecologia. 1975;19:195–201.

Haidar MN, Petie M, Heinsbroek LTN, Verreth JAJ, Schrama JW. The effect of type of carbohydrate (starch vs. nonstarch polysaccharides) on nutrients digestibility, energy retention and maintenance requirements in Nile tilapia. Aquaculture. 2016;463:241–247.

Helland SJ, Hatlen B, Grisdale-Helland B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post-smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*. 2010;305:150–158.

Hepher B, Liao IC, Cheng SH, Hsieh CS. Food utilization by red tilapia — Effects of diet composition, feeding level and temperature on utilization efficiencies for maintenance and growth. *Aquaculture*. 1983;32:255–275.

Kaushik SJ, Doudet T, Médale F, Aguirre P, Blanc D. Protein and energy needs for maintenance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Appl Ichthyol*. 1995;11:290–296.

Labussière E, van Milgen J, de Lange CFM, Noblet J. Maintenance Energy Requirements of Growing Pigs and Calves Are Influenced by Feeding Level. *J Nutr*. 2011;141:1855–1861.

Lawes J, Gilbert J. Experimental Inquiry into the Composition of Some of the Animals Fed and Slaughtered as Human Food. *Philos Trans R Soc London*. 1859;149:493–680.

Liebert F, Sünder A, Mohamed K. Assessment of nitrogen maintenance requirement and potential for protein deposition in juvenile Tilapia genotypes by application of an exponential nitrogen utilization model. *Aquaculture*. 2006;261:1346–1355.

Lopez G, Leeson S. Review : Energy partitioning in broiler chickens. *Can J Anim Sci*. 2008;205–212.

Lupatsch I, Kissil GW. Feed formulations based on energy and protein demands in white grouper (*Epinephelus aeneus*). *Aquaculture*. 2005;248:83–95.

Lupatsch I, Kissil GW, Sklan D. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): Energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture*. 2003;225:175–189.

Lupatsch I, Kissil GW, Sklan D, Pfeffer E. Energy and protein requirements for maintenance and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquac Nutr*. 1998;4:165–173.

Meyer-Burgdorff K., Osman MF, Günther KD. Energy Metabolism in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 1989;79:283–291.

Noblet J, Karege C, Dubois S, Van Milgen J. Metabolic utilization of energy and maintenance requirements in growing pigs: Effects of sex and genotype. *J Anim Sci.* 1999;77:1208–1216.

Pinheiro J., Bates D. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS (Statistics and Computing). Chambers JR, Eddy W, Hardle W, Sheather S, Tierney L, organizadores. New York: Springer; 2000.

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2014.

Rodehutscord M, Pfeffer E. Maintenance requirement for digestible energy and efficiency of utilisation of digestible energy for retention in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 1999;179:95–107.

Schrama JW, Saravanan S, Geurden I, Heinsbroek LTN, Kaushik SJ, Verreth J a J. Dietary nutrient composition affects digestible energy utilisation for growth: a study on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and a literature comparison across fish species. *Br J Nutr.* 2011;108:277–89.

Teixeira E de A, Saliba E de OS, Euler ACC, de Faria PMC, Crepaldi DV, Ribeiro LP.

Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. Rev Bras Zootec. 2010;39:1180–1185.

Trung D Van, Diu NT, Hao NT, Glencross B. Development of a nutritional model to define the energy and protein requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 2011;320:69–75.

Van-Milgen J, Noblet J. Partitioning of energy intake to heat, protein, and fat in growing pigs. J Anim Sci. 2003;81:E86–E93.

Whittemore CT, Green DM, Knap PW. Technical review of the energy and protein requirements of growing pigs: protein. Anim Sci. 2001;73:363–373.

Xie S, Cui Y, Yang Y, Liu J. Energy Budget of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to ration size. Aquaculture. 1997;154:57–68.

5 Fatores de risco associados à alimentação de tilápia-do-Nilo em sistema de biofloco

5.1 Introdução

A aquicultura é uma das atividades produtivas que mais cresce no mundo, contribuindo para a segurança alimentar mundial. Sua sustentabilidade econômica e ambiental é uma condição para que a atividade permaneça se desenvolvendo. O uso responsável da água vem recebendo cada vez mais atenção, aumentando-se os esforços para que seja utilizada com mais eficiência. A Tecnologia de Bioflocos (*Biofloc Technology – BFT*), se destaca por sua reduzida utilização de água (Martins et al., 2010).

O acúmulo de metabólitos tóxicos dentre eles o nitrogênio inorgânico (principalmente amônio e nitrito, NH_4^+ e NO_2^- respectivamente) é o segundo fator limitante à intensificação da produção de organismos aquáticos, a concentração de oxigênio é o primeiro (Ebeling et al., 2006). Sistemas BFT se caracterizam pela presença de uma comunidade microbiana heterotrófica que, em condições favoráveis, é capaz de utilizar a amônia presente na água para

síntese de proteína. A adição de grãos e melaço como fonte de carbono (C) é uma forma eficiente para promover o crescimento microbiano heterotrófico (Burford et al., 2003). Esta biomassa microbiana pode ser utilizada como fonte de alimento para peixes filtradores, como a tilápia (Avnimelech, 2007).

É necessária manutenção de elevada relação C:N (C:N, 10-16:1) para o estabelecimento e manutenção destes microrganismos (Burford et al., 2003). Diferentes propostas práticas e teóricas orientam a adição de fontes de carbono, que consideram basicamente a concentração de nitrogênio presente na ração (Avnimelech, 1999; Pérez-Fuentes et al., 2016; Arantes et al., 2017), ou na água (Ebeling et al., 2006; Samocha et al., 2007; Xu et al., 2016).

A adição adequada de carbono é capaz de melhorar as condições de qualidade de água favorecendo a sobrevivência e crescimento de camarão tigre, *Penaeus monodon* (Anand et al., 2013; Long et al., 2015). Entretanto os efeitos benéficos relacionados a adições constantes de C ainda são controversos, principalmente quanto a estabilidade e rendimento do sistema (Samocha et al., 2007; Nootong et al., 2011; Pérez-Fuentes et al., 2016; Arantes et al., 2017).

Poot-López et al. (2014) observaram que a adequação da taxa de alimentação é determinante para redução de perdas econômicas e do impacto ambiental do cultivo intensivo

de tilápia. Em BFT, a taxa de alimentação também pode ser determinante da magnitude do crescimento microbiano (produção de sólidos em suspensão), por isto é uma ferramenta de gerenciamento importante capaz de otimizar o uso da biomassa microbiana como fonte de alimento por peixes.

Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar a interação entre a taxa de alimentação e o manejo de adição de carbono sobre as principais variáveis envolvidas na qualidade de água, os fatores de risco envolvidos na mortalidade e o desempenho de crescimento de machos invertidos de tilápia nilótica cultivados em sistema de bioflocos.

5.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquacultura da Universidade Federal de Minas Gerais (LAQUA) no período de 22/10/2014 até 27/01/2015. O ensaio foi realizado em 16 tanques de polipropileno com 0,8m³ de volume útil. Um total de 560 machos invertidos de tilápia nilótica, produzidos no próprio laboratório, de peso médio inicial de $236,5 \pm 4$ g foram utilizados. Os animais foram alocados aleatoriamente em tanques, distribuindo os tratamentos homogeneamente no interior de uma estufa agrícola.

Os animais foram mantidos durante 15 dias previamente ao início do experimento para adaptação ao sistema de cultivo. Neste período não foi observada mortalidade. Durante este período, os parâmetros de qualidade de água foram monitorados três vezes por semana. A adição de carbono no sistema de biofloco foi realizada quando a concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) na água. A medida que a concentração de NAT alcançava valores superiores a 1 mg L^{-1} , o melaço foi adicionado de acordo com a relação teórica de C: N de 6:1. Este manejo adotado para se estimular pontualmente o crescimento microbiano heterotrófico e assim a assimilação do NAT excessivo (Ebeling et al., 2006). O biofloco utilizado foi formado previamente à fase de adaptação experimental, utilizado para o crescimento e manutenção do estoque de peixes no laboratório.

O trabalho foi dividido em duas fases subsequentes, com dois manejos de adição de carbono (MAC 1 e MAC 2) distintos. Durante MAC 1, que durou 39 dias, a adição de carbono foi executada de acordo com a quantidade fração teórica de nitrogênio do alimento adicionado no sistema e que é liberado na água. A ração foi formulada para conter 32% de proteína bruta. Considerou-se que 16% da proteína é composta por nitrogênio e os peixes retiveram efetivamente 25% do nitrogênio ingerido, o restante foi excretado na água. A quantidade de

melaço adicionado na água foi ajustada para se adequar a relação C:N presente na alimentação (considerando que seus ingredientes apresentam em média 50% de carbono) de 10: 1 para 17:1 (Avnimelech, 1999). Assim, por cada 1000 g de ração oferecida, foram incorporados 538 g de melaço ao tanque. Esta taxa de adição constante de carbono teve como objetivo privilegiar a via heterotrófica da assimilação do N (Ebeling et al., 2006).

Ao longo de CAP1, observou-se alta taxa de mortalidade. Os peixes mortos foram removidos diariamente, seus pesos e o dia da morte foram registrados. Este dados foram utilizados para a análise de sobrevivência. MAC 1 foi interrompido e finalizado quando duas unidades experimentais ficaram totalmente comprometidas. Adicionalmente, o MAC 2 foi utilizado para avaliar a recuperação dos animais. Para tanto, foram padronizados 28 peixes por tanque.

A adição de melaço durante MAC 2, que durou 54 dias, foi realizada de acordo com a concentração de NAT no tanque. A quantidade adicionada foi calculada considerando que 6 g de carbono são necessários para assimilar 1 g de NAT a biomassa microbiana (Ebeling et al., 2006; Arantes et al., 2017). O melaço foi adicionado ao tanque em quantidade suficiente para reduzir a concentração de TAN em valores inferiores a 1 mg L⁻¹. Para estimar a quantidade de

melaço a ser adicionado, considerou-se que o este continha 50% de carbono (Avnimelech, 1999).

Em ambas as fases, foram utilizadas taxas de arraçoamento (TA) de 100% (*ad libitum*); 75%; 50% e 25% (TA 1; TA 0,75; TA 0,5 e T 0,25, respectivamente). TA 1 foi definido como a capacidade máxima de consumo com o mínimo de sobras e TA 0,25 equivalendo a 25% da quantidade oferecida a TA 1. O ajuste da taxa de arraçoamento para os demais tratamentos foi feito diariamente, de acordo com a quantidade consumida em TA 1. Os animais foram alimentados três vezes ao dia (às 08:00, 12:00 e 16:00 horas) com uma dieta extrusada feita no próprio laboratório de 4 a 6mm contendo 28% de proteína digestível e 3000 Kcal kg⁻¹ de energia digestível (Tabela 1).

Os animais foram pesados ao final de cada período experimental e a quantidade de ração consumida também foi registrada para cada fase. Para a avaliação do desempenho de crescimento de cada tratamento, ao final de cada fase foram calculados o consumo de alimento relativo ao peso vivo (FI), a conversão alimentar (CA), o ganho de peso diário por metro cúbico (GPDm⁻³) e a taxa de crescimento específico (TCE): PI (Peso inicial); PF (Peso final); Cons. (%) = (consumo médio diário/peso vivo médio por fase)*100; CA = consumo total por fase/

ganho de peso total por fase; $\text{GPDm}^{-3} (\text{g m}^{-3} \text{dia}^{-1}) = \text{ganho de peso total por caixa} / 0.8 / \text{dias}$; TCE ($\% \text{ dia}^{-1}$) = $((\text{Ln(PF)} - \text{Ln(PI)}) / \text{dias}) * 100$.

A avaliação da temperatura, pH, oxigênio, salinidade e SDT_e foi realizada por meio de uma sonda multiparâmetros YSI 6920 V2® (Yellow Springs Incorporated – YSI, OH USA) diariamente. O volume de sólidos sedimentáveis (VSS) foi obtido, semanalmente, por meio do cone de Imhoff (Avnimelech, 2007). As concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT) e nitrito (NO_2) nos tanques de BFT foram mensuradas três vezes por semana conforme metodologia preconizada por UNESCO (1983) e Bendschneider e Robinson (1952), respectivamente. O monitoramento da alcalinidade (CaCO_3) foi realizado uma vez por semana (APHA, 1998). O melaço foi utilizado como fonte de carbono orgânico. O manejo para correção do pH adotado foi realizado através da adição de 20g de cal ((hidróxido de cálcio, Ca(OH)_2) quando este se encontrava abaixo de 6,5. A salinidade foi mantida para todos os tanques entre 1,7 e 2,0 g L^{-1} , através da adição de sal comum (cloreto de sódio) de acordo com a taxa de renovação de água (aproximadamente 35% por semana).

A análise do efeito da TA e do MAC sobre os parâmetros de qualidade de água e desempenho foi feita através de um modelo linear de efeito misto, pelo método de máxima

verossimilhança restrita, o tanque e o dia de análise foram considerados como efeito aleatório, e como efeitos fixos a TA e o MAC (Pinheiro e Bates, 2000), utilizando o procedimento *lme* do pacote *nlme* do programa *R* (Pinheiro et al., 2014). As médias foram estimadas pelo método de mínimos quadrados, através do procedimento *lsmeans* do pacote *lsmeans*, do programa *R* (Russell, 2016). A estrutura de correlação e covariância do modelo foi escolhida de acordo com o AIC (critério de informação de *Akaike*), BIC (Critério de informação *Bayesiano*) e o teste da razão de verossimilhança (Pinheiro e Bates, 2000). Para o estudo da sobrevivência dos animais, foi utilizado o modelo semiparamétrico de riscos proporcionais de *Cox* para dados de sobrevivência, utilizando o pacote *survival*, disponível para o programa *R* (Therneau e Lumley, 2015). O ajuste prévio do modelo foi realizado considerando todos os parâmetros de qualidade de água, assim como os efeitos fixos, restrição e fase. Cada parâmetro foi avaliado individualmente para seleção do modelo considerando-se sua respectiva significância ($p < 0,05$). Os testes da Razão de Verossimilhança, Wald e Rao-Escore (log-Rank) foram realizados com vistas a verificar a adequação do modelo (Cox e Oakes, 1984).

5.3 Resultados e discussão

A temperatura verificada durante o experimento permaneceu entre 28,55 e 28,26 °C, nas fases 1 e 2 respectivamente. Os valores de oxigênio dissolvido mantiveram-se acima de 5,63mg L⁻¹, com médias nas fases 1 e 2 de 5,8 e 5,6mg L⁻¹, respectivamente. Estes valores estão dentro da faixa aceitável para o cultivo de tilápia. As médias dos outros parâmetros físico químicos de qualidade de água avaliados estão apresentados na Tabela 10 e os parâmetros dos modelos ajustados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 10. Efeito do manejo de adição de carbono (MAC) e taxa de alimentação (TA.) sobre

os parâmetros físico químicos de água durante ensaio com Tilápia nilótica, *Oreochromis**niloticus*, médias estimadas por mínimos quadrados

MAC	TA.	Médias ($\pm$ Erro Padrão)					
		NH ₃	NO ₂	Alc	pH	VSS	SDT _e
1	0,25	1,6 $\pm$ 0,1 ^{ab}	0,5 $\pm$ 0,2	32,4 $\pm$ 5,5	6,1 $\pm$ 0,1 ^b	64,4 $\pm$ 7,1 ^a	3,9 $\pm$ 0,1 ^c
	0,5	1,9 $\pm$ 0,1 ^b	0,6 $\pm$ 0,2	34,7 $\pm$ 5,5	6,3 $\pm$ 0,1 ^c	60,4 $\pm$ 7,0 ^a	3,4 $\pm$ 0,6 ^b
	0,75	1,4 $\pm$ 0,1 ^a	0,5 $\pm$ 0,2	35,8 $\pm$ 5,5	5,6 $\pm$ 0,1 ^a	82,1 $\pm$ 7,4 ^b	4,0 $\pm$ 0,6 ^d
	1	1,6 $\pm$ 0,1 ^{ab}	0,6 $\pm$ 0,2	34,6 $\pm$ 5,5	6,3 $\pm$ 0,1 ^c	69,1 $\pm$ 7,1 ^a	3,2 $\pm$ 0,6 ^a
2	0,25	0,1 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1 ^b	59,2 $\pm$ 5,0 ^b	7,2 $\pm$ 0,1 ^c	32,4 $\pm$ 5,7 ^{ab}	2,2 $\pm$ 0,1 ^a
	0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1 ^b	44,7 $\pm$ 5,2 ^a	6,9 $\pm$ 0,1 ^b	28,8 $\pm$ 5,6 ^a	2,2 $\pm$ 0,1 ^a
	0,75	0,4 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1 ^a	41,9 $\pm$ 5,0 ^a	6,4 $\pm$ 0,1 ^a	36,8 $\pm$ 5,8 ^b	2,4 $\pm$ 0,1 ^b
	1	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1 ^a	38,0 $\pm$ 5,2 ^a	6,5 $\pm$ 0,1 ^a	31,3 $\pm$ 5,7 ^a	2,2 $\pm$ 0,1 ^a

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Amônia (NH₃, mg L⁻¹), nitrito (NO₂, mg L⁻¹), volume de sólidos sedimentáveis (VSS, ml L⁻¹), alcalinidade (Alc, mg L⁻¹), pH, e sólidos dissolvidos totais estimados pela condutividade elétrica (SDT_e, g L⁻¹)

Tabela 11. Coeficientes (Coef.) dos modelos ajustados para os parâmetros físico químicos da água em função da taxa de alimentação (TA) e manejo de adição de carbono (MAC) para o cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus*.

Coef.	Parâmetros do modelo ($\pm$ Erro Padrão)					
	NH ₃ [§]	NO ₂	Alc	pH [§]	VSS [§]	SDT _e [§]
Intercepto	1,6 $\pm$ 0,1***	0,5 $\pm$ 0,1**	34,4 $\pm$ 5,0***	6,1 $\pm$ 0,1***	69,0 $\pm$ 6,7***	3,6 $\pm$ 0,04***
MAC	-1,4 $\pm$ 0,1***	-	-	0,7 $\pm$ 0,1***	-36,7 $\pm$ 8,7**	-1,4 $\pm$ 0,05***
TA. L	-0,1 $\pm$ 0,02**	-	-	-	7,96 $\pm$ 2,6*	-0,3 $\pm$ 0,03***
TA. Q	-	-	-	0,22 $\pm$ 0,1***	-	-0,2 $\pm$ 0,04***
MAC 2: L	-	-0,3 $\pm$ 0,1*	-16,5 $\pm$ 3,7***	-0,54 $\pm$ 0,1***	-6,9 $\pm$ 2,9*	0,4 $\pm$ 0,04***
MAC 2: Q	-	-	-	-	-	0,1 $\pm$ 0,05*
RMSE ^j	1,26	0,64	11,02	0,31	11,18	0,27
R ²	0,57	0,80	0,59	0,75	0,82	0,76

Coeficiente linear e quadrático para TA; Coeficiente linear e quadrático para TA em MAC 2; *** p<0.0001, ** p<0.001 e * p<0.05; §Efeito cúbico (p<0.0001); ^j Erro quadrático médio; Amônia (NH₃, mg L⁻¹), nitrito (NO₂, mg L⁻¹), volume de sólidos sedimentáveis (VSS, ml), alcalinidade (Alc, mg L⁻¹), pH, e sólidos dissolvidos totais estimados pela condutividade elétrica (SDT_e, g L⁻¹)

A toxicidade da amônia é principalmente atribuída a proporção presente em sua forma não ionizada, NH₃⁺, que é função principalmente do pH. O desempenho de juvenis de tilápia aparentemente não é afetado em concentrações de até 0,27 mg L⁻¹ de amônia não ionizada (Hargreaves e Kucuk, 2001). A concentração de amônia se manteve dentro do limite de referência, considerando que a faixa de pH e temperatura observada durante o experimento,

aproximadamente 0,5% da amônia estava como NH_3^+ (Boyd, 1998). A concentração de NAT em MAC 1 foi significativamente superior a em MAC 2. Em MAC1 observou-se uma tendência significativa de redução da concentração de TAN com a redução da restrição, possivelmente pelos reduzidos níveis de consumo observados nesta fase a taxa de entrada de nutrientes não foi suficiente para manter um crescimento microbiano suficiente para que ocorra assimilação destes compostos nitrogenados. O efeito de MAC foi significativo e não se observou efeito da TA durante MAC2 sobre a concentração de NAT, demonstrando que possivelmente ocorreu uma adequada estabilização do crescimento microbiano capaz de assimilar este composto.

Inicialmente, nas primeiras 6 a 7 semanas após o início do cultivo, ocorre a estabilização da microbiota nitrificante. Neste período há competição entre a comunidade heterotrófica e nitrificante, prevalecendo a primeira, uma vez que sua taxa de crescimento é muito superior em ambientes com elevada relação C:N (Hargreaves, 2006; Malone et al., 2006). O acúmulo de NAT, seguido pelo de NO_2 , é esperado nesta fase de estabelecimento do biofloco (Nootong et al., 2011; Ray e Lotz, 2014). Este fenômeno, foi observado no presente trabalho, após o início da maior taxa de adição de melaço em MAC 1, possivelmente pelo estímulo ao estabelecimento da população heterotrófica. A concentração de nitrito apresentou um pico no dia 31 de

experimento, que não foi suficiente para promover um efeito significativo de MAC (Figura 3).

As concentrações de nitrito observadas em MAC 2, apresentaram efeito significativo da TA.

Apesar do efeito significativo, a concentração de nitrito observada durante o experimento

permaneceu abaixo dos limites de toxicidade para tilápia, considerando a salinidade utilizada

(Silva, 2013).

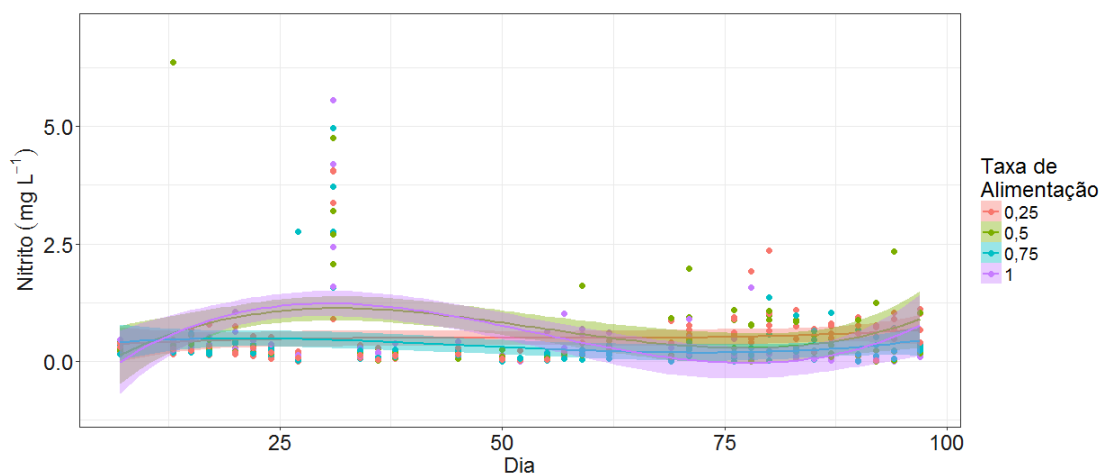


Figura 3. Figura 1: Concentração de nitrito (mg L^{-1} , $\pm$ erro padrão) durante os dias de experimento (Dia) para cada taxa de alimentação. $y = 1,63 - 0,1x - 0,3m$, (x = taxa de alimentação e m = manejo de adição de carbono).

A nitrificação consome teoricamente 7,07g de alcalinidade para cada g de N oxidado a nitrato, enquanto a assimilação da amônia consome 3,57g (Ebeling et al., 2006). Desta forma,

considerando o maior consumo de alcalinidade pela nitrificação, justifica-se os menores valores de alcalinidade observados para os tratamentos em que foram verificados menores concentrações de nitrito (TA 1, TA 0,75 e TA 0,5). A alcalinidade observada durante todo o experimento foi superior a 20mg L^{-1} , permanecendo acima dos limites de referência para cultivo de organismos aquáticos (Boyd, 1998). Os tanques reduzida TA, TA 0,25, apresentaram valores superiores durante MAC 2. A conversão de amônia em biomassa microbiana demanda consumo de oxigênio e alcalinidade (Ebeling et al., 2006). Somente esta última foi afetada de maneira significativa pelos tratamentos experimentais, devido à limitação da quantidade de cal a ser adicionada para se evitar variações bruscas de pH (Furtado et al., 2011).

O MAC e a TA determinaram efeito significativo nos valores de pH. Durante MAC 1, o tratamento com o maior VSS (TA 0,75) foi o que apresentou os menores valores de pH e alcalinidade, tendência que se manteve em MAC 2. Este padrão de comportamento, é explicado pela maior produção de sólidos nestes tanques, uma vez que o bicarbonato é utilizado como fonte de carbono inorgânico para o crescimento microbiano (Ebeling et al., 2006; Ray e Lotz, 2014). Assim como o efeito de MAC sobre o pH e alcalinidade pode ser atribuído a maior produção de biomassa microbiana em MAC 1.

A avaliação de sólidos em suspensão total (SST) é uma análise que implica em algumas dificuldades operacionais em condições de campo, e assim, dentre outras, o VSS é uma opção para se quantificar a concentração de sólidos e a produção de biofloco no tanque (Avnimelech, 2009; Schweitzer et al., 2013; Xu et al., 2016). Neste sentido, O significativo maior VSS e reduzida concentração de NAT indicam que a TA 0,75 possivelmente favoreceu a maior assimilação de N da ração como biofloco, reduzindo a liberação deste nutriente na água. Em MAC 2, esta tendência permaneceu, mas em menor magnitude. O VSS em MAC 1 (60 to 80 ml L^{-1}) foi equivalente ao observado por Schweitzer et al. (2013) para a concentração de 800 a 1000 mg L^{-1} e em MAC 2 (30 to 35 ml L^{-1}) a de 400 a 600 mg L^{-1} de SST.

A estimativa de SDT_e apresentou comportamento semelhante ao VSS, ou seja, TA 0,75 apresentou valores superiores em ambas as fases, e com diferença significativa entre os demais tratamentos somente em MAC 1 (Figura 4 e Figura 5).

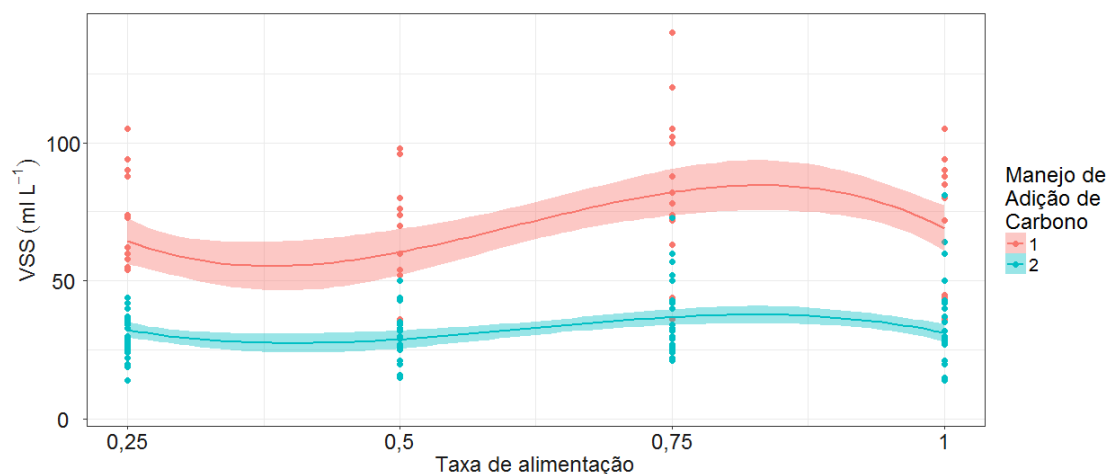


Figura 4. Volume de sólidos sedimentáveis (VSS, ml L⁻¹, $\pm$ erro padrão) em função dos níveis da taxa de alimentação e manejo de adição de carbono

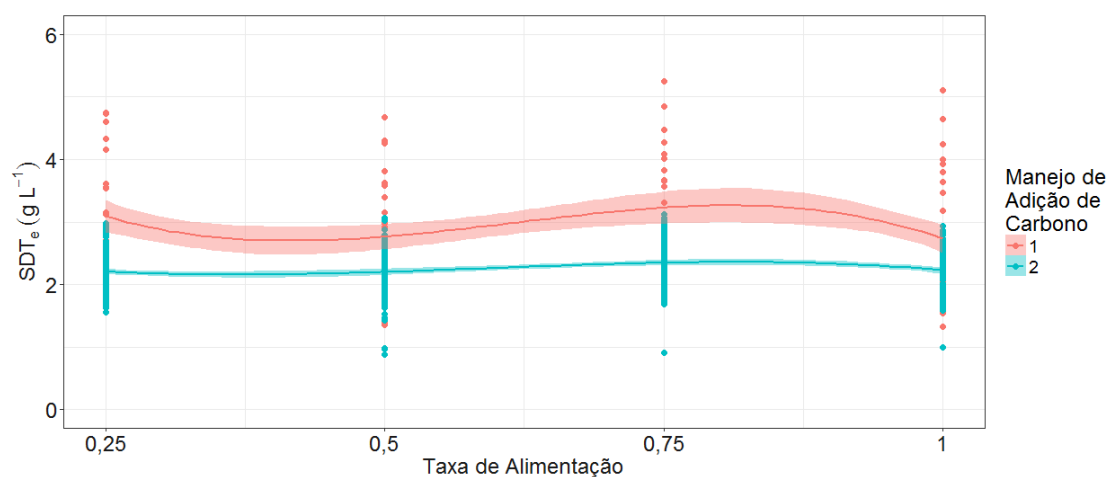


Figura 5. Concentração de sólidos dissolvidos totais estimados pela condutividade elétrica (SDTe, g L⁻¹, $\pm$ erro padrão) em função da taxa de alimentação e manejo de adição de carbono

O efeito significativo de fase, tanto para o VSS quanto para o SDTe, foi consequência do manejo de adição de carbono. A quantidade de melão adicionada em MAC 1 (8, 16, 24 e

32 g tanque⁻¹ dia⁻¹ para TA 0,25; TA 0,5; TA 0,75 e TA 1, respectivamente) determinou uma maior relação C:N no tanque, favorecendo possivelmente a predominância de um sistema heterotrófico, e assim, maior produção de sólidos (Ebeling et al., 2006; Xu et al., 2016). De acordo com o manejo adotado em MAC 2 foi utilizado 400g de melaço (360g em um tanque de TA 0,5 e 40g em dois tanques de TA 0,75) em tanques que eventualmente apresentaram concentração de NAT > 1 mg L⁻¹. No restante dos tanques não foi necessário adicionar melaço, caracterizando um sistema em que predominou o crescimento de microrganismos quimioautotróficos, que se caracteriza principalmente pela reduzida produção de sólidos em suspensão (Burford et al., 2003; Ray e Lotz, 2014).

A mortalidade em sistemas de cultivo de tilápia em bioflocos é normalmente baixa, quando o sistema está estabilizado (Luo et al., 2014; Ekasari et al., 2015; Long et al., 2015). Entretanto, existem relatos de altas taxas de mortalidade para camarão e carpa, em cultivos com elevadas relações C:N, atribuídos principalmente à hipóxia causada pelo aumento da produção de sólidos, em decorrência do estímulo excessivo do crescimento de microrganismos heterotróficos, podendo haver oclusão branquial (Schveitzer et al., 2013; Zhao et al., 2014).

A maior parcela da mortalidade (80,7%) foi observada em somente dois tanques (submetidos a TA 1 e TA 0,5 durante MAC 1), que apresentaram 100% de mortalidade. O comportamento dos parâmetros de qualidade de água destes tanques, portanto, foi determinante para o estudo de sobrevivência, assim como o tratamento a que pertenciam. A análise do risco relativo permitiu verificar, em função do comportamento dos parâmetros de qualidade de água no tempo, a probabilidade de ocorrência de mortalidade. Desta forma, dentre os parâmetros avaliados o SDTe, o pH, e a TA foram os que se correlacionaram para a probabilidade de ocorrência de mortalidade (Tabela 12).

Tabela 12. Ajuste do modelo de Cox para análise de sobrevivência do cultivo de Tilápia nilótica

Oreochromis niloticus

Parâmetros selecionados	B	RR	IC	p
SDTe	1,96	7,04	4,06 - 12,19	<0,0001
pH	0,7	2,08	1,42 - 3,04	0,00014
TA	1,62	5,04	1,71 - 14,82	0,003

Coeficiente β (B); Expoente do coeficiente β ou risco relativo (RR); Intervalo de confiança com 95% de probabilidade (IC); Valores de p para cada covariável selecionada. Valor de p para cada covariável selecionada $p < 0.005$; sólidos dissolvidos totais estimados pela condutividade elétrica (SDTe, g L⁻¹); taxa de alimentação (TA)

O risco relativo (RR) representa o exponencial do coeficiente β , isto é, a mudança no percentual de risco em decorrência da variação no parâmetro selecionado (Bewick et al., 2004).

Assim, para cada aumento da taxa de alimentação, para os planos avaliados, eleva-se o risco de mortalidade em 5,04 vezes. Demonstrando, assim, a importância da adequação do aporte de nutrientes para a sobrevivência de tilápia em sistema de bioflocos. A produção de sólidos em suspensão também representa um importante fator de risco considerando que o risco relativo para SDT_c foi o maior, aumentando em aproximadamente 7,04 vezes o risco de mortalidade. O aumento do pH também se relaciona diretamente com o risco de mortalidade, cujo aumento eleva o risco de mortalidade em 2,08 vezes. Este risco, entretanto, não se relaciona com a toxicidade de amônia, cuja concentração não apresentou efeito significativo quanto ao risco relativo.

O processo de biofloculação é complexo, cujos mecanismos exatos ainda permanecem, em grande parte, desconhecidos. Uma combinação de fatores determina a formação dos floculantes extracelulares poliméricos, e dentre estes, o pH é capaz de determinar a estabilidade do floco (De Schryver et al., 2008). A agregação celular, para formação de bioflocos, é favorecida em ambientes levemente ácidos, em que o excesso de H^+ irá neutralizar a carga

elétrica da superfície celular. Quando o pH se eleva para a neutralidade, a capacidade de agregação celular e a hidrofobicidade superficial bacteriana é reduzida. A superfície celular bacteriana tende a ficar negativamente carregada, ocorrendo forças de repulsão entre células (Muda et al., 2014). Portanto, a capacidade de agregação está relacionada com o VSS e SDT_c, interferindo na qualidade de formação do biofloco.

O desempenho de crescimento dos animais também foi profundamente influenciado pelo manejo de adição de carbono apresentando ainda interação com TA. As médias das respostas de desempenho estão apresentadas na Tabela 13 e os parâmetros do modelos na Tabela 14.

Tabela 13. Efeito do manejo de adição de carbono (MAC) e taxa de alimentação (TA) sobre o desempenho de Tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, médias estimadas por mínimos quadrados

MAC	TA	BI	BF	Médias ($\pm$ Erro Padrão)					
				Cons	PI	PF	GPD _m ³	TCE	CA
1	0,25	10,4	9,8	0,3 $\pm$ 0,01 ^a	237,8 $\pm$ 2,3	224,8 $\pm$ 2,8 ^a	-14,8 $\pm$ 1,7 ^a	-0,1 $\pm$ 0,01 ^a	-2,3 $\pm$ 0,2 ^a
				0,5 $\pm$ 0,02 ^b	238,2 $\pm$ 2,3	254,0 $\pm$ 4,5 ^b	7,1 $\pm$ 1,7 ^b	0,1 $\pm$ 0,01 ^b	5,8 $\pm$ 1,4 ^b
	0,75	10,3	11,3	0,9 $\pm$ 0,03 ^c	235,4 $\pm$ 2,3	260,1 $\pm$ 4,9 ^b	33,3 $\pm$ 2,0 ^c	0,3 $\pm$ 0,01 ^c	4,1 $\pm$ 0,6 ^b
				1,0 $\pm$ 0,04 ^c	234,7 $\pm$ 2,3	269,9 $\pm$ 5,7 ^b	33,7 $\pm$ 2,0 ^c	0,3 $\pm$ 0,01 ^c	3,0 $\pm$ 0,4 ^b
	1	10,3	11,8						
2	0,25	7,9	8,8	0,5 $\pm$ 0,02 ^a	231,0 $\pm$ 3,7 ^a	255,1 $\pm$ 4,6 ^a	15,0 $\pm$ 1,7 ^a	0,2 $\pm$ 0,07 ^a	3,3 $\pm$ 0,5 ^a
				0,8 $\pm$ 0,04 ^b	248,8 $\pm$ 4,0 ^b	302,5 $\pm$ 9,9 ^b	33,9 $\pm$ 1,7 ^b	0,3 $\pm$ 0,07 ^{ab}	2,3 $\pm$ 0,4 ^{ab}
	0,75	9,1	13,5	1,0 $\pm$ 0,04 ^c	260,2 $\pm$ 3,7 ^{bc}	385,8 $\pm$ 21,9 ^c	62,8 $\pm$ 2,0 ^c	0,7 $\pm$ 0,07 ^c	1,7 $\pm$ 0,3 ^b
				1,3 $\pm$ 0,06 ^d	268,0 $\pm$ 4,0 ^c	391,4 $\pm$ 26,5 ^c	73,7 $\pm$ 2,0 ^d	0,6 $\pm$ 0,07 ^{bc}	2,0 $\pm$ 0,3 ^{ab}
	1	9,5	13,8						

Médias seguidas por diferentes letras sobrescritas na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); BI (kg m^{-3}) = Biomassa inicial; BF (kg m^{-3}) = Biomassa final; Cons (%) = (consumo médio diário/peso vivo médio por fase)*100; PI (g) = Peso Inicial; PF (g) = Peso Final; GPD_m³ ($\text{g m}^{-3}\text{d}^{-1}$) = (ganho de peso / $\text{m}^3\text{.dia}$); TCE ($\% \text{ dia}^{-1}$) = (((Ln (PI)-Ln (PF))/dias).100); CA = (consumo total por fase/ ganho de peso total por fase)

Tabela 14. Coeficientes (Coef.) dos modelos lineares de efeito misto ajustados para os parâmetros de desempenho em função da taxa de alimentação (TA) e manejo de adição de carbono (MAC) para o cultivo de Tilápia nilótica *Oreochromis niloticus*

Coef.	Parâmetros do modelo ($\pm$ Erro Padrão)					
	Cons	PI	PF	GPD _m ³	TCE	CA
Intercepto	0,66 $\pm$	236,5 $\pm$	252,2 $\pm$	14,8 $\pm$	0,1 $\pm$	2,7 $\pm$
	0,01 ***	1,2 ***	2,3 ***	0,9 ***	0,00 ***	0,4 **
MAC	0,23 $\pm$	15,6 $\pm$	81,1 $\pm$	31,5 $\pm$	0,3 $\pm$	-
	0,02 ***	1,5 ***	9,3 ***	0,0 ***	0,04 ***	-
TA. L	0,5 $\pm$	-	31,7 $\pm$	38,4 $\pm$	0,4 $\pm$	3,2 $\pm$
	0,03 ***	-	4,5 ***	1,8 ***	0,01 ***	0,5 **
TA. Q	-	-	-	-10,7 $\pm$	-0,1 $\pm$	-4,5 $\pm$
	-	-	-	1,8 **	0,01 *	0,8 **
MAC 2: L	-	30,4 $\pm$	78,3 $\pm$	7,4 $\pm$	-	-4,2 $\pm$
	-	3,1 ***	19,4 **	0,0 ***	-	0,6 ***
MAC 2: Q	-	-	-	6,7 $\pm$	-	5,2 $\pm$
	-	-	-	0,0 ***	-	0,9 **
RMSE ^j	0,06	2,11	20,66	19,1	46,72	0,76
R ²	0,95	0,97	0,88	0,73	0,89	0,89

Coeficiente linear e quadrático para TA; Coeficiente linear e quadrático para TA em MAC 2; *** $p < 0.0001$, ** $p < 0.001$ and * $p < 0.05$; ^j Raiz quadrada média do erro; Cons (%) = (consumo médio diário/peso vivo médio por fase)*100; PI (g) = Peso Inicial; PF (g) = Peso Final; GPD_m³ (g m⁻³d⁻¹) = (ganho de peso / m³.dia); TCE (% dia⁻¹) = (((Ln (PI)-Ln (PF))/dias).100); CA = (consumo total por fase/ ganho de peso total por fase);

A ausência de diferença entre o consumo relativo ao peso vivo para TA 0,75 e TA 1 em MAC 1 se deve à variações diárias, uma vez que nem todo o alimento fornecido era efetivamente consumido. O tamanho dos animais é reconhecido como um fator determinante da capacidade de consumo, entretanto, a diferença entre o peso médio inicial em MAC 1 e MAC 2 é de aproximadamente 30g, pois os animais praticamente não ganharam peso durante o MAC

1. Esta variação de peso corresponderia a um impacto inferior a 0.1% no consumo relativo ao peso vivo para a faixa de peso abordada (200-300g) e para a composição da dieta fornecida (Chowdhury et al., 2013). Caso o efeito do peso vivo fosse representativo o suficiente para interferir no efeito de MAC, a resposta a TA seria de diferentes magnitudes entre MAC 1 e MAC 2, e estaria presente nesta condição uma interação entre MAC e TA. Assim, o efeito de MAC é resultado principalmente de MAC 1 (0,23%), que prejudicou o consumo dos animais em aproximadamente 30%, considerando a magnitude do intercepto do modelo (0,66%).

O aporte de oxigênio é conhecido como um fator limitante ao consumo e desempenho para tilápia. Mesmo em situações na quais a concentração de oxigênio dissolvido na água se encontre em níveis seguros para a sobrevivência, a redução de 5,0 para 3,0 mg L⁻¹ pode provocar uma redução de aproximadamente 25% no consumo, semelhante a observada no presente estudo (Tran-duy et al., 2008).

O efeito de TA observado sobre o peso inicial dos animais em MAC 2 é consequência de ser subsequente a MAC 1, resultando em coeficientes de regressão semelhantes. Somente o PF de TA 0,25 se diferiu dos demais durante o MAC 1, único tratamento que submeteu os animais a perda de peso, já no MAC 2 os maiores PF observados foram em T1 e T0,75, não

apresentando diferença significativa entre ambos. As condições de cultivo em MAC 1 foram, pois, tão restritivas que a quantidade de ração fornecida foi um fator secundário ao PF. Ao passo que, em MAC 2 o principal fator determinante para o PF foi o regime alimentar, cujo coeficiente linear (78,3 g) é semelhante ao de MAC (81,1 g).

A capacidade produtiva do sistema pode ser avaliada através do GPD, pois demonstra a capacidade das condições presentes em proporcionar crescimento aos animais. As condições no MAC 1 não permitiram que o incremento no consumo da TA 0,75 para TA 1 resultasse em melhora significativa em GPD. Este comportamento fica claro na Figura 4, em que pode ser observado o ponto de inflexão da curva em MAC 1 a partir de TA 0,75.

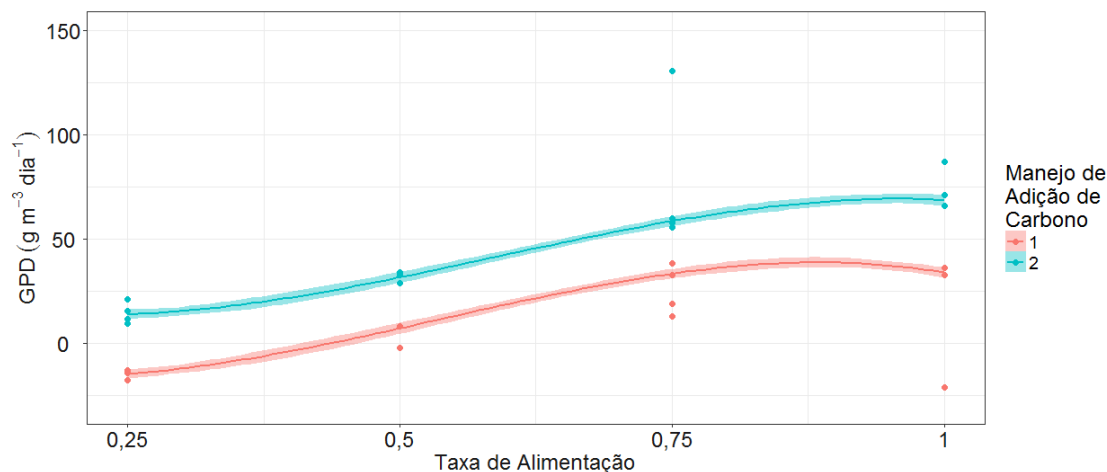


Figura 6. Ganho de peso médio por metro cúbico (GPD, g m⁻³ dia⁻¹, $\pm$ erro padrão) em função da taxa de alimentação e do manejo de adição de carbono

Conforme esperado, com o aumento de TA, a curva de MAC 2 apresenta uma tendência assintótica de estabilização do ganho (Poot-López et al., 2014). De acordo com o modelo ajustado o coeficiente de MAC (31,5 g m⁻³ dia⁻¹) demonstra que a adoção de MAC 2 promoveu incremento significativo no crescimento dos animais, semelhante ao efeito linear de TA em MAC 1 (38,4 g m⁻³ dia⁻¹). Desta forma, fica evidente a importância do MAC sobre a produtividade do tanque.

O GPD verificado durante MAC 2, para TA 0,75 e TA 1 foi inferior ao observado em outros trabalhos em bioflocos: Luo et al. (2014) verificaram 424 g m⁻³ dia⁻¹ para animais de 20 a 160g em densidade de estocagem de 8 até 44 kg m⁻³; Long et al. (2015) verificaram 112 g m⁻³

dia⁻¹ para animais de 50 a 160g, em densidades de 3 a 9 kg m⁻³. Importante ressaltar, no entanto, que nestes trabalhos foram utilizadas rações de 44 e 46% de proteína bruta. Lima et al. (2015) utilizando ração (32% de proteína bruta) com composição semelhante a do presente estudo, em biofoco, observaram produtividade semelhante, 70 e 86 g m⁻³ dia⁻¹, para animais de 120 a 400g, em densidade de 3 a 12 e 5 a 16 kg m⁻³, respectivamente. Portanto, considerando a magnitude do coeficiente de fase e ainda o resultado dos estudos acima mencionados, depreende-se que o desempenho em MAC 2 foi afetado principalmente pelo manejo alimentar, ficando clara a importância da qualidade da ração, assim como do manejo de adição de carbono para a manutenção de padrões superiores de produtividade no cultivo.

A taxa de crescimento específico também foi afetada pelo manejo de carbono. Este índice leva em consideração que o crescimento de peixes é continuamente exponencial e por este pressuposto apresenta diversas limitações. No entanto, é útil para se comparar o desempenho de animais em condições de peso e temperatura similares. Este coeficiente não é constante durante todas as fase de crescimento, reduzindo a medida que o peso do animal aumenta (Dumas et al., 2010). No presente trabalho, o comportamento da TCE foi inverso ao esperado, por ser maior MAC 2, com coeficiente positivo para a fase (0,3) três vezes maior que

o intercepto. As condições mantidas em MAC 2 favoreceram assim o aumento na velocidade de crescimento dos animais.

A restrição alimentar prejudicou a conversão alimentar em MAC 1 (Figura 7). A perda de peso em TA ,25 resultou em valores negativos de CA, e nas demais taxas de alimentação foram observados valores bastante superiores aos esperados (1,02 – 1,14) para esta fase de criação (Chowdhury et al., 2013).

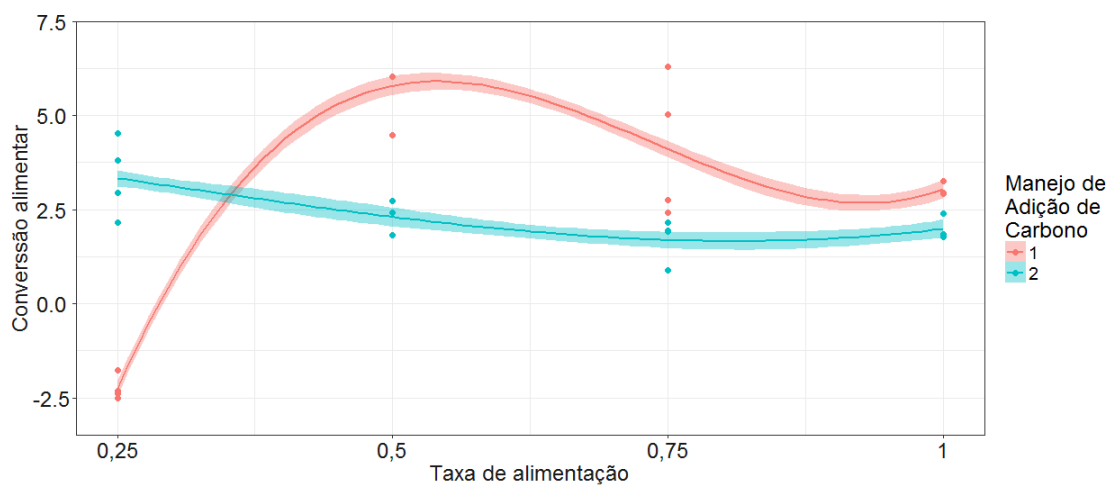


Figura 7. Conversão alimentar (CA $\pm$ erro padrão) em função taxa de alimentação e do manejo de adição de carbono

A elevação da concentração de sólidos em suspensão na água, decorrente da elevada taxa de adição de melaço, possivelmente provocou oclusão branquial limitando capacidade

respiratória dos animais prejudicando seu desempenho (Hargreaves, 2006; Schweitzer et al., 2013). Os elevados índices de conversão alimentar em condições de hipóxia é um resultado esperado, uma vez que as exigências para manutenção podem estar aumentada em mais de 20% em tais condições (Fernandes e Rantin, 1994). As condições de cultivo em MAC 2 foram mais favoráveis para o aproveitamento do alimento pelos animais. A TA 0,75 apresentou a melhor CA, com valores mais próximos ao esperado. O comportamento da CA em função de TA é semelhante ao observado em outros trabalhos, em que planos de restrição mais severos promoveram piora na eficiência alimentar dos animais, assim como a alimentação sem restrição (Xie et al., 1997; Helland et al., 2010).

5.4 Conclusão

A taxa de alimentação é um fator determinante da qualidade de água e eficiência produtiva em sistemas de cultivo em bioflocos, recomendando-se uma restrição de 25% (TA 0,75). A adição constante de carbono, deve ser realizada com cautela, com vistas a não se promover uma produção excessiva de sólidos, evitando-se assim elevadas taxas de mortalidade e níveis reduzidos de desempenho. A adição constante de carbono deve ser realizado somente

nas primeiras semanas de estabelecimento, para o controle da elevação de NAT, e então, a adição de carbono deve ser realizada de acordo com a concentração de NAT na água. Os SDT_c e pH são importantes parâmetros de monitoramento para se promover elevadas taxas de sobrevivência no cultivo de tilápias em bioflocos.

5.5 Referências bibliográficas

Anand PSS, Kumar S, Panigrahi A, Ghoshal TK, Syama Dayal J, Biswas G, Sundaray JK, De D, Ananda Raja R, Deo AD, Pillai SM, Ravichandran P. Effects of C:N ratio and substrate integration on periphyton biomass, microbial dynamics and growth of *Penaeus monodon* juveniles. Aquac Int. 2013;21:511–524.

APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20^o ed.

American Public Health Association, organizador. Washington, DC, USA; 1998.

Arantes R, Schweitzer R, Quadros W, Regina K, Vinatea L. Aquacultural Engineering Nutrient discharge , sludge quantity and characteristics in biofloc shrimp culture using two methods of carbohydrate fertilization. Aquac Eng. 2017;76:1–8.

Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 1999;176:227–235.

Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 2007;264:140–147.

Avnimelech Y. *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. Baton Rouge: The World Aquaculture Society; 2009.

Bendschneider K, Robinson R. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J Mar Res*. 1952;11:87–96.

Bewick V, Cheek L, Ball J, Meier K. Statistics review 12 : Survival analysis Estimating the survival curve using the. *Crit Care*. 2004;8:389–394.

Boyd C. *Water Quality for Pond Aquaculture*. Alburn, Alabama; 1998.

Burford MA, Thompson PJ, McIntosh RP, Bauman RH, Pearson DC. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*. 2003;219:393–411.

Chowdhury MAK, Siddiqui S, Hua K, Bureau DP. Bioenergetics-Based Factorial Model to Determine Feed Requirement and Waste Output of Tilapia Produced under Commercial Conditions. *Aquaculture*. 2013;411:138–147.

Cox DR, Oakes D. *Analysis of Survival Data*. London: Chapman and Hall; 1984.

De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*. 2008;277:125–137.

Dumas A, France J, Bureau D. Modelling growth and body composition in fish nutrition: Where have we been and where are we going? *Aquac Res*. 2010;41:161–181.

Ebeling JM, Timmons MB, Bisogni JJ. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 2006;257:346–358.

Ekasari J, Rivandi DR, Firdausi AP, Surawidjaja EH, Zairin M, Bossier P, De Schryver P. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*. 2015;441:72–77.

Fernandes MN, Rantin FT. Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. *Aquaculture*. 1994;127:339–346.

Furtado PS, Poersch LH, Wasielesky W. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*. 2011;321:130–135.

Hargreaves JA. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquac Eng*. 2006;34:344–363.

Hargreaves JA, Kucuk S. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. *Aquaculture*. 2001;195:163–181.

Helland SJ, Hatlen B, Grisdale-Helland B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post-smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*. 2010;305:150–158.

Lima ECR, Souza RL, Wambach X faria, Silva UL, Correia EDS. Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. *Rev Bras Saúde Produção Anim*. 2015;16:948–957.

Long L, Yang J, Li Y, Guan C, Wu F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. Elsevier B.V.; 2015;448:135–141.

Luo G, Gao Q, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture. 2014;422–423:1–7.

Malone RF, Bergeron J, Cristina CM. Linear versus Monod representation of ammonia oxidation rates in oligotrophic recirculating aquaculture systems. Aquac Eng 34. 2006;34:214–223.

Martins CIM, Eding EH, Verdegem MCJ, Heinsbroek LTN, Schneider O, Blancheton JP, Roque d’Obcastel E, Verreth JAJ. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. Aquac Eng. 2010;43:83–93.

Muda K, Aris A, Salim MR, Ibrahim Z, van Loosdrecht MCM, Nawahwi MZ, Affam AC. Aggregation and surface hydrophobicity of selected microorganism due to the effect of substrate, pH and temperature. Int Biodeterior Biodegrad. 2014;93:202–209.

Nootong K, Pavasant P, Powtongsook S. Effects of Organic Carbon Addition in Controlling Inorganic Nitrogen Concentrations in a Biofloc System. *J World Aquac Soc.* 2011;42:339–346.

Pérez-Fuentes JA, Hernández-Vergara MP, Pérez-Rostro CI, Fogel I. C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture. Elsevier B.V.*; 2016;452:247–251.

Pinheiro J., Bates D. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS (Statistics and Computing). Chambers JR, Eddy W, Hardle W, Sheather S, Tierney L, organizadores. New York: Springer; 2000.

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2014.

Poot-López GR, Hernández b, JM, Gasca-Leyva E. Analysis of ration size in Nile tilapia production: Economics and environmental implications. *Aquaculture. Elsevier B.V.*; 2014;420–421:198–205.

Ray AJ, Lotz JM. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquac Eng.* 2014;63:54–61.

Russell L. Least-Squares Means. CRAN; 2016. p. 55.

Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Ali A, Burger JM, Almeida R V, Ayub Z, Harisanto M, Horowitz A, Brock DL. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Eng.* 2007;36:184–191.

Schveitzer R, Arantes R, Costódio PFS, do Espírito Santo CM, Arana LV, Seiffert WQ, Andreatta ER. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquac Eng. Elsevier B.V.*; 2013;56:59–70.

Silva MJ dos S. Efeito agudo da amônia e no nitrito em tilápias *Oreochromis niloticus* mantidas em baixa salinidade. Universidade Federal de Minas Gerais; 2013.

Therneau TM, Lumley T. Survival Analysis. CRAN; 2015.

Tran-duy A, Schrama JW, Dam AA Van, Verreth JAJ. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake , growth and hematological parameters of Nile tilapia , *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 2008;275:152–162.

UNESCO. CHEMICAL METHODS FOR USE IN MARINE ENVIRONMENTAL MONITORING 1983. In: Intergovernmental Oceanographic Commission, organizer. Manuals Guid. Paris, France; 1983. p. 56.

Xie S, Cui Y, Yang Y, Liu J. Energy Budget of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to ration size. Aquaculture. 1997;154:57–68.

Xu WJ, Morris TC, Samocha TM. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. Aquaculture. 2016;453:169–175.

Zhao Z, Qiyu X, Liang L, Chang'an W, Jinnan L, Liansheng W. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchange pond polyculture system. Aquaculture. 2014;434:442–448.