

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo  
(*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos em  
duas fases de crescimento**

Marcos Antonio da Silva

Belo Horizonte

2016

**Marcos Antonio da Silva**

**Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo  
(*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos em  
duas fases de crescimento**

Dissertação apresentada ao programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de  
Veterinária da Universidade Federal de  
Minas Gerais como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Mestre em Zootecnia  
Área de concentração: Produção Animal  
Prof. Orientador: Edgar de Alencar Teixeira

Belo Horizonte

2016

S586n Silva, Marcos Antonio da, 1986-  
Níveis de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
cultivada em sistema de bioflocos em duas fases de crescimento / Marcos Antonio da Silva. –  
2016.  
83 p. : il.

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

1. Tilápia (Peixe) – Alimentação e rações – Teses. 2. Tilápia (Peixe) – Criação – Teses.  
3. Nutrição animal – Teses. 4. Proteínas na nutrição animal – Teses. 5. Água – Qualidade –  
Teses. I. Teixeira, Edgar de Alencar. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de  
Veterinária. III. Título.

CDD – 639.31

DISSERTAÇÃO defendida e aprovada em 15/02/2016 pela Comissão Examinadora  
composta pelos seguintes membros:



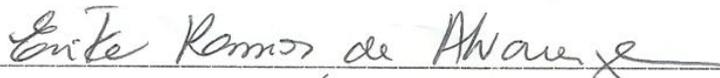
---

Prof. (Orientador) Edgar de Alencar Teixeira



---

Dr. Daniel Vieira Crepaldi



---

Dra. Érika Ramos de Alvaranga

## **Dedicatória**

Dedico esse trabalho a minha família, aos meus pais (Aparecida e Vicente), e irmãos.

## **Agradecimentos**

Agradecimentos a Deus por ter me encaminhado durante estes dois anos de pós-graduação, a minha família e amigos pelo apoio incondicional.

Aos professores, técnicos, estudantes de iniciação científica e colegas em geral do Laboratório de Aquicultura (LAQUA) e Laboratório de nutrição (LANA) da Universidade Federal de Minas Gerais pela convivência e contribuição durante os experimentos do meu mestrado.

Aos professores do curso de pós-graduação em zootecnia pela contribuição na minha formação.

Ao Prof. Edgar de Alencar Teixeira por aceitar como meu orientador durante estes dois anos de pós-graduação.

Aos membros da banca examinadora por aceitarem o convite da minha defesa de dissertação.

A Fundação Mendes Pimentel (FUMP) pelo apoio durante todo mestrado e a CAPES pela bolsa de pós-graduação.

A FAPEMIG pelo financiamento deste projeto.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Tilápia.....	17
2.2. Filtração.....	19
2.3. Nutrição.....	20
2.3.1. Proteína.....	20
2.3.2. Fósforo.....	22
2.4. Imobilização de nitrogênio inorgânico.....	23
2.5. Biofoco .....	26
2.5.1. Sólidos.....	28
2.5.2. Fontes de carbono e relação C:N.....	30
2.5.3. Desempenho em biofoco.....	32
2.5.4. Aproveitamento do floco.....	34
3 - OBJETIVOS.....	35
3.1. Objetivo geral.....	35
3.2. Objetivos específicos.....	35
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1. Experimento.....	36
4.2. Dietas.....	36
4.3. Qualidade de água.....	38
4.4. Quantidade de sólidos.....	39
4.5. Avaliação de desempenho.....	40
4.6. Composição corporal.....	41
4.7. Valor nutricional do floco.....	41
4.8. Delineamento experimental e análises estatísticas.....	41
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1. Qualidade de água.....	42
5.2. Desempenho.....	54
5.3. Composição corporal.....	64
4.5. Qualidade do floco.....	65

6 - CONCLUSÕES.....	68
7 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

---

## LISTAS DE FIGURAS

---

Figura 1	Ilustração de um sistema bioflocos.....	27
Figura 2	Unidades experimentais alocadas em estufa agrícola do LAQUA.....	38
Figura 3	Tempo de estabilização de sólidos sedimentáveis.....	40
Figura 4	Variação de nitrogênio amoniacal na produção de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.....	46
Figura 5	Variação de nitrogênio amoniacal na produção de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.....	46
Figura 6	Variação de nitrito na produção de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.....	48
Figura 7	Variação de nitrito na produção de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.....	48
Figura 8	Variação de fósforo na produção de juvenis de tilápia do Nilo em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB. (A) primeiro experimento, (B) segundo experimento.....	50
Figura 9	Sólidos sedimentáveis do bioflocos do segundo experimento na produção de juvenis de tilápias do Nilo alimentadas com diferentes níveis de PB.....	54

Figura 10	Peso médio final (g) de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB durante nove semanas.....	56
Figura 11	Peso médio final (g) de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB durante quatorze semanas.....	56
Figura 12	Ganho de peso diário de tilápias do Nilo em bioflocos com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento, (B) segundo experimento .....	58
Figura 13	Conversão alimentar aparente de tilápias do Nilo em bioflocos em bioflocos com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento, (B) segundo experimento. ....	58
Figura 14	Sobrevivência de tilápias do Nilo em bioflocos com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento, (B) segundo experimento. ....	61
Figura 15	Índice de Gordura visceral de tilápias do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.....	63

---

---

## LISTAS DE TABELAS

---

Tabela 1	Metabolismo de diferentes sistemas (fotoautotrófico, autotrófico e heterotrófico) para imobilização de 1g de nitrogênio amoniacal.....	24
Tabela 2	Níveis de proteínas utilizados para tilápias em bioflocos.....	33
Tabela 3	Fórmula e composição proximal das dietas experimentais.....	37
Tabela 4	Qualidade de água em duas fases de cultivo de tilápia em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	43
Tabela 5	Quantidade de sólidos, alcalinidade e fósforo em duas fases de cultivo de tilápia em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	52
Tabela 6	Peso médio (g) de juvenis de tilápias do Nilo em duas fases de crescimento cultivadas em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	55
Tabela 7	Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo em duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	57
Tabela 8	Desempenho de tilápias do Nilo com relação a Índice víscerosomático (IVS), hepatossomático (IHS) e gordura visceral (IGV) e taxa de eficiência protéica (TEP) em duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	62
Tabela 9	Composição corporal com base na matéria seca de juvenis de tilápia do Nilo em duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	64
Tabela 10	Valor nutricional do flocos com base na matéria de duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.....	66

---

---

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

ALC	Alcalinidade
NH <sub>3</sub>	Amônia
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amônio
Ca(OH) <sub>2</sub>	Bicarbonato de sódio
BFT	Biofloc technology
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de cálcio
C	Carbono
Cm	Centímetro
NH <sub>4</sub> Cl	Cloreto de amônio
CV	Coefficiente de variação
CDR	Consumo diário de ração
CAA	Conversão alimentar aparente
DE	Densidade de estocagem
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
sp.	Espécie
EE	Extrato etéreo
P	Fósforo
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Fósforo dissolvido
GPD	Ganho de peso diário
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Glicose
g	Gramas
°C	Graus Celsius
Hab.	Habitante
BHT	Hidroxitolueno butilado
h.	Hora
IGV	Índice de gordura visceral
IHS	Índice hepatossomático
IVS	Índice viscerossomático
<sup>15</sup> C	Isótopo estável <sup>15</sup> C
<sup>15</sup> N	Isótopo estável <sup>15</sup> N
L	Litro
m <sup>3</sup>	Metro cúbico

mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Min.	Minuto
$\text{NO}_3^-$	Nitrato
$\text{KNO}_3$	Nitrato de potássio
$\text{NO}_2^-$	Nitrito
N	Nitrogênio
N-AT	Nitrogênio amoniacal total
<i>O.</i>	Oreochromis
$\text{O}_2$	Oxigênio
OD	Oxigênio dissolvido
PPT	Partes por mil
%	Porcentagem
PHB	Polihidroxibutirato
pH	Potencial hidrogeniônico
PB	Proteína bruta
PD	Proteína digestível
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilograma
RAS	Recirculating aquaculture system
C:N	Relação carbono:nitrogênio
EB:PB	Relação energia bruta:proteína bruta
SS	Sólidos sedimentáveis
SST	Sólidos suspensos totais
$(\text{NH}_2)_4\text{SO}_4$	Sulfato de amônio
TCE	Taxa de crescimento específico
TEP	Taxa de eficiência proteica
Ton.	Tonelada
ATP	Trifosfato de adenosina

---

## RESUMO

Um dos principais mecanismos de melhorar a qualidade de água na aquacultura é através de sucessivas trocas de água. O cenário atual não permite o uso irracional de recursos hídricos, pois a cultura vem enfrentando restrição e escassez de água, que tendência para sistemas eficientes e sustentáveis. Neste contexto, o sistema bioflocos surgiu como uma alternativa promissora para produção aquícola, pois a troca de água é mínima ou zero. O acúmulo de matéria orgânica, fezes e nutrientes, com suplementação de fontes de carbono quando necessário, combinado com movimentação e aeração constante da coluna d'água, promove o crescimento de microrganismos heterotróficos assimiladores de nitrogênio amoniacal. Estes servem de alimento adicional para peixes filtradores como a tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A nutrição representa o maior custo da cadeia produtiva de pescado. Na expectativa de redução do teor de proteína bruta em bioflocos foram realizados dois experimentos simultâneos com tilápias do Nilo com peso médio inicial de 9,94g (primeiro experimento) e 47,75g (segundo experimento) durante 61 e 98 dias, respectivamente. Foram testados cinco níveis de proteína bruta (17, 21, 25, 29 e 33% de PB) e 3300 Kcal de energia bruta. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial ( $p < 0,05$ ). Os resultados com relação a parâmetros de qualidade de água foram afetados pelos níveis de PB da dieta, com exceção de temperatura e nitrito. Em relação a desempenho, houve aumento linear do peso final e ganho de peso diário e redução da conversão alimentar com o aumento dos níveis de PB no primeiro experimento, os resultados tendenciam para nível ótimo de inclusão de PB próximo a 33% para juvenis de tilápia com até 56g. Enquanto que no segundo experimento foi observado efeito quadrático com nível de inclusão máximo de 26,02% e 27,31% de PB obtido para conversão alimentar e ganho de peso diário. O peixes alimentados com menores níveis de proteína tiveram maior deposição de gordura na carcaça devido a maior relação energia:proteína, assim como o excesso de PB no segundo experimento que foi usado para produzir lipídeos. O baixo valor nutricional do flocos provavelmente afetado pelo excesso de sólidos pode ter comprometido sua contribuição como fonte de alimento para juvenis de tilápias. Contudo, é possível dizer que tilápias de 10 a 56g podem ser alimentadas com 33% e de 56 a 230g com 26 a 28% de PB em sistema de bioflocos.

Palavras chave: Bioflocos, nutrição, proteína bruta, tilápia do Nilo.

## ABSTRACT

One of the main mechanisms to improve water quality in aquaculture is through successive changes of water. The current situation does not allow the irrational use of water resources, because culture is facing restriction and water scarcity, that tendency to efficient and sustainable systems. In this context, the biofloc system has emerged as a promising alternative for aquaculture as water exchange is minimal or zero. The accumulation of organic matter, feces and nutrients, supplemental with carbon sources when necessary, combined with constant aeration of the water column, promotes the growth of ammonia nitrogen assimilators heterotrophic microorganisms. These serve as additional food for filter feeding fish such as Nile tilapia. Nutrition is the highest cost of production of fish chain. For decreasing of the crude protein content in rations were performed two simultaneous experiments with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) the average of initial weight was of 9.94 for first experiment and 47.75g for second experiment. These were conducted over a period of 61 and 98 days, respectively. five levels of crude protein were tested (17, 21, 25, 29 and 33% CP) and 3300 kcal of gross energy. Data were subjected to analysis of variance and polynomial regression ( $p < 0.05$ ). The water quality parameters were affected by the CP levels in the diet, except for temperature and nitrite. Regarding the performance, there was a linear increase in the final weight and average daily gain and reduced feed conversion with increasing CP levels in the first experiment, The optimal level of PB was close to 33% for tilapia juveniles up to 56g. In the second experiment was a quadratic effect with maximum inclusion level of 26.02% and 27.31% CP obtained these for feed conversion and average daily gain. The fish fed with lower protein levels had increased deposition of fat in the carcass due to higher energy: protein ratio, and excess PB in the second experiment was used to produce lipids. The low nutritional value of floc was probably affected by excess of solids, this may have compromised its contribution as a source of food for tilapia juveniles. However, it is possible to say that tilapia from 10 to 56g can be fed with 33% and 56 to 230g with 26-28% CP in biofloc system.

Keywords: Biofloc, crude protein, nutrition, Nile tilapia.

## 1. INTRODUÇÃO

Para os próximos anos ocorrerá aumento da demanda de proteína animal, com destaque para produção aquícola que tem apresentado crescimento maiores que outras atividades de produção de alimentos (Tacon e Metian, 2013). Estima que em 2050 a população mundial passe dos atuais 7,2 bilhões para 9 bilhões, impulsionada principalmente por países emergentes. Haverá envelhecimento da população mundial devido o prolongamento da expectativa de vida (Lem et al, 2014; Jin et al., 2015), aumento de casos de obesidade e doenças cardiovasculares (Tacon e Metian, 2013), que levará ao consumo de alimentos mais saudáveis.

Cerca de 30% da população mundial apresenta algum déficit ou excesso nutricional (Tacon e Metian, 2013). Segundo Dixon (2010), casos de obesidade têm aumentado em todo o mundo e está relacionado a uma complexidade de fatores, entre eles a disponibilidade de alimentos e hábitos alimentares. A vulnerabilidade da saúde relacionada à alimentação tendência para busca de alimentos mais saudáveis e nutritivos. O pescado apresenta melhor valor nutricional (proteína, aminoácidos essenciais, ácidos graxos) comparado com outras fontes proteicas (Tacon e Metian, 2013). O consumo de 150g de peixe é suficiente para suplementar de 50-60% da exigência proteica diária de um adulto (FAO, 2014).

O consumo de pescado cresce a cada ano. Em 2012 o consumo médio mundial foi de 19,2 kg/hab/ano (FAO, 2014), enquanto no Brasil o consumo encontra-se em 10 Kg/hab/ano, abaixo do recomendado pela OMS (Organização mundial da saúde) de 12 Kg/hab/ano. Estima-se que o consumo per capita mundial aumente em 16% até 2022 (Lem et al., 2014) Atualmente, o pescado corresponde a 16,7% da proteína animal e 6,5% de toda proteína consumida pela população mundial (FAO, 2014).

A produção mundial de pescado foi de 158 milhões de toneladas em 2012. Apresentando o dobro do crescimento da população nas últimas décadas. A aquicultura colabora com 42% do montante, com crescimento de 6% ao ano, nos últimos cinco anos. Enquanto que a pesca por captura tem-se mostrado estável com perspectiva de queda para os próximos anos (FAO, 2014). A produção aquícola pode ser aumentada substancialmente, uma vez que a maioria da produção é originária de sistemas extensivos e semi-intensivo (Crab et al., 2012).

Cerca de 86% de toda produção de pescado é proveniente de água doce (Tacon e Metian, 2013). No entanto, o Brasil apesar de possuir a maior reserva de água doce do mundo é apenas o 12º maior produtor mundial, com 1,1% da produção (707 mil ton.) sendo 86% correspondente ao cultivo de peixes (FAO, 2014).

Sabe-se que custo com a nutrição representa o maior gasto da cadeia produtiva da aquicultura, podendo chegar a 70% (Avnimelech, 2006; Singh et al., 2008, Abdel-Tawwab et al., 2010; Megahed, 2010; Emerenciano et al., 2013. Ng e Romano, 2013), principalmente devido aos altos teores de proteína, componente mais caro da dieta. Entretanto, somente 20-30% da proteína dos alimentos são absorvidos pelo peixe. O restante é eliminado na forma de amônia (Avnimelech, 1999, 2006; Ebeling et al., 2006; De Schryver et al., 2008; Crab et al, 2012; Hargreaves, 2013, Wang et al., 2015), causando perda de qualidade de água e contaminação ambiental. Neste contexto, são necessárias novas alternativas de produção que sejam mais eficientes e sustentáveis (Hargreaves, 2006; Widanarni e Ekasari, 2012; Emerenciano et al., 2013; Ng e Romano, 2013), que resulte em diminuição nos custos de produção e pressão sobre populações selvagens (Avnimelech, 2009; Kuhn et al., 2010; Ray et al., 2010b; Crab et al, 2012; Ng e Romano, 2013).

A aquicultura não permite o uso irracional de água. A escassez de água é uma realidade e pode tornar um problema sério para os próximos anos. Estima que em 2050, 70% da população mundial enfrentará algum problema de falta de água potável. Sabe-se que a produção aquícola pode contribuir com os impactos ambientais, uma vez que produz toneladas de dejetos incluindo fezes, sobras de ração (Avnimelech, 2009). Por isso, são necessárias alternativas de gerenciamento da produção.

Neste cenário, a tecnologia de bioflocos (BFT) surge como uma alternativa promissora para aquicultura, pois possui flocos microbianos que servem de nutriente adicional para os organismos cultivados, além de contribuir para a manutenção da qualidade da água. O BFT apresenta facilidade para o cultivo intensivo por diminuir os custos de investimento e manutenção em relação aos sistemas tradicionais (Luo et al., 2014). Devido ao potencial de reciclagem de nutriente, fezes e matéria orgânica promovendo o estímulo ao crescimento de microrganismos que serve de fonte complementar de alimento para peixes filtradores. Causa menos impacto ambiental em relação a outros sistemas de produção, pois a troca de água é mínima ou zero devido a depuração da água pelas bactérias que são capazes de assimilar os compostos nitrogenados do sistema (Hargreaves, 2006).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que apresenta capacidade de filtração de partículas em suspensão (Sanderson et al., 1996), tem sido utilizadas em BFT, pois podem aproveitar os flocos microbianos como fonte de alimento, o que possibilita a redução do teor de proteína das dietas.

A tecnologia de produção de peixes em bioflocos é conhecida desde a década de oitenta, mas publicações científicas começaram a surgir nestas últimas duas décadas. Por isso, diversos pontos ainda encontram-se abertos a respeito do cultivo de tilápias neste sistema. Em relação aos aspectos nutricionais ainda permanece dúvidas sobre: Qual o nível de proteína bruta para a tilápia do Nilo nas diferentes fases de cultivo em bioflocos? E seus efeitos sobre o desempenho zootécnico e qualidade de água?

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Tilápia**

As tilápias (*Oreochromis* sp.) constituem o segundo grupo de peixes mais cultivados no mundo. Em 2012 foram produzidas aproximadamente 4,5 milhões de toneladas, ficando atrás apenas das carpas, que apresentaram produção de 25,4 milhões de toneladas. A produção de tilápias cresceu 12% nos últimos cinco anos, com perspectivas ainda maiores. Cerca de 71% das tilápias produzidas são nilóticas (*Oreochromis niloticus*) (FAO, 2012). No Brasil, as tilápias representam cerca de 47% da produção continental, sendo o principal peixe cultivado (MPA, 2011).

A tilápia é um peixe de água doce da família dos ciclídeos, nativa do continente africano. É muito utilizada na piscicultura devido seu rápido crescimento, podendo chegar a 500g em menos de seis meses (Little et al., 2008). Além disso, apresenta resistência a variações de temperatura, qualidade de água e patógenos, reproduz várias vezes ao ano, e apresenta habilidade em comer ração (El-Saidy e Gaber, 2005; El-Sayed, 2006; Bomfim et al., 2008). Aceita alimento inerte logo após a absorção do saco vitelino, característica ideal para piscicultura (Sayed e Teshima, 1992), e ainda reproduzem em cativeiro sem indução hormonal, podem ser utilizadas em policultivos. Toleram altas densidades, aceita diferentes

formulações de dietas e tem alta aceitação de mercado, uma vez que não apresenta espinhos em Y no seu filé (Bomfim et al., 2008; Ng e Romano, 2013).

Espalhou-se pelo mundo, sendo cultivadas em regiões tropicais, temperadas e subtropicais (El-Sayed, 2006; Crab et al., 2009; Ng e Romano, 2013). A temperatura ótima para seu crescimento é de 25-30°C (Crab et al., 2009, Furuya, 2010). Variações de temperatura podem aumentar ou diminuir seu metabolismo causando perda de desempenho (Singh et al., 2008), abaixo de 16-17°C cessa o consumo de alimento (Lim e Webster, 2006), e nas primeiras fases de crescimento são mais sensíveis a variações de temperatura. Azaza et al. (2008) avaliando quatro temperaturas (22, 26, 30 e 34°C) para juvenis de tilápia de 20g verificaram que 26 e 28°C apresentaram melhor desempenho. Houve piora na conversão alimentar para 22 e 34°C, ou seja, gasto de energia em temperaturas abaixo do conforto térmico. Em outro experimento estes mesmos autores verificaram que a taxa de sobrevivência foi sinificativamente menor a 19 e 36,5°C.

Apesar de resistentes a variações de pH (Ross, 2000; Avnimelech, 2009), as tilápias crescem melhor em pH neutro ou levemente alcalino (Lim e Webster, 2006; Avnimelech, 2009).

São resistentes a toxicidade por amônia, essa capacidade aumenta com o tamanho do peixe. A concentração de 1 mg/L de amônia é altamente tóxico para larvas de tilápia de aproximadamente 0,06g, enquanto que juvenis de 10g toleram até 2,23 mg/L, sendo 7,4 letal para esta fase de crescimento (Benli e Köksal, 2005). Resultado semelhante ao de El-Sherif e El-Feky (2008) que encontraram como concentração letal 7,1 mg/L para juvenis de tilápia de 19g. Os peixes excretam amônia por diferença de concentração através das brânquias, quando a concentração na água é maior, a amônia na forma não ionizável ( $\text{NH}_3$ ) se difundi pelas brânquias devido sua falta de carga, causando danos no organismo e exposição a doenças. É mais problemática em pH alcalino quando ocorre maior conversão do amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em amônia ( $\text{NH}_3$ ) (Francis-Floyd, 1996; Lim e Webster, 2006; Avnimelech, 2009). Em menor proporção, o aumento da temperatura também contribui para processo citado anteriormente (Francis-Floyd, 1996; Avnimelech, 2009).

De modo geral, a análise de água mede concentração de nitrogênio amoniacal total (N-AT), resultante da soma das concentrações de  $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ . Segundo Avnimelech (2009), 1,5 mg/L de N-AT é considerado tóxico para sistemas de produção. È visto que o desempenho diminui com o aumento da concentração de metabólitos nitrogenados no sistema (Francis-

Floyd, 1996; Avnimelech, 2009), por isso é um parâmetro que deve ser monitorado constantemente.

## 2.2. Capacidade de Filtração da tilápia

As tilápias são peixes que apresentam capacidade de filtração de partículas em suspensão. Imaginava-se que as estruturas de filtragem funcionariam como uma peneira, mas estudos mostram que o mecanismo é mais eficiente, menos propenso a entupimento (Smith e Sanderson, 2007). Alimenta por bomba de sucção e realiza filtração por fluxo cruzado com presença de muco nos rastros branquiais que serve para adesão das partículas (Sanderson et al., 1996). As partículas aprisionadas no muco são enviadas para o esôfago e posteriormente engolidas (Goodrich et al., 2000). Um mecanismo utilizado pela tilápia do Nilo é a variação no controle de secreção de muco em resposta ao tamanho da partícula, propiciando adesão de agregados de diferentes tamanhos.

As tilápias são mais eficientes na filtração nas primeiras fases de desenvolvimento. Turker et al. (2003a) testaram quatro faixas de crescimento de tilápias do Nilo (16, 40, 140 e 390g) sobre o consumo de fitoplâncton e verificaram redução significativa da filtração com o aumento do tamanho. É visto também que a maior eficiência de filtração acontece ao anoitecer (Turker, 2004).

Turker et al. (2003b) observaram que a tilápia do Nilo apresenta capacidade de filtração mais eficiente que a carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) para algas verdes (6-24  $\mu\text{m}$ ) do que cianobactérias (12-65  $\mu\text{m}$ ) cultivadas em sistema de fitoplâncton. Neste mesmo trabalho, verificou-se que a taxa de filtração de algas verdes foi de 702 mgC/kg/h para tilápia contra 414 mgC/kg/h para carpa, em relação a cianobactérias a carpa obteve 1.028 mgC/kg/h contra 812 mgC/kg/h da tilápia. O hábito oportunista da tilápia foi observado por Asaduzzaman et al. (2009) que utilizaram tilápias em policultivos com camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*) e verificaram redução significativa na abundância de fitoplâncton, mas não houve efeito significativo sobre a comunidade de zooplâncton, provavelmente devido a facilidade de predação. Menezes et al. (2010) investigaram a entrada de *O. niloticus* numa comunidade de plâncton e detectaram significativa diminuição da biomassa de zooplâncton e fitoplâncton. Estes resultados corroboram para utilização da tilápia em sistema biofloco, uma vez que este sistema contém uma rica comunidade de

microrganismos, que constituem potencial alimentos para este peixe filtrador (Azim e Little, 2008).

## **2.3. Nutrição**

### **2.3.1. Proteína**

A proteína é um elemento essencial para manutenção e desenvolvimento de peixes (Shiau e Peng, 1993; Singh et al., 2008), assim como qualquer organismo vivo, principalmente nas primeiras fases de desenvolvimento, quando o crescimento é acelerado. É o nutriente mais importante nas dietas para peixes, principalmente devido sua alta proporção nas rações (Singh et al. 2008), sua deficiência resulta em perda de desempenho.

Por requerer mais proteína na dieta, os peixes apresentam menor relação ED:PD que outros animais de produção. De modo geral peixes requerem de 8-10 Kcal de energia digestível por grama de proteína (Lovell, 1991), justificado pelo fato de exigir menos energia para manutenção da temperatura corporal e para excreção de metabólitos nitrogenados.

Em sistemas com renovação diária de água, as recomendações de inclusão de proteína nas rações para tilápias variam de 20 a 50%, e tendem a diminuir com o desenvolvimento do peixe. Larvas requerem de 35 a 50% de PB, juvenis de 30 a 40 % de PB e na fase adulta de 20 a 30% de PB (El-Sayed, 2006), valores próximos aos recomendados pelo NRC (2011) de 40% de PB para tilápias menores que 20g, 34% para faixa de 20-200g e 30% para faixa de 200-600g. Furuya (2010) recomenda valores 41, 30 e 27% de PB para larvas durante a inversão, peixes menores 100g e maiores que 100g, respectivamente. Ng e Romano (2013) recomendam proteína mínima 40, 30, 25 e 20% de PB em dietas para tilápias de até 2, 10-20, 60-175 e 300-400g, respectivamente.

Hayashi et al. (2002) trabalharam com dietas de 32 a 50% de PB e 4000 Kcal para larvas de 2-3 dias de eclosão em sistema com renovação de 20% de água e verificaram efeito quadrático para ganho de peso, sendo o valor máximo indicado para essa fase de crescimento de 39%. El-Sayed e Teshima (1992) trabalharam com dietas (30 a 50% de PB) e (3000 a 5000 kcal) em sistema com renovação 75% de água e mostraram que larvas de 12 mg exigem 45% PB e 4000 Kcal para ótimo crescimento e aproveitamento do alimento. Larumbe-Morán et al. (2010) avaliaram que larvas de 0,25g de tilápia do Nilo e dietas de 20 a 50% de PB em

diferentes salinidades em sistema de recirculação de água (RAS) e observaram aumento do ganho de peso com aumento do nível de proteína na dieta, que apresentou efeito quadrático, sendo 47% o nível máximo de PB na ração. Abdel-Tawwab et al. (2010) verificaram que juvenis de 0,4-0,5g alimentados com 45% de PB apresentaram melhor crescimento em sistema com renovação de 50% de água. Hafedh (1999) não observou diferença de desempenho de larvas de tilápias alimentadas com 40% e 45% de PB em sistema com renovação de 25% de água, sugerindo que pode ser utilizado 40% de PB como valor máximo. Estes resultados reforçam que na primeira fase de crescimento tilápias exigem no mínimo de 40% de PB.

A maioria dos trabalhos de exigências concentram em desempenho, não levam em consideração o custo da alimentação como também o potencial poluente do nitrogênio proveniente de dietas com alto teores de proteína. Neste contexto, Furuya et al. (2000) utilizaram dietas de 24-36% de PB para juvenis de tilápia de 0,4g em sistema com renovação constante de 10 L/min. de água oriunda de rio e obtiveram efeito quadrático para conversão alimentar, ganho de peso e peso final. Com base no desempenho e custo das dietas eles concluíram que 32% de proteína atende as exigências para esta fase de crescimento. A proteína na carcaça apresentou efeito quadrático, ou seja, o excesso de proteína é excretado para o ambiente. Loum et al. (2013) testaram dietas com 21 a 45% de PB, e 32% de PB foi adequado para juvenis de tilápia de 1,25g cultivadas em RAS.

Li et al. (2012) utilizaram três níveis de PD (20, 25, 30%) e três ED (2600, 2800 e 3000 Kcal) para juvenis de tilápia do Nilo de 7g produzidos em RAS. Os resultados tendenciaram para níveis intermediários de PD e ED. Ogunji e Wirth (1999) testaram sete dietas de 7 a 44% de PB para juvenis de 4-5g, e concluíram que 33% de PB resultou em melhor crescimento e conversão alimentar para está fase de crescimento em RAS.

Abdel-Tawwab et al. (2010) avaliaram três dietas com 25, 35 e 45% de PB em sistema com renovação de 50% de água e verificaram que 35% de PB foi suficiente para juvenis de 17–22g e 37–43g terem um melhor crescimento. Hafedh (1999) verificou que 40% de PB foi suficiente para melhor desempenho (Peso final, conversão alimentar e taxa de crescimento específico) para juvenis de 45g, enquanto que para outras duas faixas de peso (96g e 264g) podem ser alimentadas com 25 a 30% de PB normalmente em RAS. El-Saidy e Gaber (2005) avaliaram juvenis de tilápia de 70g com dietas com 25 e 30% de PB em RAS e verificaram que 25% de PB resultou em melhor conversão alimentar e lucro líquido.

Uma tendência que vem sendo utilizada em diferentes sistemas de produção é o conceito de proteína ideal. Balanço ideal de aminoácidos que atenda as exigências dos animais. E que permite a redução de proteínas nas dietas (Botaro et al., 2007, Furuya, 2010). Dietas baseadas em PB podem apresentar excesso de aminoácidos causando perda de nutriente que serão potencial poluente. Furuya et al. (2005), Bomfim et al. (2008) e Gonçalves et al. (2009) utilizaram tilápias de diferentes tamanhos em sistema com renovação de água e conseguiram reduzir significativamente a proteína da dieta com suplementação de aminoácidos baseado em proteína ideal.

### **2.3.2. Fósforo**

O fósforo é um dos minerais mais importantes na alimentação, pois está associado ao crescimento, vias metabólicas de ATP e composição de membranas celulares (Torres-Novoa et al., 2012; Ng e Romano, 2013; Yao et al., 2014). Do total de fósforo adicionado na dieta, somente 24% é aproveitado pelos peixes (Crab et al., 2007), por isso é potencial poluente quando usado excessivamente, pois combinado com o nitrogênio leva a eutrofização dos corpos d'água. Os peixes apresentam capacidade de absorver fósforo da água, mas sua disponibilidade é relativamente baixa (Furuya et al., 2008; Yao et al., 2014), por isso as dietas devem fornecer este mineral.

Segundo El-Sayed (2006), as tilápias requerem de 0,5 a 0,9% de fósforo disponível, valores similares ao encontrado por Furuya (2010) que recomenda de 0,46 a 0,75% de fósforo disponível. Ng e Romano (2013) recomendam 1,5 e 0,6% de fósforo total e disponível, respectivamente. A exigência de fósforo aumenta nas primeiras fases, devido às altas taxas de crescimento, uma vez que é utilizado para mineralização óssea.

Trabalhos corroboram com as recomendações anteriores. Ribeiro et al. (2006) utilizaram de 0,55 a 1,59% de fósforo total para juvenis de tilápia de 0,60g e verificaram efeito quadrático para conversão alimentar e a taxa de eficiência proteica, que resultou em nível de fósforo de 1,10% como ideal para essa fase de crescimento. Com peso próximo ao anterior, mas trabalhando com fósforo disponível, Furuya et al. (2008) verificaram efeito quadrático para os mesmos parâmetros e ganho de peso. O nível indicado de inclusão de 0,52% de fósforo resultou em melhor desempenho. Esse resultado coincide com o de Haylor et al. (1988) que recomenda 0,46% de fósforo disponível para um bom crescimento de tilápias

com 0,14-1,4g. Yao et al. (2014) utilizaram de 0,29-1,09% de fósforo disponível para tilápias de 46g e obtiveram 0,86% como nível adequado para um ótimo crescimento.

Existem alimentos ricos em fontes de fósforo como é o caso dos alimentos de origem animal. Suloma et al. (2013) utilizaram níveis crescente de farinha de carne e ossos como fonte suplementar de fósforo para tilápias de 1,53g (0,56; 0,67; 0,78% de P) e verificaram efeito linear para ganho de peso e retenção de fósforo, podendo ser utilizado em dietas a base de vegetal.

#### **2.4. Imobilização de nitrogênio inorgânico**

A eliminação natural de nitrogênio inorgânico em sistemas aquáticos pode ser feito por diferentes mecanismos: fotoautotrófico realizados por algas (Ebeling et al., 2006; Hargreaves, 2006, 2013; Avnimelech, 2009), autotrófico realizados por bactérias nitrificantes que oxidam o nitrogênio amoniacal em nitrito e nitrato (Avnimelech, 1999, 2009; Burford et al 2003; Ebeling et al., Hargreaves, 2006; Azim e Little, 2008; Avnimelech e Kochba, 2009; Hargreaves, 2013; Luo et al. 2014), mecanismo predominantemente utilizado em biofiltros de recirculação (Avnimelech, 1999; Ebeling, Hargreaves, 2006. Little et al., 2008) e por último, o heterotrófico realizado por bactérias que imobilizam o nitrogênio inorgânico para produzir suas proteínas celulares (Ebeling et al., 2006; Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2009; Avnimelech e Kochba, 2009). Estes mecanismos podem acontecer simultaneamente em um sistema (Avnimelech, 2009), sendo as condições ambientais e disponibilidade de substrato que irão determinar a prevalência de cada um deles.

A desnitrificação é fenômeno complementar da nitrificação, completando o ciclo do nitrogênio, onde o nitrato é transformado em gás nitrogênio, podendo ser autotrófico ou heterotrófico (Hargreaves, 2006). Luo et al. (2013) confirmaram a desnitrificação heterotrófica adicionando 0,5g de  $KNO_3$  e 10g de glicose a sistemas heterotrófico (BFT) e autotrófico (RAS), após 6 horas todo nitrato desapareceu em BFT enquanto que em RAS permaneceu estável.

O mecanismo fotoautotrófico é o mais produtivo em relação à biomassa, produz cerca de 96% a mais que o heterotrófico e 80 vezes mais que o autotrófico, além de produzir oxigênio (Ebeling et al., 2006) (tabela 1), é essencialmente dependente de fonte de luz, inviabilizando seu uso em dias nublados (Avnimelech, 1999), além disso, consome oxigênio

durante a noite, chegando a níveis extremos pela manhã (Burford et al., 2003; Avnimelech, 2009). Por isso, não se prioriza o seu aproveitamento em sistemas intensivos de produção.

As bactérias heterotróficas apresentam rápido crescimento com período de geração 24 vezes maior que as nitrificantes (Avnimelech, 2009) e são mais eficientes no processo de imobilização do nitrogênio na forma de amônia em relação às nitrificantes (Hargreaves, 2006; Crab et al., 2012, Luo et al., 2014). Luo et al. (2013) observaram que a resposta a um pico N-AT (amônia e amônio) para níveis não detectáveis foi de cinco dias a menos em um sistema heterotrófico comparando com um autotrófico. Segundo Ebeling et al. (2006), para cada um 1g de nitrogênio amoniacal o processo heterotrófico consome 13% mais oxigênio, 50% menos alcalinidade e produz 65% mais CO<sub>2</sub> que as nitrificantes e produz 40 vezes mais biomassa microbiana, como observado na tabela 1. Apesar de consumir mais oxigênio as heterotróficas são mais eficientes na sua utilização para produzir biomassa (Avnimelech, Ebeling et al. 2006). Para estimular o crescimento das heterotróficas é necessário adição de carbono orgânico uma vez que consome 6g de carbono orgânico para cada grama de N-AT.

**Tabela 1.** Metabolismo de diferentes sistemas (fotoautotrófico, autotrófico e heterotrófico) para imobilização de 1g de nitrogênio amoniacal.

Consumo	Sistemas		
	Fotoautotrófico	Autotrófico	Heterotrófico
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g)	1	1	1
CO <sub>2</sub> (g/g N)	18,07	-	-
Alcalinidade (g/g N)	3,13	7,05	3,57
O <sub>2</sub> (g/g N)	-	4,18	4,71
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> (g/g N)	-	-	15,17
<b>Produção</b>			
Biomassa (g/g N)	15,85	0,20	8,07
O <sub>2</sub> (g/g N)	15,14	-	-
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (g/g N)	-	0,976	-
CO <sub>2</sub> (g/g N)	-	5,85	9,65

Adaptado de Ebeling (2006)

Para comprovar a eficiência da utilização de carbono, Luo et al. (2013) adicionaram 0,5g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e 15g de glicose em dois sistemas: heterotrófico e autotrófico pré estabilizados, em 6 horas toda N-AT foi eliminado pelas heterotróficas, o mesmo não aconteceu com as nitrificantes no mesmo período. Avnimelech (1999) adicionou  $(\text{NH}_2)_4\text{SO}_4$  em um sistema heterotrófico para manter a concentração de N-AT em 10 mg/L, em seguida, adicionou 200 mg/L de glicose, e em cinco hora todo nitrogênio amoniacal havia desaparecido. Para cada 1g de carbono adicionado em sistema biofloco, obtém-se de 0,4 a 0,7g de biomassa microbiana seca (Ebeling et al. 2006; De Schryver et al., 2008; Megahed, 2010). Normalmente as bactérias heterotróficas apresentam de 40-60% de conversão de carbono em proteína microbiana (Avnimelech 1999, 2009). Segundo Hargreaves (2006), o crescimento das heterotróficas inibe as nitrificantes e o nível adequado de oxigênio é essencial para produtividade do sistema.

Uns dos problemas do metabolismo dos microrganismos é a redução da alcalinidade, diminuindo o poder tampão do sistema, gerando variação de pH devido a produção de  $\text{CO}_2$  pela respiração. A redução do pH, favorece o processo de nitrificação (Azim e Little, 2008). A alcalinidade recomendada é de 100-150 mg/L de  $\text{CaCO}_3$ , que pode ser corrigida com adição de corretivo e, no caso, de oxigênio através de aeração suplementar (Ebeling et al., 2006). Avnimelech (2009) recomenda que a alcalinidade para biofloco esteja acima de 50 mg/L de  $\text{CaCO}_3$ . Wang et al. (2015) verificaram redução da alcalinidade com o aumento de sólidos no sistema heterotrófico, ou seja, houve consumo de  $\text{CaCO}_3$ . Os parâmetros de qualidade de água devem ser ajustados rotineiramente uma vez que as bactérias heterotróficas são mais sensíveis a variações (Avnimelech, 2009), podendo ocorrer mudança de comunidade num espaço curto de tempo.

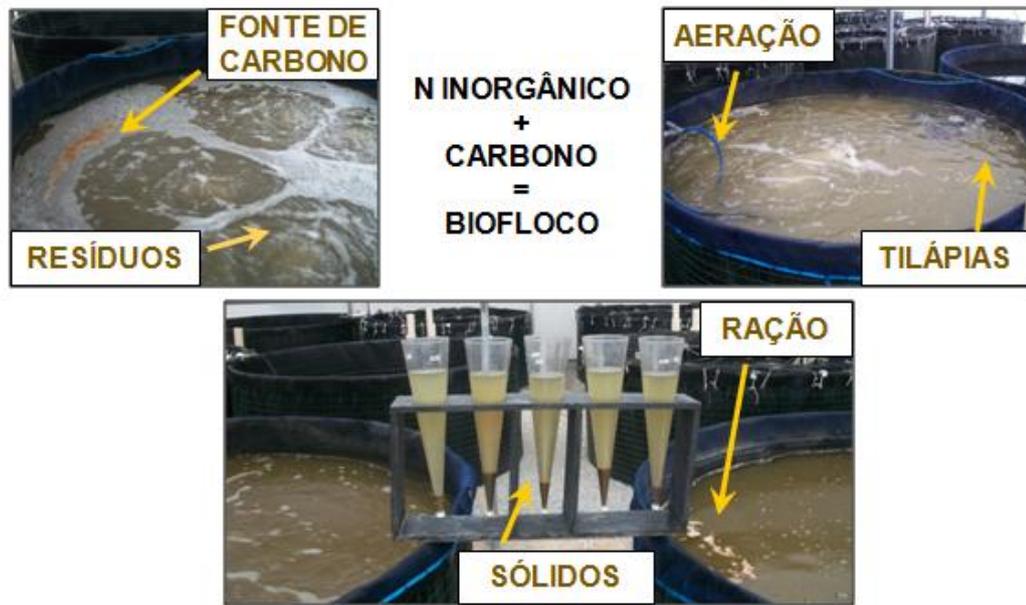
A ocorrência de picos de nitrito e nitrato no sistema são indícios de ocorrência de nitrificação (Ray, 2012). Luo et al. (2014) identificaram picos de nitrito e amônia no início do experimento, chegando a 60 e 119 mg/L para N-AT e  $\text{NO}_2^-$ , respectivamente. Provavelmente, devido a predominância das bactérias autotróficas no começo, ou a fonte de carbono não foi suficiente para manter a crescimento das heterotróficas. Luo et al. (2013) utilizando RAS e reator em batelada sequencial com biofloco observaram aumento acentuado de amônia com pico de 120 e 110 mg/L no sexto e oitavo dia para BFT e RAS, respectivamente. No biofloco, a redução para níveis não detectáveis foram observados cinco dias a menos.

## 2.5. Bioflocos

A má qualidade de água na aquicultura geralmente resulta em baixo desempenho e a exposição a patógenos aos animais cultivados (Francis-Floyd, 1990; Burford et al., 2003; Hargreaves, 2006, 2013). A amônia excretada pelas brânquias é o principal elemento tóxico na aquicultura (Francis-Floyd, 1990; Avnimelech, Ebeling et al., Hargreaves, 2006). Um dos mecanismos para melhorar a qualidade de água é através sucessivas trocas de água (Avnimelech, 1999, 2009). Os sistemas de troca de água geram gastos operacionais com bombeamento e tratamento através de filtragem mecânica e biofiltros (Avnimelech, 1999, 2006; Hargreaves, 2006; Megahed, 2010; Ray, 2012). Segundo Avnimelech (2006), para produzir 1 kg de peixe gasta-se em média de 2-10m<sup>3</sup> de água, podendo chegar a 45m<sup>3</sup> (Avnimelech, 2008), dependendo do sistema de produção.

Na busca por sistemas de produção eficientes e sustentáveis, percebeu-se que microrganismos heterotróficos assimiladores de nitrogênio amoniacal poderiam ser utilizados na aquicultura (Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2007). A tecnologia de produção em bioflocos (BFT) surgiu como alternativa para o controle da qualidade de água, apresentando rápida expansão através do cultivo de camarão (Emerenciano et al., 2013), minimizando a entrada de patógenos no sistema, através da restrição de entrada de água no sistema de cultivo (Hargreaves, 2006, Avnimelech 2009; Emerenciano et al., 2013; Luis-Villaseñor et al., 2015).

O BFT baseia-se na retenção de resíduos de fezes e sobras de ração, com agitação e aeração constante para manter os sólidos em suspensão e oxigenação adequada (Avnimelech, 1999, 2006; Azim e Little, 2008; Hargreaves, 2013; Liu et al., 2014) (figura 1). Apresenta mínima ou nenhuma troca de água (Crab et al., 2009; 2012; Xu e Pan, 2012). Uma baixa movimentação pode levar ao acúmulo de matéria orgânica em partes do sistema produzindo comunidade anaeróbica que produzem metabólitos como amônia e sulfetos tóxicos para os animais (Avnimelech e Ritvo, 2003; Ray, 2012). Neste sistema, microrganismos preferencialmente aeróbicos e heterotróficos, através de uma relação C:N maior que 6 (Avnimelech, 1999, 2006; Azim et al., 2008), utilizam como substrato o carbono orgânico como fonte de energia para imobilizar o nitrogênio inorgânico na forma de amônia, que é tóxica para os peixes, para produzir suas proteínas celulares (Avnimelech, 1999, 2006, 2007; Azim e Little, 2008; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2012; Liu et al., 2014).



**Figura 1.** Ilustração de um sistema bioflocos.

Os flocos microbianos são formados por um agregado de organismos e matéria orgânica (Avnimelech, 1999, 2006, 2009; Hargreaves, 2006; Azim et al., 2008; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2009; Emerenciano et al., 2012; Wang et al., 2015) incluindo bactérias, protozoários, nematóides, rotíferos, oligochaeta, algas e partículas orgânicas. A união deste complexo heterogêneo ocorre por forças intermoleculares (De Schryver et al., 2008; Avnimelech, 2009) e polímeros extracelulares produzidos pelos microrganismos (Avnimelech, 2009; Crab et al., 2012; Supono et al. 2013). Os flocos formados podem apresentar formas variadas, com tamanho médio entre 50 a 200  $\mu\text{m}$  (Azim e Little, 2008; Hargreaves, 2013), podendo atingir mais de 1000  $\mu\text{m}$  (De Schryver et al., 2008). Os microrganismos tendem a interagir entre si aumentando a produtividade do sistema (Azim e Little 2008; Avnimelech, 2009). Uma das características dos flocos é a presença de porosidade, provavelmente ligado à passagem de nutrientes, oxigenação e eliminação de metabólitos, além disso, a baixa densidade permite manter em suspensão através da movimentação do sistema (Crab et al., 2007; De Schryver et al., 2008; Avnimelech, 2009). Os protozoários são o grupo mais abundante de zooplâncton em bioflocos, compondo de 30 a 33% (Widanarni et al., 2012). Azim e Little (2008) encontraram maiores quantidades de zooplâncton quando utilizaram dieta com baixa proteína, provavelmente devido à oferta de alimento, uma vez que predam bactérias (Ray et al. 2010a). Como mecanismo de defesa as bactérias tendem-se agrupar formando colônias (De Schryver et al., 2008; Avnimelech, 2009).

Neste sistema, existe uma constante renovação e degradação dos flocos (Avnimelech, 2007). Estima-se que essa renovação ocorra até três vezes por dia, podendo ser controlada com a adição de alguma fonte de carbono (Avnimelech e Kochba, 2009; Hargreaves, 2006), além de condições ideais de movimentação do floco, e qualidade de água (De Schryver et al., 2008).

Um das dificuldades encontrada no sistema biofloco são variações de parâmetros de qualidade de água: pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido, temperatura (Hargreaves, 2006, Crab et al., 2012). Por isso, para um bom funcionamento é necessário monitorá-los constantemente (Azim e Little, 2008). Segundo Crab et al. (2012), a formação inicial de uma comunidade em biofloco pode demorar por volta de quatro semanas ou pode ser feita através de incorporação de outra comunidade estabelecida.

A proteína microbiana pode ser utilizada na alimentação de espécies de peixes filtradores como a tilápia (Avnimelech, 1989, 2003, 2009; Ebeling et al., 2006; Azim e Little, 2008; Crab et al., 2012; Emerenciano, 2013; Hargreaves, 2013; Luo et al., 2014), carpa (Hargreaves, 2013; Wang et al., 2015), camarão (Avnimelech, 1999, 2006; Ebeling et al., 2006, Avnimelech e Kochba, 2009; Emerenciano et al., 2013; Hargreaves, 2013; Ekasari et al., 2014), bagre (Poli et al., 2015) e mexilhão (Ekasari et al., 2014). Preferencialmente espécies que tenham habilidade em lidar com grandes quantidades de sólidos suspensos gerados pela falta de renovação de água e variações de parâmetros de qualidade de água (pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido) (Avnimelech, Hargreaves, 2006; Crab et al., 2012). A capacidade de filtração de floco vai depender de tamanho, idade, densidade de estocagem do peixe e a disponibilidade de biomassa (Avnimelech, 1999; Avnimelech e Kochba, 2009).

### **2.5.1. Sólidos**

A falta de troca de água e o crescimento microbiano associado à disponibilidade de substrato contribuem para o aumento de sólidos no BFT (Azim e Little, 2008; Luo et al., 2014). Sistemas intensivos com grandes ofertas de alimentação e adição de fontes de carbono elevam rapidamente a concentração de partículas no sistema (Ray, 2012). Por isso, o monitoramento e intervenção são essenciais, pois o aumento dos sólidos pode estar relacionado com baixa qualidade de água e entupimento de brânquias (Long et al., 2015). Luo et al. (2014) intervinham no sistema quando os sólidos passavam de 500 mg/L. O controle pode ser feito

através de drenagem mínima (Avnimelech, 2006, 2009), remoção de partículas através da sedimentação e câmaras de decantação externa (Ray et al, 2010b; Ray, 2012). Contudo, o descarte de água residual é uma preocupação para qualquer sistema de produção, no sistema biofoco não é diferente. Ray et al. (2010b) relataram a necessidade de desenvolver mecanismos para tratamento e reutilização de material dos resíduos do BFT, uma vez que o sistema apresenta água salinizada e excesso de sólidos potenciais poluentes.

Uma das consequências do aumento dos sólidos é o aumento do consumo de oxigênio devido ao aumento do metabolismo microbiano (De Schryver e Verstraete, 2009; Ray et al., 2010b; Hargreaves, 2013; Luo et al., 2014). Um dos fatores que interfere na ingestão de alimentos é a disponibilidade de oxigênio, sendo que a capacidade de captação de oxigênio tende a diminuir com o tamanho do peixe devido ao aumento da relação área corporal/área da brânquias. Tran-Duy et al. (2008) avaliaram dois tamanhos de peixes 21 g e 147 g tilapia do Nilo em RAS e dois níveis de oxigênio dissolvido (3.0 mg/L e 5.6 mg/L) e verificaram que a taxa mais alta de oxigênio promoveu significativamente maior crescimento e consumo de ração. E ainda que os peixes menores apresentaram melhor desempenho proporcional, independentemente do nível de oxigênio.

O monitoramento da concentração de sólidos pode ser feito através de cones Imhoff, que mede a concentração de sólidos sedimentáveis (SS) em um litro (mL/L) (Hargreaves, 2013), este método é rápido e barato, sendo o mais utilizado. Suas desvantagens são as variações de densidade do floco, que influencia a sedimentação, gerando resultados imprecisos. Outro método é conhecido como sólidos suspensos totais (SST), feito através de filtração e secagem de uma amostra de água de BFT, que resulta em quantidade de sólidos em matéria seca por litro de floco (mg/L). Apesar de mais preciso, sua desvantagem é o alto custo dos filtros e a demora dos resultados (Ray et al. 2012). A avaliação de turbidez feita através de turbidímetro pode ser utilizada para estimar quantidade de sólidos no sistema. É um método rápido, mas suas desvantagens devem-se ao custo do aparelho e a variação de coloração do floco que pode prejudicar o resultados (Ray, 2012). Schweitzer et al. (2013) encontraram correlação alta entre SST x SS, SST x TURBIDEZ, TURBIDEZ x SS de forma geral, mas analisando diferentes concentrações (200, 400-600 e 800-1000 mg/L) a mais representativa foi TURBIDEZ x SST, as outras apresentaram grandes oscilações com o aumento da concentração de floco, provavelmente devido as variações de densidade e concentração do mesmo. Hargreaves (2013) recomenda que os SST não ultrapasse 1000 mg/L, e para um bom funcionamento do sistema, esteja abaixo de 500 mg/L. Com relação ao

SS que esteja entre 25-50 mL/L para tilápias e 10-15 mL/L para camarão. Resultados similares ao de Avnimelech (2009) que recomenda de 50-300 mg/L e 2-40 mL/L para camarão e até 1000 mg/L e 100 mL/L para peixes (SST e SS respectivamente).

Poli et al. (2015) testaram diferentes concentrações de sólidos suspensos totais (200 mg/L, 400-600mg/L e 800-1000 mg/L) e verificaram melhor desempenho para larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) na concentração mais baixa, provavelmente devido a qualidade do floco que apresentou melhor valor nutricional. Schweitzer et al. (2013) usaram as mesmas condições para camarão do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) e encontraram resultados similares.

Azim et al. (2008) testaram duas dietas com 35 e 22 % de PB e verificaram maior produtividade do sistema quando usaram baixo nível de proteína, baseado na quantidade de sólidos suspensos voláteis (biomassa), enquanto que Xu et al. (2013) não observaram diferenças de concentração usando distintas dietas e relação C/N (35% e 25% de PB e (20/1 e 15/1), mas verificaram aumento significativo da quantidade de sólidos ao longo do tempo. Widanarni et al. (2012) utilizaram tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*) e verificaram que o aumento da densidade de estocagem direcionou para aumento dos sólidos, possivelmente devido a maior entrada de alimentos e produção de resíduos.

### **2.5.2. Fontes de carbono e relação C:N**

O sistema biofloco é dependente da relação C:N que pode ser aumentada através da adição de carbono ou redução de proteína das rações (Crab et al., 2009; Hargreaves, 2013). Diversas fontes de carbono podem ser utilizadas: arroz, acetato, dextrose, melão, glicose, sacarose, trigo, farinha de mandioca, amido de milho, dentre outras (Emerenciano et al., 2012). Deve-se optar preferencialmente por fontes eficientes, de baixo custo e de fácil disponibilidade (Azim et al., 2008; Asaduzzaman et al., 2009; Crab et al., 2010; Emerenciano et al., 2013; Hargreaves et al., 2013). Lorenzo et al. (2015) testaram melão e dextrose e verificaram que o melão foi mais eficiente no controle da amônia, provavelmente devido ao aproveitamento de minerais e aminoácidos que estimularam o crescimento das bactérias heterotróficas. Avnimelech (1999) verificou que a glicose e farinha de mandioca promoveram a redução de N-AT em cultura de camarão tigre gigante (*Penaeus monodon*). Schryver e Verstraete (2009) testaram glicerol e acetato como fonte de carbono. Esses autores

verificaram que a utilização de glicerol resultou em maior produção de biomassa (SSV), enquanto que o acetato contribuiu com maior concentração de polihidroxibutirato (PHB), polímero responsável por produção de substância curativa e preventiva contra organismos patogênicos (Defoirdt et al., 2007)

As fontes de carbono podem estar diretamente ligadas a qualidade do floco. Crab et al. (2010) utilizaram acetado, glicerol, glicerol+*Bacillus* e glicose em BFT com camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*) e obtiveram níveis elevados de proteína com glicerol inoculado com esporo do *Bacillus*, enquanto que a glicose, apesar de apresentar baixo teor de PB, teve elevado nível de lipídeos. Comparando com as outras fontes, o uso de glicerol+*Bacillus* e glicose resultaram em maior sobrevivência, podendo ser utilizados em sistemas heterotróficos.

Várias combinações C:N tem sido propostas. Segundo Ebeling et al. (2006) para mobilizar 1g de N-AT gasta-se 6g de carbono, ou seja, sistemas heterotróficos exigem no mínimo relação C:N de 6:1. Avnimelech e Kochba (2009) recomendam relação C:N maior que 15, enquanto que Hargreaves (2006), Luo et al. (2014) e Péres-Fuentes et al. (2016) recomendam 10 como relação mínima. O aumento da concentração do nitrogênio amoniacal é indício de baixa relação C:N. Segundo Crab et al. (2012) para manter uma relação 10:1 de um peixe consumindo 2% de ração em relação ao peso corporal com 25% de proteína, necessitará de 6g de C/Kg peixe/dia.

O aumento da relação C:N promove aumento da produtividade do sistema. Contudo, deve-se ter cautela no incremento, uma vez que pode gerar crescimento acelerado de sólidos, gerando a necessidade de intervenção no sistema. Azim et al. (2008) utilizando 35% e 22% de PB encontraram relação C:N de 8,4:1 e 11,6:1, respectivamente, em biofloco, a maior relação resultou em maior produção de biomassa. Asaduzzaman et al. (2010) verificaram que a elevação da relação C:N promoveu aumento significativo de bactérias heterotróficas resultando em maior disponibilidade de alimento para camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*). Supono et al. (2013) encontraram melhor relação C:N de 20:1 resultando em flocos com maior quantidade de polihidroxibutirato (PHB), que é utilizado pelos peixes em momento de escassez de nutrientes (Defoirdt et al., 2007). De Schryver e Verstraete (2009) também encontraram maior conteúdo de PHB com o aumento da relação C:N.

O aumento da relação C:N pode está relacionado a redução de metabólitos nitrogenados tóxicos como observado por Crab et al. (2009), que utilizaram híbridos de tilápia

(*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) em BFT com temperaturas médias de 14°C com duas dietas de 23 e 30% de PB com relação C:N de 14:1 e 10,8:1, respectivamente, e com adição de amido para chegar a 20:1. O nitrito e N-AT foram mais altos sem a presença de amido, ou seja, o aumento de disponibilidade de carbono promoveu melhor qualidade de água. Da mesma forma, De Schryver e Verstraete (2009) utilizaram glicerol e acetato como fonte de carbono e a relação 10 e 15:1 mostraram que essas fontes de carbono foram eficientes na remoção de nitrogênio do sistema.

Wang et al. (2015) utilizaram diferentes relações C:N em bioflocos para carpa pimplão (*Carassius auratus*) e verificaram que a relação 20:1 e 25:1 foram adequadas para BFT, uma vez que os peixes apresentaram melhor desempenho.

### **2.5.3. Desempenho em bioflocos**

A filtração de floco é fonte adicional da nutrição. A melhoria da conversão alimentar é uma das expectativas do cultivo em bioflocos (Avnimelech et al., 1989). Segundo Luo et al. (2014), os flocos microbianos promovem redução da conversão alimentar. Desse modo, esses autores obtiveram conversão alimentar de 1,47 em sistema de recirculação de água (RAS) e 1,20 em bioflocos, o que refletiu em um aumento de 22% no peso final das tilápias do Nilo. Azim e Little (2008) utilizando dietas com proteína bruta de 24% (BFT), 35% (BFT) e 35% (RAS) obtiveram redução significativa da conversão alimentar de 13,35% e 11,58%, para dietas de menor e maior proteína em bioflocos respectivamente, em relação ao RAS.

Na tentativa de otimizar o aproveitamento do floco, tem-se tentado reduzir o nível de proteínas nas dietas de tilápias, mas percebe-se uma grande variação nos níveis de PB nas rações de tilápia em vários trabalhos feitos em BFT (tabela 2). Sendo que até o momento não existe uma recomendação de proteína indicada para este sistema. Avnimelech et al. (1989) testaram três dietas: (30% de PB), (10% de PB) e (10% de PB com  $(\text{NH}_2)_4\text{SO}_4$  e celulose) para *Oreochromis aureus*. A dieta com maior proteína obteve melhor crescimento, mas observaram que o crescimento da dieta com 10% de PB com suplementação foi quase três vezes a 10% de PB. Esses autores verificaram semelhança de razão isotópica de  $^{13}\text{C}$  entre celulose e o tecido do peixe, ou seja, as bactérias imobilizaram o nitrogênio do sulfato de amônio utilizando como fonte de energia o carbono da celulose para produzir suas proteínas, que serviram de fonte de alimento para os peixes.

**Tabela 2.** Níveis de proteína bruta utilizados para tilápia em biofoco.

<b>Peso inicial</b>	<b>% PB</b>	<b>Referências</b>
23mg	40	Ekasari et al., 2015
10g	40	Ekasari et al., 2014
24g	44	Luo et al., 2014
38g	45-30	Pérez-Fuentes et al., 2016
50g	46	Long et al., 2015
78g	32	Widanarni et al., 2012
50-100g	23-30	Crab et al., 2009
99g	24-35	Azim e Little, 2008
100g	22-35	Azim et al., 2008

Avnimelech et al (1994) citado por Avnimelech et al. (1999) testaram duas dietas (30% de PB) e (20% de PB com adição de fonte de carbono) para tilápias de 112g e 205g e encontraram melhor desempenho para ganho de peso para o tratamento com 20% de PB, provavelmente devido ao crescimento microbiano que serviu de alimento para os peixes. O menor teor de PB nas rações promoveu uma economia de 45% e 56% no custo de alimentação para peixes de 112g e 205g respectivamente. Este dois trabalhos mostraram que pode-se reduzir o nível de proteína nas dietas desde que suplemente o sistema com alguma fonte de carbono para promover aumento de biomassa microbiana.

Cultivo de camarão em biofoco tem apresentado resultados otimistas de redução de proteína nas dietas. Megahed (2010) trabalhando com camarão tigre verde (*Penaeus Semisulcatus*) e Xu et al. (2012) com camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) testaram diferentes níveis de PB em BFT e mostraram que é possível reduzir a PB em 68% e 40%, respectivamente, sem perda de desempenho. Xu et al. (2012) ainda verificaram que a atividade das proteases digestivas em biofoco é maior que em água clara, ou seja, o floco estimula a produção enzimática.

O melhor desempenho em BFT tem sido comprovado quando comprovado com sistemas de troca diária de água (Megahed, 2010; Xu et al., 2012; Xu e Pan, 2013). Emerenciano et al. (2012) utilizaram pós larvas de camarão rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*) em biofoco com e sem alimentação e água clara (controle). Com exceção de comprimento final e sobrevivência, os animais criados em biofoco apresentaram melhor

desempenho independente de alimentação adicional. Luis-Villaseñor et al. (2015) compararam água clara e bioflocos com camarão do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) e encontraram melhor desempenho e menores concentrações de amônia, nitrito e fósforo em bioflocos. No caso do fósforo, provavelmente ocorreu reciclagem desse nutriente devido o crescimento bacteriano, sendo posteriormente incorporados pelos camarões. Luo et al. (2014) também verificaram reciclagem de fósforo em BFT. A concentração ao final do experimento foi 11 vezes menor em bioflocos.

A utilização do flocos como ingrediente da dieta foi testada por Wang et al. (2015) com carpa pimplão (*Carassius carassius*). Foram utilizados adição 0-20% de inclusão na ração, e verificaram que 10% foi suficiente para melhor peso final, ganho de peso e conversão alimentar. Entretanto, os custos de obtenção do flocos seco, inviabilizam sua utilização em sistema de produção (Avnimelech, 1999).

#### **2.5.4. Aproveitamento do flocos**

A quantificação de filtração de bioflocos tem sido investigada. A existência de poucos trabalhos deve-se a dificuldade de estimar filtração de partículas em um sistema dinâmico, uma vez que a renovação e degradação dos flocos é constante (Avnimelech e Kochba, 2009). Avnimelech (2007) avaliou a captação de flocos ao longo do tempo baseando-se no volume de sólidos em suspensão totais (SST). Esse autor verificou que a tilápia de Moçambique é capaz de filtrar diariamente 10,28g de matéria seca em suspensão. Neste mesmo trabalho, usando isótopo estável  $^{15}\text{N}$ , a taxa de absorção diária em matéria seca de flocos para tilápia foi de 6,2 g/kg de peixe, que corresponde a cerca de 1,6g de proteína por kg de peixe. Segundo este mesmo autor o aproveitamento do flocos corresponde a 50% da alimentação diária. Nesta mesma linha de trabalho, Avnimelech e Kochba (2009) utilizaram tilápias em BFT com 200 mg/L de SST e avaliaram assimilação de flocos através de  $^{15}\text{N}$ . Os autores estimaram uma absorção diária de 1,56g proteína por Kg de peixe, que corresponde ao aproveitamento a 25% de PB de uma ração com 30% de PB. A avaliação de filtração de flocos também foi realizada com camarão do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) de 1 a 9g com base na retenção de nitrogênio utilizando isótopo estável  $^{15}\text{N}$ . Foi estimado uma retenção de 18-28% de N do flocos (Burford et al., 2004).

Ekasari et al. (2014) avaliaram quatro categorias de tamanho de flocos: não peneirados, menores que 48  $\mu\text{m}$  (48,8%), entre 48-100  $\mu\text{m}$  (26%) e maiores que 100  $\mu\text{m}$  (29,2%). O consumo de floco variou de 39 a 117g de SST/Kg peixe independente do tamanho do floco. Eles observaram que flocos maiores que 100  $\mu\text{m}$  apresentaram maiores concentrações de proteína e lipídeos. O conteúdo proteico aumentou de acordo com o tamanho da partícula do floco. Flocos menores que 48  $\mu\text{m}$  apresentaram mais aminoácidos essenciais e melhor recuperação de N que flocos maiores, possivelmente devido sua melhor digestibilidade e facilidade de ingestão. Esses autores concluíram que os flocos menores que 48  $\mu\text{m}$  e maiores que 100  $\mu\text{m}$  são adequados para tilápias. Estes trabalhos mostram que o floco pode ser fonte adicional proteína para organismos filtradores como a tilápia do Nilo e o tamanho do floco é um parâmetro de avaliação da qualidade do floco.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar o desempenho de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta no cultivo em sistema de bioflocos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Determinar o melhor nível de proteína bruta para juvenis de tilápia do Nilo de em duas fases de crescimento, cultivadas em sistema de bioflocos;
- Avaliar a possibilidade de redução do teor de proteína em dietas para tilápia do Nilo e seus efeitos sobre o desempenho zootécnico e a qualidade de água em sistema de bioflocos;
- Verificar a influência de dietas contendo diferentes relações energia bruta / proteína bruta sobre a composição corporal de tilápia em sistema de bioflocos.

- Avaliar a composição nutricional dos flocos formados sob diferentes níveis de proteína.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Experimento

Dois experimentos foram conduzidos na estufa agrícola do Laboratório de Aquicultura (LAQUA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais de abril a agosto de 2015 (figura 2). Foram utilizados 2480 juvenis masculinizados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) providas de, pelo menos, quarenta famílias geneticamente melhoradas.

O primeiro experimento foi realizado durante 61 dias em 20 tanques de 200 L com volume útil de 150 L com 60 juvenis de tilápias de  $9,94 \pm 0,08$ g de peso médio. Enquanto que o segundo foi realizado durante 98 dias em 20 tanques de 1000 L com volume útil de 800 L, com 64 juvenis de  $47,75 \pm 0,37$ g de peso médio.

### 4.2. Dietas

As rações foram processadas na unidade de produção de dietas experimentais do LAQUA, sendo isoenergéticas, isofosfóricas, isocalcíticas. Os níveis de metionina e lisina foram ajustadas de acordo com os níveis de proteína. As formulações estão apresentadas na tabela 3. Os ingredientes para cada ração foram peneirados, misturados, extrusados e embalados e, posteriormente estocados a temperatura ambiente sobre *pallets* de madeira. Para o primeiro experimento, foi utilizados *pellets* de aproximadamente 2 mm e o segundo de 4 mm. As rações foram ofertadas três vezes ao dia (08h00, 12h00 e 15h30min.) até a saciedade aparente, sendo ajustada diariamente através da quantidade de sobras.

**Tabela 3.** Fórmula e composição proximal das dietas experimentais.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>Níveis de Proteína</b>				
	<b>17%</b>	<b>21%</b>	<b>25%</b>	<b>29%</b>	<b>33%</b>
Farelo de Soja	11,73	22,34	32,95	43,55	54,16
Milho Grão	51,01	39,34	27,67	15,99	4,32
Farinha de Vísceras	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Quirera de Arroz	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Inerte	4,17	5,63	7,09	8,54	10,00
Calcário	4,70	4,65	4,61	4,57	4,53
Fosfato Bicálcio	4,83	4,77	4,71	4,65	4,59
Celulose	1,60	1,20	0,80	0,40	0,00
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
L-Lisina	0,80	0,85	0,90	0,95	1,00
DL-Metionina	0,17	0,23	0,29	0,35	0,41
Vitamina C	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>Composição</b>					
Proteína Bruta (%)	17,00	21,00	25,00	29,00	33,00
Energia Bruta (Kcal)	3300,00	3300,00	3300,00	3300,00	3300,00
Extrato Etéreo (%)	2,16	2,13	2,10	2,07	2,05
Fibra (%)	3,47	3,47	3,47	3,47	3,48
Vitamina C (mg/Kg)	450,00	450,00	450,00	450,00	450,00
Cálcio (%)	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Fósforo Disg. (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
Fósforo Total (%)	1,36	1,38	1,41	1,43	1,45
Amido (%)	40,66	34,82	28,98	23,14	17,30
Lisina (%)	1,46	1,81	2,15	2,49	2,84
Arginina (%)	1,05	1,36	1,66	1,97	2,28
Metionina (%)	0,41	0,51	0,61	0,70	0,80
Treonina (%)	0,60	0,74	0,89	1,03	1,18
Relação lis/arg	1,40	1,33	1,30	1,26	1,24
Relação EB/PB	19,41	15,71	13,20	11,38	10,00



**Figura 2.** Unidades experimentais alocadas em estufa agrícola do LAQUA.

#### **4.4. Qualidade de água**

A água utilizada nos experimentos foi obtida de um sistema de cultivo de tilápias em sistema de bioflocos previamente já estabelecido. Os parâmetros (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e salinidade) foram monitorados diariamente (manhã e tarde) através de sonda multiparâmetros YSI.

Os tanques contaram com aeração suplementar constante com sopradores e difusores de ar. Para evitar variações bruscas de temperatura no primeiro experimento foram utilizados aquecedores elétricos com termostatos nos tanques de 200 L para manter a temperatura em torno de 28°C. Quando o pH estava abaixo de 6,5.O foi corrigido diariamente com adição de 5g e 15g de cal hidratada ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) para o primeiro e segundo experimento, respectivamente. A salinidade foi mantida com sal comum (2g/L de água).

As análises de amônia e nitrito foram realizadas duas vezes por semana através das metodologias preconizadas por UNESCO (1983) e de Bendschneider e Robinson (1952), respectivamente, utilizando espectrofotometria. Quando a concentração de nitrogênio amoniacal total (N-AT) atingia concentrações superiores a 1 mg/L, era adicionado melão

como fonte de carbono, 6g de carbono para cada 1g N-AT (Ebeling, 2006) na parte da manhã depois da alimentação, de acordo com a fórmula abaixo:

$$T = V \times \left( \frac{N - AT}{1000} \right) \times \left( \frac{C : N}{\%C} \right)$$

T = Total de fonte de carbono adicionado no tanque (g)

V = Volume do tanque (L)

N-AT = Nitrogênio amoniacal (mg/L)

C:N = Relação carbono:nitrogênio (6:1)

%C = Porcentagem de carbono no fertilizante (fração centesimal)

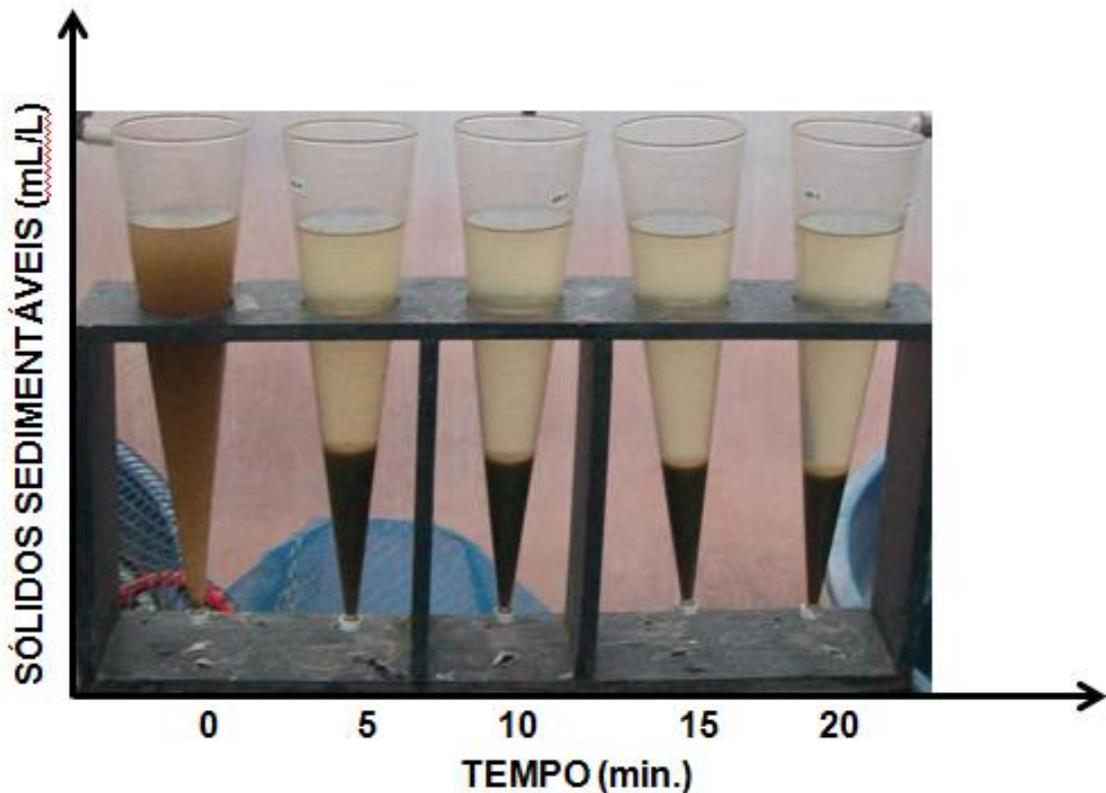
O nitrito foi controlado através da manutenção da salinidade nos tanques. O teor de fósforo foi avaliado uma vez por semana através de espectrofotometria segundo metodologia proposta por Aminot e Chaussepied (1983). A alcalinidade foi analisada através de titulação ácido-base segundo metodologia proposta por APHA (1998), realizada uma vez por semana.

Para controlar o excesso de sólidos em suspensão no sistema, eram realizadas duas drenagens por semana (17,5% por drenagem de cada tanque), com intervalo de pelo menos três dias entre cada uma. Desta forma, adotou-se uma renovação de água equivalente a 5% por dia.

#### **4.5. Quantidade de sólidos no sistema**

A quantidade de sólidos sedimentáveis do sistema foi medida duas vezes por semana através de cones ImHoff de um litro. A leitura do conteúdo de floco no cone era em ml/L, realizada após 20 minutos de coleta de água, método adaptado de Avnimelech (2007), Crab et al. (2009) e Avnimelech (2009). A figura 3 mostra que 15-20 minutos foi suficiente para estabilização do volume de sólidos para fazer a leitura. Para obter medidas de sólidos suspensos totais, foram coletados 50 mL de água de cada unidade experimental uma vez por semana para filtração a vácuo em filtros de fibra de vidro GF 50-A previamente secos (Azim

e Little, 2008), em seguida, foram novamente secos em estufa a 105°C e pesados em balança de precisão de 0,01mg para quantificação do material retido.



**Figura 3.** Tempo de estabilização de sólidos sedimentáveis.

#### 4.6. Avaliação de desempenho

A cada três semanas de experimento foram realizadas biometrias, com objetivo de monitorar o sistema e obter dados de desempenho. Ao final do experimento foram avaliados:

- 1 - Peso médio final (g);
- 2 - Ganho de peso médio diário ( $\text{g dia}^{-1}$ ) =  $[(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{tempo}]$ ;
- 3 - Conversão alimentar aparente =  $(\text{consumo de alimento} / \text{ganho de peso total})$ ;
- 4 - Índice de consumo ( $\% \text{ peso vivo dia}^{-1}$ ) =  $[(\text{consumo médio dia} \times 100) / \text{peso vivo médio}]$ ;
- 5 - Taxa de eficiência proteica =  $(\text{ganho de peso} / \text{ingestão de proteína})$ ;
- 7 - Taxa de crescimento específico ( $\% \text{ dia}^{-1}$ ) =  $[(\ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial}) / \text{tempo}] \times 100$ ;
- 8 - Densidade de estocagem ( $\text{Kg/m}^3$ ) =  $[\text{biomassa final} / \text{volume do tanque}]$ ;
- 9 - Sobrevivência final ( $\%$ ) =  $(\text{número final} - \text{número inicial}) \times 100$ .

#### **4.7. Composição corporal**

Animais dos dois experimentos foram coletados, sacrificados por choque térmico em gelo fundente e armazenados em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, duas amostras de peixe de cada unidade experimental foram autoclavadas a temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$  sob pressão de  $1\text{ kgf/cm}^3$  por 20 min., homogeneizadas em processador, congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e liofilizadas a  $-40^{\circ}\text{C}$  até a redução da umidade para análises bromatológicas, de acordo com as metodologias propostas pela AOAC (2005). Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (LANA). A matéria seca foi feita em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  por 4 horas. A proteína bruta foi quantificada pelo método de Kjeldahl e multiplicando por 6,25. O extrato etéreo foi feito através de extração durante 8 horas com éter de petróleo utilizando o aparelho de Soxhlet. A energia bruta foi estimada através de queima em bomba calorimétrica. As cinzas foram obtidas através da queima das amostras em forno de mufla a  $600^{\circ}\text{C}$  durante 4 h e depois pesadas.

Vísceras, gordura e fígado das outras duas amostras de peixes de cada unidade experimental foram separadas e pesadas para o cálculo dos índices: víscero-somático (%) =  $[(\text{peso das vísceras}/\text{peso vivo}) \times 100]$ , gorduro-visceral (%) =  $[(\text{peso da gordura visceral} / \text{peso das vísceras}) \times 100]$  e hepato-somático (%) =  $[(\text{peso do fígado} / \text{peso vivo}) \times 100]$ .

#### **4.8. Valor nutricional do floco**

Ao final do experimento, foram coletadas amostras de floco por sedimentação de cada unidade experimental e armazenadas  $-18^{\circ}\text{C}$ , posteriormente, as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a  $55^{\circ}\text{C}$ , moídas em moinho com peneira de 1 mm para análises laboratoriais de composição nutricional (proteína bruta, energia bruta e cinzas).

#### **4.9. Delineamento experimental e análises estatísticas**

Para verificar o melhor nível de proteína bruta para desenvolvimento de juvenis de tilápia do Nilo no sistema de bioflocos foram testados cinco níveis de proteína bruta (17%, 21%, 25%, 29% e 33%) em duas fases de crescimento.

Os dois experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições, de acordo com o modelo abaixo.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

y = observação da proteína i na repetição j;

$\mu$  = média geral;

t = efeito do nível de proteína i;

e = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados obtidos foram tabelados e, após verificar-se o comportamento dos dados, estes foram submetidos ao software R para as devidas análises. Para as variáveis que passaram pelo teste de normalidade, foram feita análise de variância (ANOVA) e as médias submetidas à regressão com nível de significância mínima de 5%. As variáveis não paramétricas foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis, considerando um nível de significância de 5%.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. Qualidade de água**

De maneira geral os parâmetros de qualidade de água mantiveram-se próximos aos adequados para produção de tilápias, exceto em casos específicos discutidos a seguir.

Os resultados relacionados à qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, pH, nitrogênio amoniacal e nitrito) para duas fases de crescimento em biofloco estão apresentados na tabela 4.

**Tabela 4.** Qualidade de água em duas fases de cultivo de tilápia em biofoco submetidas a crescentes concentrações de PB.

PB	T (°C)		OD (mg/L)		PPT (g/L)		pH -		N-AT (mg/L)		NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>17%</b>	27,50	26,74	4,99	5,26	2,48	1,89	6,93	6,95	0,38	0,23	0,28	0,19
<b>21%</b>	27,49	26,84	4,91	5,05	2,52	1,92	6,75	6,85	0,20	0,21	0,38	0,19
<b>25%</b>	27,42	26,94	4,81	5,02	2,64	1,98	6,58	6,68	0,18	0,20	0,28	0,17
<b>29%</b>	27,43	26,92	4,76	4,82	2,83	2,10	6,44	6,47	0,20	0,29	0,64	0,17
<b>33%</b>	27,55	26,73	4,60	4,93	2,94	2,22	6,16	6,29	0,25	0,43	0,48	0,19
<b>CV</b>	0,98	1,19	5,43	4,87	8,42	7,44	4,25	3,86	41,86	43,64	71,26	15,10
<b>Regressão</b>	NS	NS	L*	L*	L***	L***	L***	L***	NS	L**	NS	NS
<b>R<sup>2</sup></b>	-	-	0,27	0,27	0,62	0,65	0,94	0,92	-	0,35	-	-
<b>OD</b>	<sup>1</sup> y = -0,0234x + 5,3944						<sup>2</sup> y = -0,0219x + 5,5644					
<b>PPT</b>	<sup>1</sup> y = 0,0305x + 1,9182						<sup>2</sup> y = 0,0209x + 1,4991					
<b>pH</b>	<sup>1</sup> y = -0,0466x + 7,7363						<sup>2</sup> y = -0,0424x + 7,7102					
<b>N-AT</b>	-						<sup>2</sup> y = 0,01200x - 0,0307					

L\* - regressão linear (p<0,05), L\*\* - regressão linear (p<0,01), L\*\*\* - regressão linear (p<0,001), NS – não significativo, T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido, PPT – salinidade, pH – potencial hidrogeniônico, N-AT - nitrogênio amoniacal total, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – nitrito, CV – coeficiente de variação, R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação, 1 e 2 – experimento.

A temperatura não diferiu entre os tratamentos, nos dois experimentos, variando de 22,31 a 32,03°C (média 27,48°C) no primeiro experimento e de 25,00 a 31,27°C (média 26,84°C) no segundo experimento. As temperaturas médias estão dentro do recomendado para tilápias de 25-30°C (El-Sayed, 2006; Azaza et al., 2008). A maior média de temperatura no primeiro experimento deve-se a utilização de aquecedores elétricos com termostatos. Esse recurso foi utilizado devido a menor coluna d'água dos tanques de 200 L, pois poderiam causar variações bruscas de temperatura ao longo do dia.

O oxigênio dissolvido em média diminuiu com o incremento de proteína na dieta (tabela 4). A concentração diária em média ficou acima de 4,60 nos dois experimentos. O

oxigênio é um dos parâmetros mais importante de qualidade de água na aquacultura (Francis-Floyd et al., 1990), sendo diretamente afetado pela aumento da temperatura e salinidade, pois resulta em diminuição de sua solubilidade na água (Boyd, 1998). Apesar das tilápias serem tolerantes a baixos níveis de oxigênio, não é recomendado que o mesmo fique abaixo de 3 mg/L (Ross, 2000). Péres-Fuentes et al. (2016) observaram baixos níveis de OD durante em seu trabalho em BFT com média geral de 3,28 mg/L, chegando a 1-1,5 mg/L com adição de fonte de carbono para a tilápia do Nilo com densidade de estocagem e categoria de peso similar ao segundo experimento. E como no presente trabalho o baixo OD pode está associado ao excesso de sólidos no sistema.

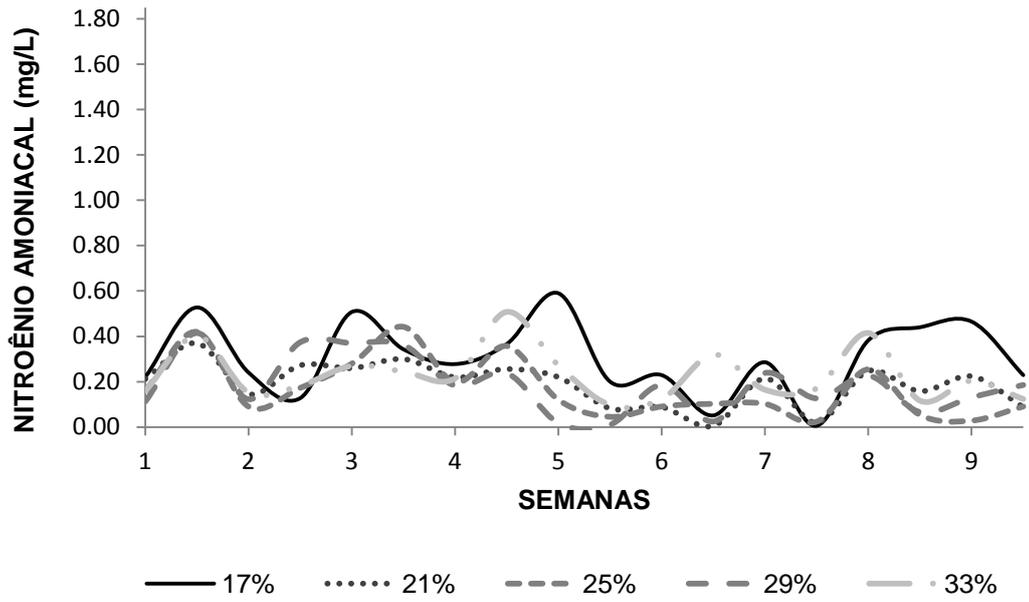
Com relação ao pH, as duas fases de crescimento, tiveram médias entre 6-7 e foram diretamente afetadas pelo aumento do teor de proteína na dieta como observado na tabela 4. Com variação de 4,50-7,53 e 4,48-8,75 para primeiro e segundo experimento respectivamente. Em geral o pH ficou acima de 6, valores alcançados com adição de cal hidratada  $\text{Ca(OH)}_2$  diariamente, quando a concentração era menor ou igual 6,5. Apesar de resistente a pH ácidos, a tilápia do Nilo reduz o crescimento em pH menor que 6. Sendo a faixa ótima considerada de 7-9 (Ross, 2000).

A alcalinidade diminuiu com o aumento de PB na dieta (tabela 4) e em média variou de 37,50-126,78 mg/L nos dois experimentos. Somente dois tratamentos (29% e 33% de PB ficaram com alcalinidade abaixo do mínimo recomendado para biofoco, de 50 mg/L de  $\text{CaCO}_3$  (Avnimelech, 2009). Este parâmetro é muito instável visto o alto coeficiente de variação encontrado nos dois experimentos, sendo que os dados variaram de 10-195 mg/L. Azim e Little (2008) relata o baixo poder tampão do sistema biofoco, devendo ser corrigindo constantemente para um bom funcionamento do sistema. O consumo de  $\text{CaCO}_3$  reduz o pH do sistema (Ebeling, 2006). O resultado deste trabalho foi contrário a Azim et al. (2008) que encontraram maior alcalinidade em dieta com maior proteína. A dieta com 35% de PB destes autores teve concentração de  $\text{CaCO}_3$  similar a 33% de PB deste trabalho, mas a dieta com 22% de PB de Azim et al. (2008) teve a metade da alcalinidade de 21% aqui encontrada. Esses resultados provavelmente devem-se as diferentes concentrações de sólidos no sistema, pois Azim et al. (2008) encontraram maior concentração de sólidos em menor teor de PB. Geralmente bactérias heterotróficas não conseguem remover todo N-AT somente com o carbono da ração, então as nitrificantes utilizam o carbono da alcalinidade para imobilizar o restante (Ebeling, 2006). Essa pode ter sido a consequência da queda da alcalinidade do sistema das duas fases de crescimento com o aumento da proteína das dietas.

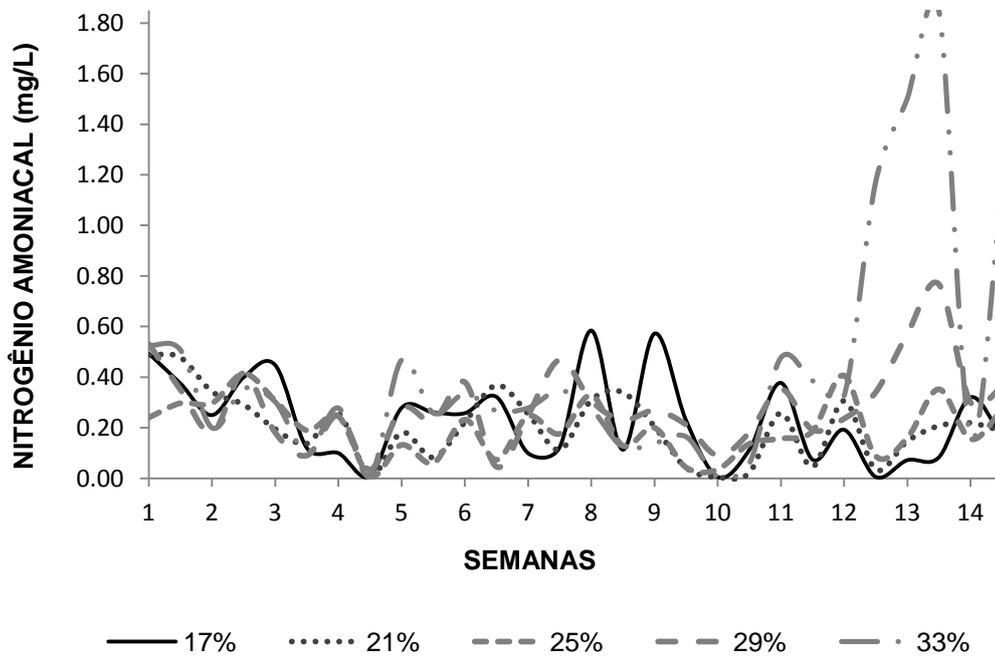
A concentração de nitrogênio amoniacal (N-AT) não foi afetada pelo aumento de PB na dieta no primeiro experimento, enquanto que no segundo houve aumento da concentração com o incremento do nível de proteína na dieta, como observado na tabela 4. Em geral, as médias dos tratamentos dos dois experimentos ficaram abaixo de 0,5 mg/L de N-AT. Sendo, que os níveis do primeiro experimento permaneceram estáveis durante todo período (figura 4), enquanto que no segundo experimento foi observado pico de N-AT nos tratamentos com 29% e 33% de PB (figura 5), e começaram após 83 dias de experimento, com densidade de estocagem média de 16 Kg/m<sup>3</sup> e 204g de peso médio e, aparentemente, não afetaram o desempenho dos peixes, pois a tendência para peso final se manteve similares ao da última amostragem, como apresentado na figura 8.

Considerando que as temperaturas médias nos dois experimentos ficaram em torno de 27 °C e o pH abaixo de 7. Utilizando a relação proposta por Emerson et al. (1975), a concentração de amônia tóxica (NH<sub>3</sub>) não passou de 0,012 mg/L. Segundo Sá (2012) para não causar prejuízos aos peixes, recomenda que o nível de NH<sub>3</sub> esteja abaixo de 0,05 mg/L. Neste contexto, é possível dizer que a NH<sub>3</sub>, não afetou o desempenhos dos animais cultivados, neste presente trabalho.

Quanto ao aumento da concentração de N-AT, provavelmente a suplementação de carbono não foi suficiente para assegurar a total imobilização de N-AT pelas bactérias heterotróficas nesses tratamentos. Avnimelech (1999) recomenda ajustar o nível de proteína da ração como forma de controlar o N-AT no sistema. A redução de PB das dietas promove aumento na relação C:N. Desta forma, é de se esperar menores níveis de metabólitos em menores níveis de PB, como observado por Xu et al. (2016) que relata que o aumento da C:N tende a reduzir N-AT e NO<sub>2</sub><sup>-</sup> do sistema. Os resultados encontrados neste trabalho são similares os de Azim e Little (2008) que encontraram maior concentração de amônia em dieta com alta proteína. Ebeling (2006) relata a necessidade de suplementação de fonte de carbono com o incremento de proteína na dieta. Segundo este mesmo autor, o aumento da densidade de estocagem também eleva a concentração de amônia. Neste contexto, Luo et al. (2014) trabalharam com densidade de estocagem final de 45 Kg/m<sup>3</sup> e peso final de 168g cultivados em biofoco, e observaram pico de N-AT na fase inicial de experimento. Isso ocorreu até que a comunidade heterotrófica fosse estabelecida. Contudo, esses autores observaram melhor desempenho em biofoco em relação a RAS.



**Figura 4.** Variação de nitrogênio amoniacal na produção de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema biofloc alimentadas com diferentes níveis de PB.

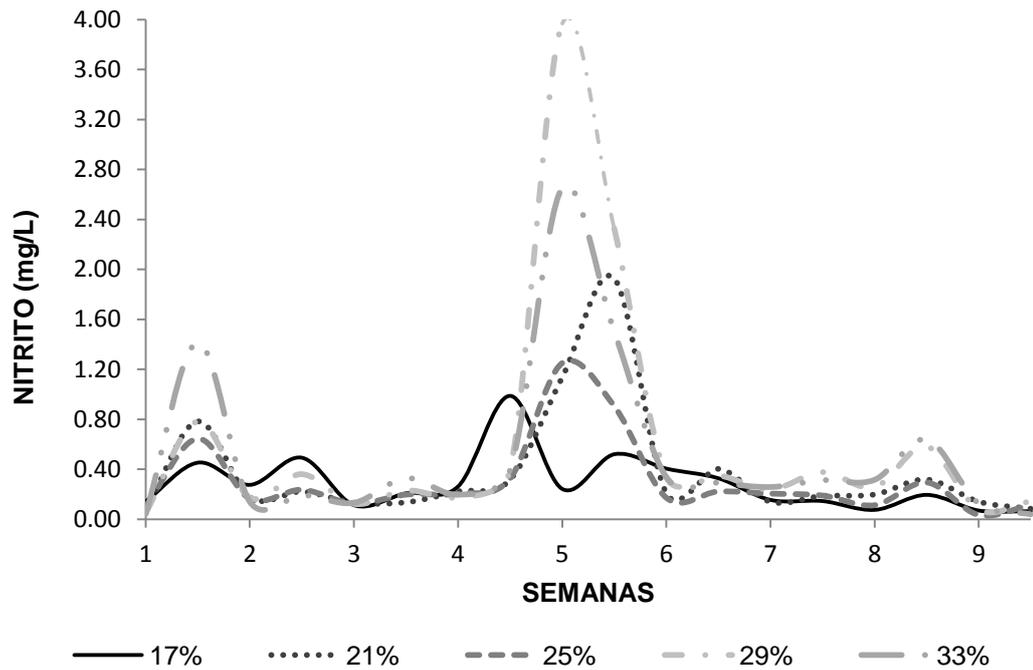


**Figura 5.** Variação de nitrogênio amoniacal na produção de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema biofloc alimentadas com diferentes níveis de PB.

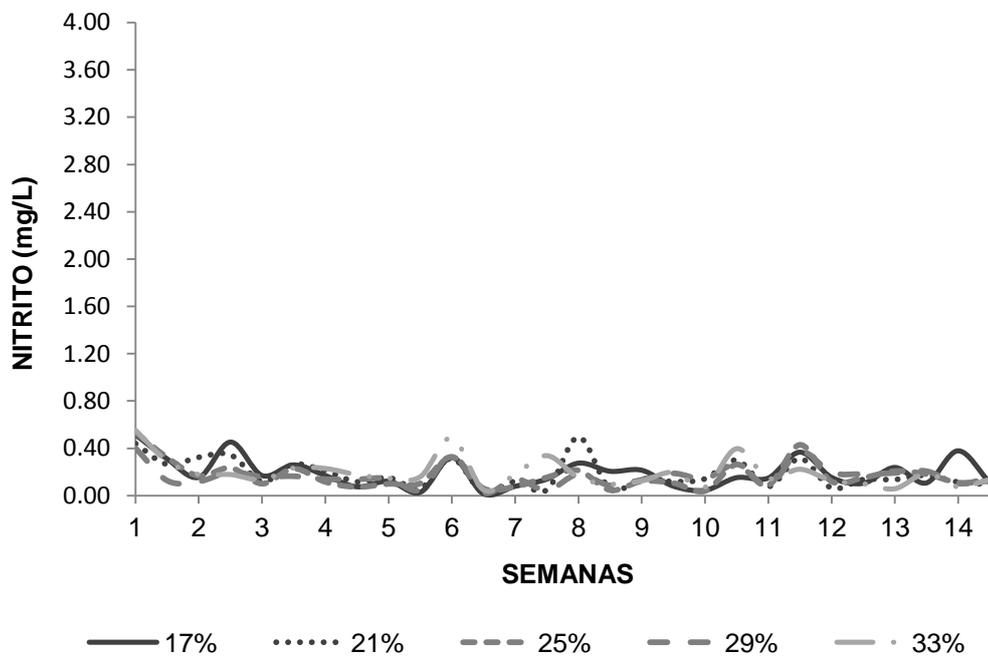
Ainda considerando os parâmetros de qualidade de água, as tilápias são tolerantes a águas salobras e desenvolvem-se normalmente até 15 ppt (El-Sayed 2006). Neste experimento o efeito linear da salinidade com o acréscimo de PB dietética não era esperado (tabela 4). Esse aumento provavelmente não influenciou nos resultados, pois a variação foi pequena. Corroborando com esta afirmação, Larumbe-Morán et al. (2010) utilizaram salinidades de 0 a 25 ppt e 20 a 50% de PB e não observaram influência do aumento da salinidade sobre a exigência proteica de larvas de tilápia do Nilo. Nesse trabalho o aumento da salinidade pode estar relacionado às diferenças de consumo entre os tratamentos, visto que todas as dietas continham 0,5% de cloreto de sódio, e houve aumento do consumo total com o incremento de PB na dieta. Outra possibilidade pode ter sido a adição de  $\text{Ca(OH)}_2$  que algum momento reagiu com ácido resultando em sal, vale ressaltar que neste experimento o aumento de PB resultou em decréscimo do pH. Consequentemente tratamentos com maior teor de PB receberam maior aplicação de  $\text{Ca(OH)}_2$ . Poli et al. (2015) relatam aumento de salinidade e condutividade no sistema provocado pela adição de bicarbonato de sódio utilizado como corretivo de pH e alcalinidade. E finalmente, o aumento de SST pode ter afetado a osmorregulação como relatado por Schweitzer et al. (2013). Resultando em maior salinidade no sistema.

Altas concentrações de nitrito na água prejudicam as trocas gasosas em peixes por converter a hemoglobina em meta-hemoglobina (Wuertz et al., 2013). Como os íons cloretos utilizam o mesmo mecanismo de entrada nas brânquias usado pelo  $\text{NO}_2^-$ , a salinização da água do sistema é uma forma preventiva de evitar a intoxicação dos animais cultivados (Avnilemech, 2009; Wuertz et al., 2013).

Neste presente trabalho, o nitrito não sofreu efeito significativo dos diferentes níveis de PB e, em média, manteve-se abaixo de 0,5 mg/L (tabela 4). As figuras 6 e 7 mostram o comportamento do  $\text{NO}_2^-$  ao longo dos dois experimentos, e foram diferentes dos resultados de Azim e Little (2008), que encontraram maiores concentrações de nitrito em dietas com alta proteína. Provavelmente houve uma predominância de bactérias heterotróficas nos dois experimento aqui apresentados.



**Figura 6.** Variação de nitrito na produção de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema biofoco alimentadas com diferentes níveis de PB.



**Figura 7.** Variação de nitrito na produção de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema biofoco alimentadas com diferentes níveis de PB.

Na quinta semana houve pico de nitrito em algumas unidades experimentais do primeiro experimento, como apresentado na figura 6, que resultaram em perdas de animais em duas unidades dos tratamentos com 21% e 25% de PB. Picos de amônia e nitrito são comuns em sistema biofoco (Liang et al., Luo et al. 2014; Long et al., 2015). Luo et al. (2014) verificaram elevados picos de N-AT e  $\text{NO}_2^-$ , mesmo assim o desempenho de tilápias do Nilo cultivadas em BFT foi melhor que RAS. Picos de nitrito são indícios de mudança na comunidade microbiana heterotrófica. Como as nitrificantes tem crescimento lento (Avnimelech, 2009), ocorre acúmulo de material tóxico no sistema até que uma nova comunidade fosse estabelecida. A sensibilidade de um sistema heterotrófico foi relatada por Avnimelech (2009).

Em relação a fósforo dissolvido ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), houve aumento com o incremento de proteína da dieta, como observado na tabela 5. Esse aumento poderia ser atribuído da fonte de carbono (melaço). Contudo, a adição de melaço ocorria somente quando o N-AT era maior ou igual a 1 mg/L. Entretanto, o primeiro experimento não recebeu adição de melaço, pois o N-AT permaneceu estável ( $< 1$  mg/L), como pode ser visto na tabela 4. No caso do segundo experimento, ocorreu aplicação de melaço apenas no tratamento com 33% de PB, a partir da 12<sup>a</sup> semana de cultivo. No entanto, houve aumento linear de  $\text{PO}_4^{3-}$  entre os tratamentos, ou seja, neste presente trabalho, poderia haver aumento de fósforo atribuído a fonte de carbono somente no tratamento com maior nível de PB.

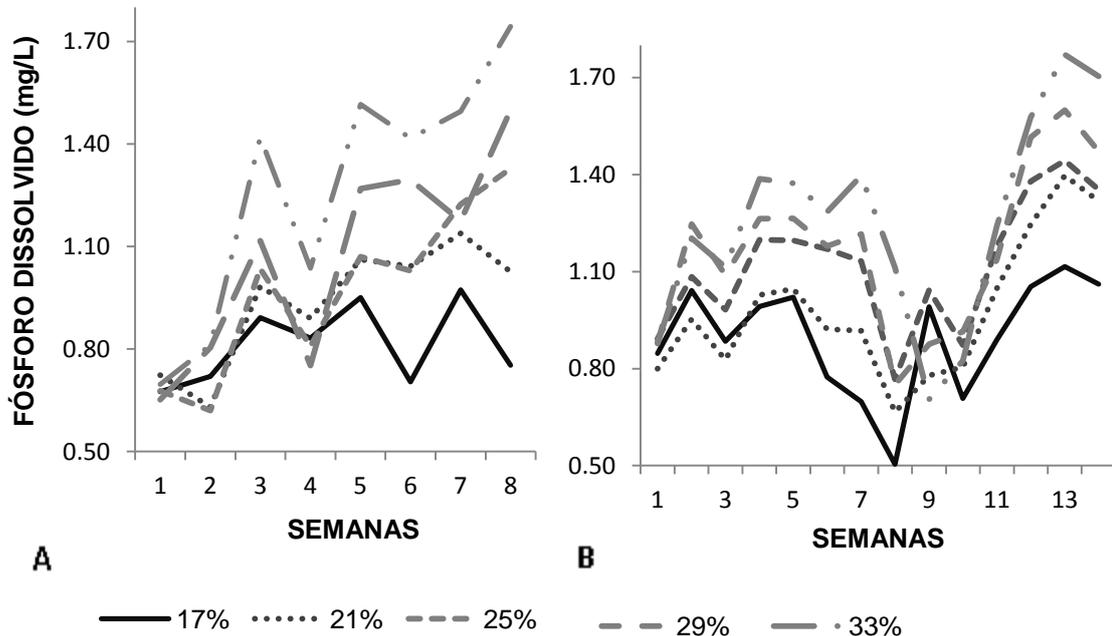
O melaço pode ser um dos causadores de aumento de  $\text{PO}_4^{3-}$  em sistema de biofocos, como relatado por Lorenzo et al. (2015), que verificaram que a adição de melaço resultou 8,5 vezes mais fósforo em biofoco em relação a dextrose. Neste contexto, Xu et al. (2016) verificaram aumento de fósforo com o aumento da relação C:N. A saturação de assimilação de fósforo por microalgas foi relatado como provável causa da diferença, mas considerando que foi utilizado melaço como fonte de carbono e maiores relações C:N resultam em maior suplementação de fonte de carbono, pode ser uma hipótese para o aumento de fósforo no sistema.

Apesar das rações serem isofosfóricas (tabela 3), o aumento linear de  $\text{PO}_4^{3-}$  no sistema, provavelmente ocorreu devido ao acréscimo de farelo de soja para elevar a PB das dietas, pois a maior inclusão desse alimento nas dietas resultou em maior contribuição do fósforo provido da soja. Segundo Goda et al. (2007) a presença de ácido fítico reduz a disponibilidade de fósforo neste ingrediente, aumentando sua excreção. Além disso, Neto e

Ostrensky (2015) avaliaram diversas rações comerciais e verificaram que o fósforo foi o nutriente com menor digestibilidade.

O aumento da concentração de fósforo no sistema biofoco é natural (Vinatea et al., 2010; Silva et al., 2013; Xu et al., 2016), como foi observado nas duas fases de crescimento (figura 8A e 8B). Segundo Silva et al. (2013), a carga de fósforo em biofoco é de 3 a 11 vezes menor que outros sistemas de produção, devido a reciclagem deste mineral pelos microrganismos. Situação semelhante foi observada por Luo et al. (2014) no cultivo de tilápia do Nilo. Neste contexto, Luis-Villaseñor et al. (2015) encontraram 63% menos fósforo em biofoco do que em água clara trabalhando com camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*).

Na água, o fósforo é medido pela concentração de ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e apresenta baixo teor de fósforo total (Boyd, 1971). Por isso seu aproveitamento pelos peixes é baixo, o que justifica a necessidade de suplementação deste mineral. Além disso, somente 30% do fósforo é aproveitado pelos peixes, sendo o restante excretado (Avnimelech e Ritvo, 2006).



**Figura 8.** Variação de fósforo na produção de juvenis de tilápia do Nilo em sistema biofoco alimentadas com diferentes níveis de PB. (A) primeiro experimento (B) segundo experimento.

Com relação a quantidade de sólidos suspensos totais. Estes aumentaram com o aumento de proteína na ração nos dois experimentos (tabela 5). Normalmente peixes aproveitam 20-25% da proteína da ração (Avnimelech, Avnimelech e Ritvo, Ebeling, 2006) e o restante é excretado na forma de amônia. Portanto, níveis altos de proteína resultam em maior excreção de nitrogênio (Azim et al. 2008). Essa maior disponibilidade de nitrogênio no sistema, aliada a oferta de substrato (fezes, matéria orgânica, carbono da ração) favorece o crescimento de bactérias heterotróficas, conseqüentemente aumento de SST. Neste trabalho, verificou-se que esse aumento está diretamente relacionado à redução de oxigênio dissolvido, alcalinidade e pH, como pode ser visto nas tabelas 4 e 5. Corroborando com Ebeling (2006), que destaca o consumo de O<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub> e a produção de CO<sub>2</sub> pelas bactérias heterotróficas. No presente trabalho, o primeiro experimento apresentou maior concentração de sólidos em relação ao segundo para todos os tratamentos, provável motivo dos menores valores de OD e pH (tabela 4) e o discreto aumento da alcalinidade (tabela 5).

Mesmo com a troca mínima de água do sistema a concentração de SST atingiu a 2000 mg/L e 1500 mg/L de SST para primeiro e segundo experimento respectivamente, muito acima do recomendado por Avnimelech (2006) e Hargreaves (2013) de que este parâmetro não ultrapasse a 1000 mg/L para um bom funcionamento do sistema. Long et al. (2015) também verificaram aumento dos sólidos com o decorrer de seu experimento, atingindo até 1000 mg/L. Algumas das conseqüências da alta concentração de sólidos é a redução do consumo de alimento (Azim et al., 2008), aumento da demanda de oxigênio (Ray et al., 2010a, Schweitzer et al. 2013), baixo crescimento (Ray et al., 2010a; Luo et al., 2014) e entupimento de brânquias dos organismos cultivados (Schweitzer et al. 2013; Luo et al., 2014). No presente trabalho, a alta concentração de sólidos aparentemente não prejudicou o desempenho dos peixes, pois tanques que apresentavam menor concentração não necessariamente apresentaram melhor desempenho e consumo de ração. Neste contexto, Azim e Little (2008) mesmo utilizando separador de flocos tiveram dificuldade em controlar a quantidade de sólidos no sistema no período final de experimento. Análises histológicas mostraram ausência de danos nas estruturas branquiais.

Durante os dois experimentos foi estabelecido suplementação de fonte de carbono somente quando a concentração de N-AT fosse maior ou igual a 1 mg/L, baseado na relação 6:1 de C:N (Ebeling, 2006). A adição de carbono poderia aumentar a concentração de sólidos como relatado por Ray (2012). No entanto, Xu et al. (2016) verificaram maior concentração de SST adicionando 6g de carbono para cada 1g de N-AT do que relações maiores pré

determinadas (9:1, 12:1, 15:1 e 18:1). Esse resultado corrobora com os resultados aqui obtidos. O esperado é que o aumento da relação C:N resulte em maior concentração de sólidos (Ebeling, 2006). Como no presente trabalho, vários outros confirmam o aumento de SST com o tempo (Vinatea et al., 2010; Xu et al., 2012, 2013, 2016; Zhao et al., 2012; Silva et al., 2013; Long et al., 2015).

Este estudo mostrou a possibilidade de trabalhar com adição mínima de fonte de carbono em sistema biofoco, reduzindo os custos de produção. Segundo Luo et al. (2014), a adição regularmente de carbono resulta em um gasto de 0,9 Kg de fonte de carbono por quilograma de peixe produzido.

**Tabela 5.** Quantidade de sólidos, alcalinidade e fósforo em duas fases de cultivo de tilápia em biofoco submetidas a crescentes concentrações de PB.

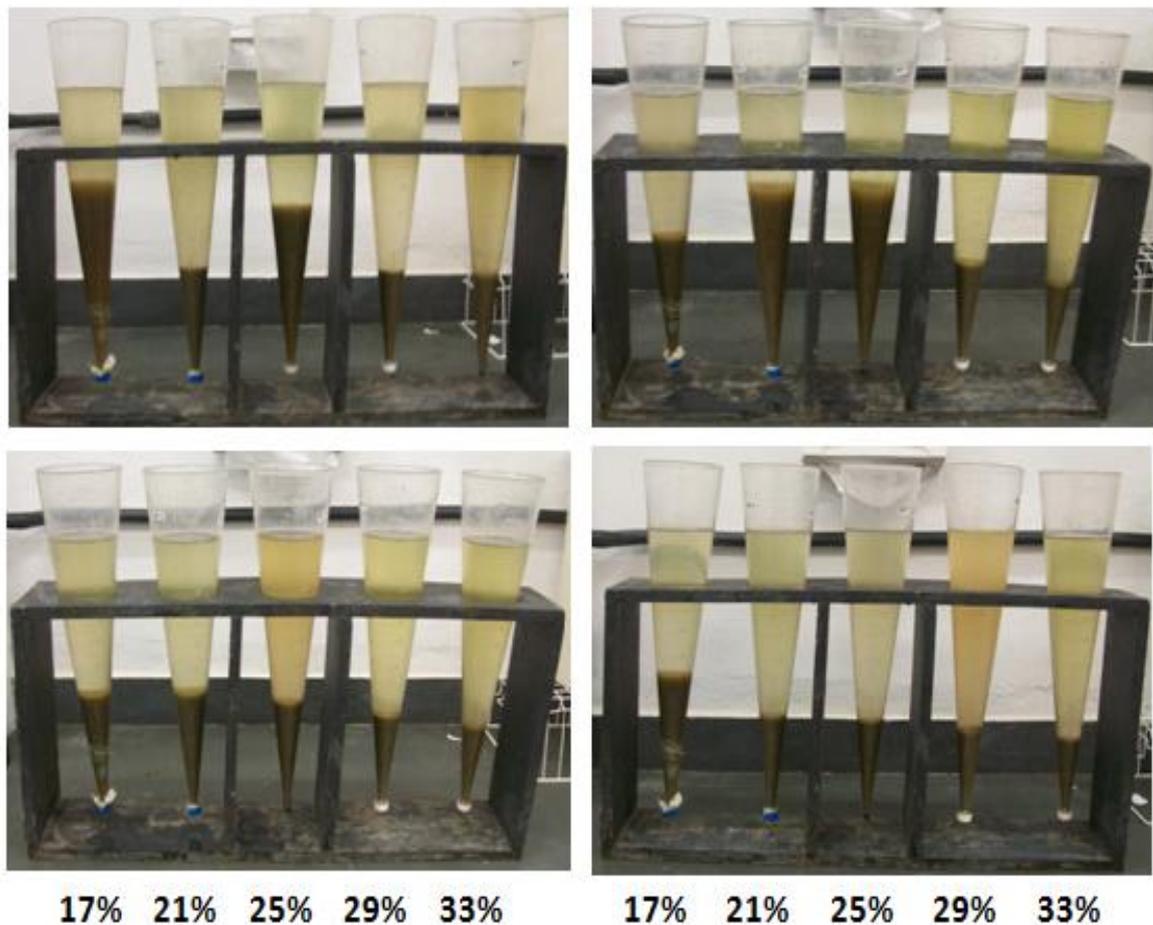
PB	SST (mg/L)		SS (mL/L)		ALC (mg de CaCO <sub>3</sub> /L)		P (mg/L)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>17%</b>	1421,89	1150,79	455,09	287,60	126,78	107,77	0,81	0,90
<b>21%</b>	1337,28	1178,32	302,30	211,63	71,34	71,34	0,97	0,98
<b>25%</b>	1390,44	1228,89	217,55	125,74	68,03	58,48	1,02	1,12
<b>29%</b>	1581,33	1296,43	101,70	117,83	48,25	50,00	1,00	1,17
<b>33%</b>	1701,78	1323,32	110,50	129,13	41,14	37,50	1,06	1,26
<b>CV</b>	10,56	6,43	64,03	44,80	44,57	39,14	16,41	13,34
<b>Regressão</b>	L***	L***	L***	L***	L***	L***	L***	L***
<b>R<sup>2</sup></b>	0,55	0,72	0,72	0,58	0,82	0,85	0,83	0,82
<b>SST</b>	<sup>1</sup> y = 20,096x + 984,15		<sup>2</sup> y = 11,579x + 946,06					
<b>SS</b>	<sup>1</sup> y = -22,245x + 793,55		<sup>2</sup> y = -10,269x + 431,1					
<b>ALC</b>	<sup>1</sup> y = -5,0347x + 198,38		<sup>2</sup> y = -4,0469x + 166,19					
<b>P</b>	<sup>1</sup> y = 0,026x + 0,361		<sup>2</sup> y = 0,0226x + 0,5212					

L\*\*\* regressão linear (p<0,001), NS – não significativo, CV – coeficiente de variação, SS – sólidos suspensos totais, SS – sólidos sedimentáveis, ALC – alcalinidade, P – fósforo. R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação, 1 e 2 – experimento .

A troca mínima de 17,5% duas vezes por semana (acumulado de 35% por semana) corresponde a uma renovação de 5% por dia. Foi baseada em sistema de recirculação que normalmente apresenta troca de 2-10% por dia (Ebeling, 2006). Esta renovação teve como objetivo reduzir os efeitos tóxicos do acúmulo de sólidos do Sistema. Um experimento anterior a este em bioflocos, sem renovação mínima de água (Manduca et al., não publicado), o acúmulo de sólidos prejudicou a qualidade de água e desempenho de tilápias de Nilo. Segundo Little et al. (2008) a remoção constante de sólidos representa um retorno ao sistema de recirculação, aumentando o custo operacional do sistema. A remoção de sólidos de sólidos é uma forma de reduzir a quantidade de SST do sistema, mas deve ser cautelosa, pois pode resultar em redução de microrganismos potenciais fontes de alimento para tilápia (Ray et al., 2010a).

Com relação a quantidade de sólidos sedimentáveis. Estes reduziram com o incremento de PB nas dietas (tabela 5). Foi observado baixa ou nenhuma correlação entre SSTxSS, atribuído ao alto coeficiente de variação de SS, como observado na tabela 5. Compatível com relatos de Schweitzer et al. (2013), que encontraram redução da correlação com o aumento da concentração de SST. Como no presente trabalho, Xu et al. (2016) também observaram maior variação de SS em relação a SST.

Nesses dois experimentos, a baixa sedimentação de sólidos nos tratamentos de menor proteína se manteve ao longo de todo período experimental (figura 8). As diferenças de sedimentação podem ter sido efeito da comunidade de microrganismos em cada tratamento. Segundo Xu et al. (2016), os flocos podem ser compostos por microalgas e bactérias filamentosas com baixa densidade ou comunidade microbiana agregadas com alta densidade, afetando a processo de sedimentação.



**Figura 9.** Sólidos sedimentáveis do biofloco do segundo experimento na produção de juvenis de tilápias do Nilo alimentadas com diferentes níveis de PB.

## 5.2. Desempenho

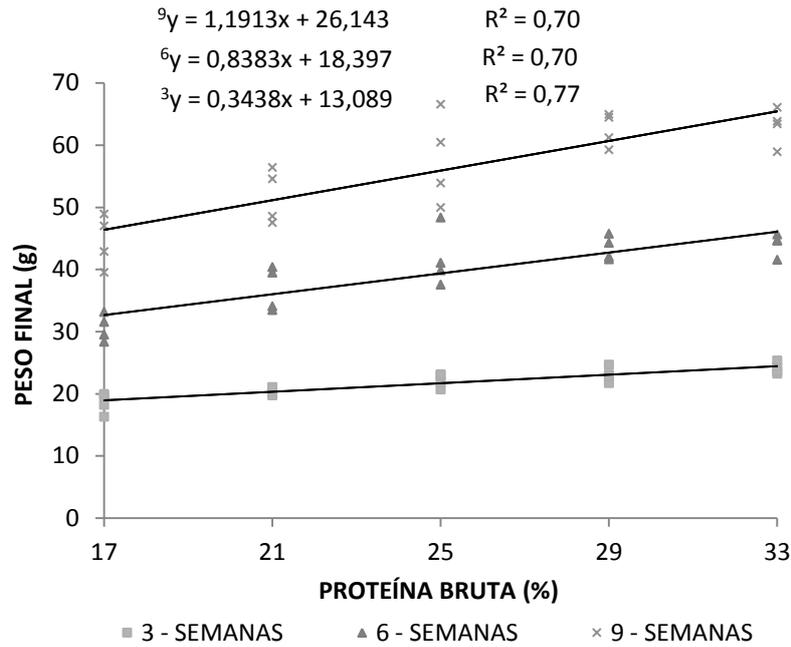
As médias de peso final realizadas durante as duas fases de crescimento estão apresentadas na tabela 6. O primeiro experimento apresentou comportamento linear em todas as amostragens (figura 10), e em todas foi observado uma aproximação do peso médio do tratamento de 29% e 33% de PB. Em relação ao segundo experimento não foi observado efeito significativo dos níveis de PB sobre o peso na terceira semana de amostragem. Porém na sexta e nona semanas, o peso aumentou linearmente com o incremento de PB na dieta. A partir desse momento, quando os peixes estavam com peso médio de  $159,71 \pm 14,50g$ , predominou o efeito quadrático (figura 11).

**Tabela 6.** Peso médio (g) de juvenis de tilápias do Nilo em duas fases de crescimento cultivadas em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.

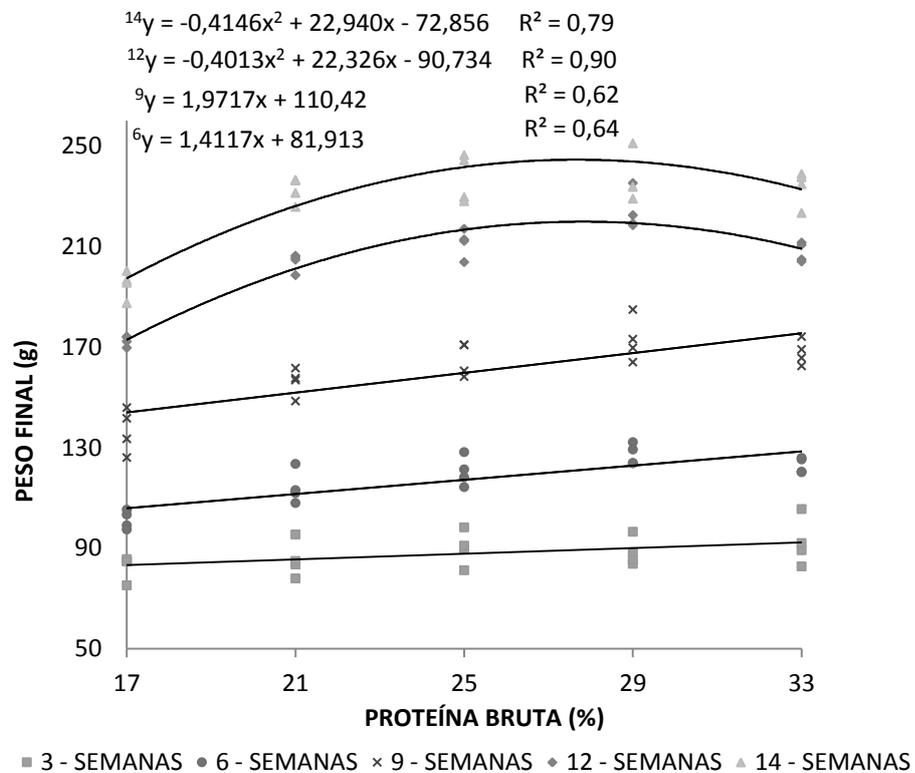
PB	3 (semanas)		6 (semanas)		9 (semanas)		12 (semanas)		14 (semanas)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>17%</b>	18,53	82,61	30,65	101,28	44,59	136,73	-	172,44	-	194,90
<b>21%</b>	20,52	85,43	36,85	114,09	51,77	156,10	-	203,71	-	232,35
<b>25%</b>	22,18	90,00	41,71	120,48	57,73	165,07	-	211,35	-	236,96
<b>29%</b>	23,04	88,50	43,43	127,24	62,47	172,87	-	223,72	-	243,44
<b>33%</b>	24,15	92,36	44,13	122,94	63,07	167,78	-	207,69	-	233,52
<b>CV</b>	10,48	8,21	14,82	8,72	14,74	9,08	-	8,85	-	8,46
<b>Regressão</b>	L***	NS	L***	L***	L***	L***	-	Q***	-	Q***
<b>R<sup>2</sup></b>	0,77	-	0,70	0,64	0,70	0,62	-	0,90	-	0,79

L\*\*\* - regressão linear ( $p < 0,001$ ), Q\*\*\* - regressão quadrática ( $p < 0,001$ ), NS – Não significativo, CV – coeficiente de variação, R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação, 1 e 2 – experimento.

A avaliação de desempenho das duas fases de crescimento em bioflocos está apresentada na tabela 7. Com relação ao primeiro experimento, o ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), e densidade de estocagem final (DE) aumentaram linearmente, enquanto que a conversão alimentar aparente (CAA) reduziu com o incremento de proteína na ração. Observando o comportamento dos dados é perceptível a pequena diferença do GPD entre a dieta com 29 e 33%. Nota-se também menor CAA no tratamento com 29% de PB (tabela 7). Esses resultados, tendem a um nível de inclusão máximo de PB próximo a 33% de PB para esta fase de crescimento, como visualizado na figura 12A e 13A. Neste contexto, vários pesquisadores (El-Said, 2006; Abdel-Tawwab et al. 2010; Ng e Romano, 2013; Kpundeh et al., 2015) recomendam valores entre 28-35% de PB em diferentes sistemas de cultivos de tilápias, baseados em renovação diária de água. Assim, como o NRC (2011) que apresenta exigência de 34% de PB, próximo da observação de 33% de PB de Ogunji e Wirth (1999), enquanto que Furuya (2010) recomenda 30% de PB para dietas para tilápias. Resultados que corroboram com este presente trabalho, para fase de crescimento similar ao primeiro experimento.



**Figura 10.** Peso médio final (g) de juvenis de tilápia do Nilo (primeiro experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB durante nove semanas.



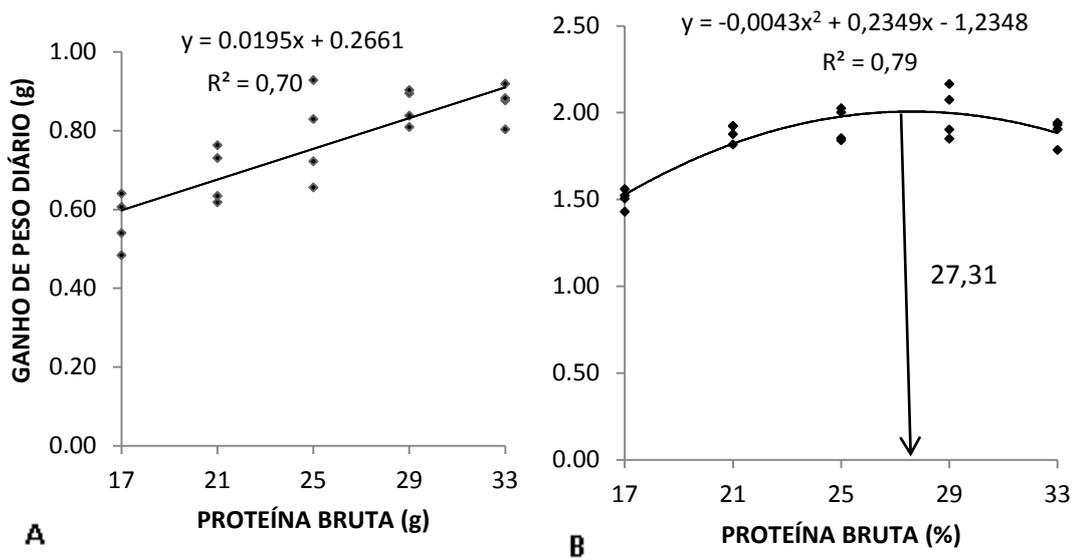
**Figura 11.** Peso médio final (g) de juvenis de tilápia do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB durante quatorze semanas.

No segundo experimento, com exceção de sobrevivência, houve efeito quadrático para todos parâmetros de desempenho em relação ao incremento de proteína na ração (tabela 7). O nível de inclusão máximo determinado para GPD e CAA foi de 27,31% e 26,02% de PB, respectivamente, como observado nas figuras 12B e 13B. Esses valores são similares a recomendações de exigência em sistemas de renovação diária de água (Hafedh ,1999; El-Saidy e Gaber, 2005; Furuya, 2010; Ng e Romano, 2013) para tilápias de tamanho semelhantes ao deste trabalho.

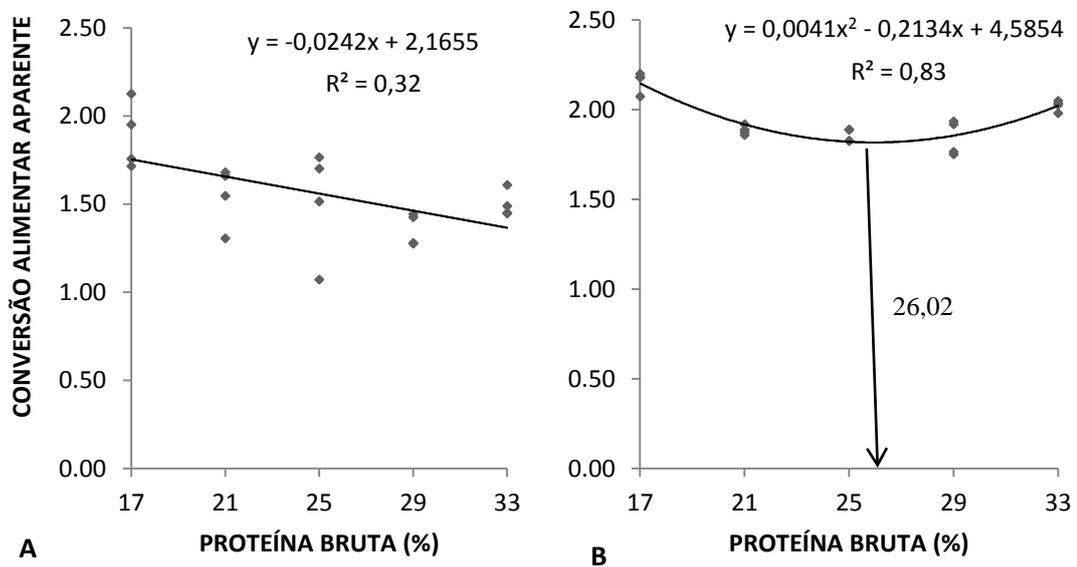
**Tabela 7.** Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo em duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.

PB	GPD (g/dia)		TCE (%/dia)		CDR (% PV/dia)		CAA -		DE (Kg/m <sup>3</sup> )		S* (%)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2*
17%	0,57	1,50	2,79	1,44	3,37	2,21	1,89	2,16	16,37	14,92	97,99	95,91 <sup>a</sup>
21%	0,69	1,88	2,75	1,62	2,80	1,91	1,55	1,88	18,65	18,23	98,27	99,20 <sup>b</sup>
25%	0,78	1,93	2,84	1,63	2,73	1,89	1,51	1,86	20,20	18,74	99,41	100,00 <sup>b</sup>
29%	0,86	2,00	2,84	1,66	2,38	1,87	1,35	1,84	23,33	19,47	98,24	100,00 <sup>b</sup>
33%	0,87	1,89	2,84	1,61	2,49	2,06	1,50	2,04	24,91	18,53	99,41	98,44 <sup>ab</sup>
CV	17,93	10,61	8,94	5,43	15,28	7,33	15,78	6,85	17,84	9,83	-	-
Reg.s	L***	Q***	NS	Q***	L***	Q***	L**	Q***	L***	Q***	-	-
R <sup>2</sup>	0,70	0,79	-	0,81	0,57	0,82	0,87	0,83	0,73	0,81	-	-
GPD	<sup>1</sup> y = 0,0195x + 0,2661				<sup>2</sup> y = -0,0043x <sup>2</sup> + 0,2349x - 1,2348				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =27,31			
TCE	-				<sup>2</sup> y = -0,002x <sup>2</sup> + 0,109x + 0,1742				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =27,25			
CDR	<sup>1</sup> y = -0,0242x + 2,1655				<sup>2</sup> y = 0,0044x <sup>2</sup> - 0,2303x + 4,8374				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =26,17			
CAA	<sup>1</sup> y = -0,0242x + 2,1655				<sup>2</sup> y = 0,0041x <sup>2</sup> - 0,2134x + 4,5854				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =26,02			
DE	<sup>1</sup> y = 0,5443x + 7,0851				<sup>2</sup> y = -0,037x <sup>2</sup> + 2,0595x - 9,2234				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =27,83			

L\*\* - regressão linear (p<0,01), L\*\*\* - regressão linear (p<0,001), Q\*\*\* - regressão quadrática (p<0,001), NS - Não significativo, PV - peso vivo, S\* - mediana, 2\* teste de Kruskal-Wallis (p<0,05), GPD - ganho de peso diário, TCE - taxa de crescimento específico, CDR - consumo diário de ração, CAA - conversão alimentar aparente, DE - densidade de estocagem, S - sobrevivência, CV - coeficiente de variação, R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação, 1 e 2 - experimento.



**Figura 12.** Ganho de peso diário de tilápias do Nilo em biofloc com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento (B) segundo experimento.



**Figura 13.** Conversão alimentar aparente de tilápias do Nilo em biofloc em biofloc com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento (B) segundo experimento.

As rações comerciais normalmente utilizam níveis de PB acima do recomendado, como estratégia para reduzir os custos das dietas, pois garante a suplementação mínima de aminoácidos. Neste contexto, Neto e Ostrensky (2015) relatam que rações destinadas a juvenis contém proteína acima da necessidade, resultando em perda de qualidade de água.

Este presente estudo trabalhou com densidade de estocagem final média de até 25 Kg/m<sup>3</sup> (tabela 7). Por se tratar de um sistema de troca mínima ou zero de água, o aumento da densidade promove acúmulo de SST no sistema, como observado na tabela 5, prejudicando a qualidade de água. Porém estes dois experimentos mostraram a possibilidade de produzir tilápias em bioflocos com biomassa acima de 18 Kg/m<sup>3</sup>. Neste contexto, Péres-Fuentes et al. (2016) trabalharam com densidade final de 16-18 Kg/m<sup>3</sup>, assim como Crab et al. (2009), que cultivaram tilápias em bioflocos biomassa de 20 Kg/m<sup>3</sup> e Luo et al. (2014) produziram juvenis de tilápias do Nilo com densidade final de até 45 Kg/m<sup>3</sup>, muito acima dos níveis de 6 a 16,5 Kg/m<sup>3</sup> normalmente praticados neste sistema (Little et al., 2008).

Estudos com tilápias mostram que os flocos microbianos promovem aumento do ganho de peso, taxa de crescimento específico e redução da conversão alimentar (Luo et al., 2014, Long et al. 2015). Azim e Little (2008) tiveram altas variações de parâmetros de qualidade de água durante o experimento, que pode ter afetado o desempenho final. No entanto, o bioflocos foi melhor que água clara. Considerando a fase de crescimento similar ao segundo experimento, Péres-Fuentes encontraram GPD inferior a este trabalho, mas melhor CAA, que pode ser atribuída a maior participação do flocos na alimentação das tilápias.

Neste contexto, Abdel-Tawwab et al. (2010) trabalhando com sistema com 50% de troca de água, e encontraram CAA e TCE inferiores a primeira fase de crescimento deste presente estudo, assim como Hafedh (1999), que encontrou desempenho abaixo dos aqui apresentados para as duas fases de crescimento. Diferença que pode esta relacionada ao aproveitamento adicional de alimento (flocos).

No entanto, Botaro et al. (2007) e Gonçalves et al. (2009) trabalharam com sistema de tanque-rede e recirculação de água, respectivamente, e ração balanceada no conceito de proteína ideal, eles encontraram melhor CAA e GPD, para mesma fase de crescimento do segundo experimento com níveis de proteína similares. Da mesma forma, Goda et al. (2007) que também encontraram resultados melhores para (CAA, GPD e TCE) com 28% de PB em relação a 29% de PB na segunda fase de crescimento. Neste contexto, são necessárias estratégias para melhorar o desempenho em bioflocos. Uma alternativa seria ajustar a taxa de

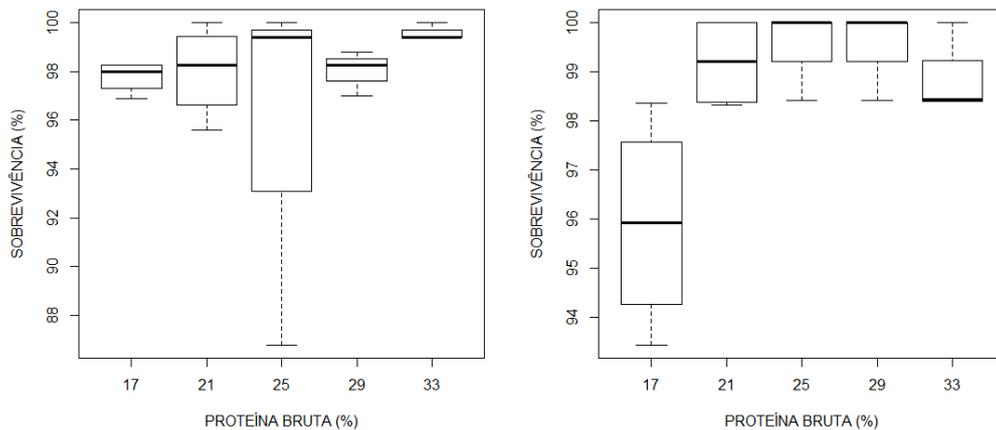
alimentação para otimizar o aproveitamento do floco. Nas duas fases de crescimento foi adotada a alimentação máxima (*ad libitum*), que pode ter reduzido à alimentação por filtração. El-Saidy e Gaber (2005) avaliaram taxa de alimentação de (1%, 2% e 3% de consumo em relação ao peso corporal) para juvenis de tilápias em sistema de troca de água e verificaram que alimentação intermediária foi a mais eficiente para ganho de desempenho. Quanto a frequência alimentar, nesse presente estudo, foi ofertada alimentação três vezes ao dia, a primeira as 08h00 e a última as 15h30min.. Segundo Turker (2004), a tilápia do Nilo é mais eficiente no processo de filtração de partículas em suspensão no início da noite. Neste contexto, a frequência alimentar provavelmente não prejudicou a filtração.

A exigência de proteína deve-se a fatores como: sistema de cultivo (biofoco, tanque rede, recirculação), parâmetros de qualidade de água, linhagem dos animais e formulação da ração. Esses fatores dificultam a comparação entre os diferentes experimentos descritos na literatura. Com relação a ração, a variação somente de milho e soja neste experimento foi proposital para evitar que mais variáveis influenciassem nos resultados. O desempenho poderia ser melhorado através de suplementação de lipídeos, uma vez que ficou abaixo do recomendado para tilápias de 5-12% (Lim et al., 2011), como observado na tabela 3.

Os peixes da primeira fase de crescimento conseguiram lidar melhor com a redução de PB da dieta, visto que a sobrevivência não diferiu significativamente no primeiro experimento (tabela 7). A maior mortalidade ocorreu em duas unidades experimentais do tratamento com 21% e 25% de PB como observado na figura 11A, e foram atribuídas a picos de nitrito que ocorreram na quarta semana de experimento. Na segunda fase de crescimento, a sobrevivência foi significativamente menor no tratamento com 17% de PB (figura 11B), o tratamento com 33% de PB foi igual ao 17% de PB e aos demais níveis (tabela 7). É possível que a sobrevivência esteja associada à exigência mínima de PB, pois o nível ótimo de PB encontrados para CAA e GPD ficou entre 25-29%, que tiveram menor mortalidade. No caso do tratamento com 33% de PB, a menor sobrevivência pode esta relacionado com a maior concentração de sólidos e amônia no sistema.

O biofoco tem-se mostrado uma opção para o controle de mortalidade na aquicultura comparado com sistema de troca de água (Péres-Fuentes et al., 2016), e pode está relacionado ao aumento da imunidade dos animais cultivados (Luo et al., 2014; Ekasari et al., 2015). Os resultados de sobrevivência aqui foram acima dos El-Saidy e Gaber, (2005) e Peres-Fuentes et al. (2016) em água clara e biofoco, respectivamente, independente do nível de inclusão de PB

na dieta. Crab et al. (2009) utilizaram o biofloco como estratégia para enfrentar o período de inverno, com temperatura média de 18 °C. E eles verificaram que o BFT foi eficiente, pois resultou em baixas mortalidades para juvenis de tilápias de 50 e 100g.



**Figura 14.** Sobrevivência de tilápias do Nilo em biofloco com níveis diferentes de proteína bruta. (A) primeiro experimento (B) segundo experimento.

O índice víscerosomático foi próximo entre os dois experimentos e aumentou com a redução da proteína na dieta (tabela 8), provavelmente foi influenciado pelo acúmulo de gordura nas vísceras. Apesar de não significativo, houve maior deposição de gordura nos animais alimentados com o menor nível de PB no primeiro experimento, enquanto que no segundo experimento, houve efeito quadrático (tabela 8). Com nível máximo de inclusão de PB de 24,27 (figura 15). O aumento da relação EB:PB fez com que os animais alimentados aumentem a deposição de gordura, resultado semelhante ao observado por Kaushik et al. (1995). Neste contexto, o excesso de proteína no segundo experimento também foi utilizado para sintetizar lipídeos.

Apesar de perceptível aumento do IHS com a redução de proteína na dieta, essa tendência não foi significativa no primeiro experimento, enquanto que no segundo experimento dietas com teores menores de PB promoveram maiores IHS, que pode ser atribuída a redução do metabolismo em peixes maiores, ocasionando acúmulo de gordura no fígado. Corroborando com este trabalho, Abdel-Tawwab et al. (2010) verificaram comportamento semelhante de IHS para juvenis de tilápias com fase de crescimento similar

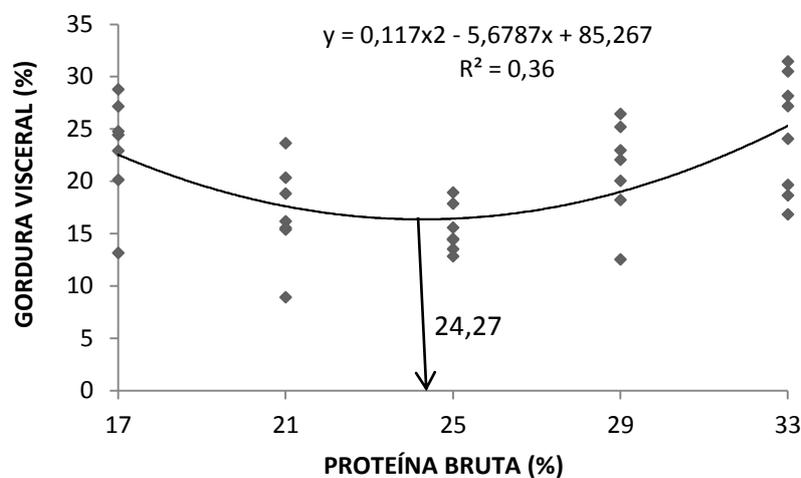
ao primeiro experimento. Neste contexto, Kpundeh et al. (2015) também não observaram efeito significativo de diferentes níveis de PB em relação ao índice IHS. Efeito este atribuído a habilidade da tilápia em metabolizar carboidratos. Ainda considerando a mesma fase crescimento, Kaushik et al. (1995) observaram aumento significativo do IHS de IVS com redução de proteína da dieta. O efeito significativo de IHS em relação a este trabalho pode ser atribuído ao maior teor de energia que Kaushik et al. (1995) utilizaram.

**Tabela 8.** Desempenho de tilápias do Nilo com relação a Índice víscerosomático (IVS), hepatossomático (IHS) e gordurovisceral (IGV) e taxa de eficiência proteica (TEP) em duas fases de cultivo em biofoco submetidas a crescentes concentrações de PB.

PB	IVS (%)		IGV (%)		IHS (%)		TEP		
	1	2	1	2	1	2	1	2	
<b>17%</b>	12,01	11,79	8,83	25,31	3,07	2,90	2,89	2,72	
<b>21%</b>	10,22	10,44	9,75	19,83	2,95	2,69	2,80	2,53	
<b>25%</b>	10,56	8,75	7,08	17,62	3,06	2,16	2,41	2,16	
<b>29%</b>	8,47	8,34	6,79	23,35	2,90	1,64	2,39	1,88	
<b>33%</b>	8,45	8,71	6,36	24,56	2,91	1,83	2,00	1,50	
<b>CV</b>	16,30	16,77	38,97	27,38	15,11	32,33	15,50	21,09	
<b>Regressão</b>	L***	L***	NS	Q***	NS	L**	L***	L***	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,63	0,55	-	0,36	-	0,41	0,67	0,98	
<b>IVS</b>	<sup>1</sup> y = -0,2217x + 15,482				<sup>2</sup> y = -0,2062x + 14,761				-
<b>IGV</b>	-				<sup>2</sup> y = 0,117x <sup>2</sup> - 5,6787x + 85,267				<sup>2</sup> X <sub>max</sub> =24,27
<b>IHS</b>	-				<sup>2</sup> y = -0,0797x + 4,2372				-
<b>EP</b>	<sup>1</sup> y = -0,0548x + 3,87				<sup>2</sup> y = -0,0775x + 4,094				-

L\*\* - regressão linear (p<0,01), L\*\*\* - regressão linear (p<0,001), Q\*\*\* - regressão quadrática (p<0,001), NS - Não significativo, CV - coeficiente de variação, R<sup>2</sup> - coeficiente de determinação, 1 e 2 - experimento.

Com relação ao segundo experimento, O IHS da dieta 29% e 25% de PB teve resultado próximo ao encontrado por Botaro et al. (2007) que utilizaram dietas baseadas no conceito de proteína ideal. Contudo, Gonçalves et al. (2009) com fase de crescimento intermediária a estes dois trabalhos não observaram diferença para os IHS, IVS e IGV. O alto CV principalmente de IGV dificultam a comparação como observado na tabela 8. O menor IHS no segundo experimento em relação ao primeiro deve-se a diminuição da área do fígado em relação a área corporal com o desenvolvimento do peixe (Abdel-Tawwab et al., 2010).



**Figura 15.** Índice de Gordura visceral de tilápias do Nilo (segundo experimento) em sistema bioflocos alimentadas com diferentes níveis de PB.

Em relação a taxa de eficiência proteica, houve aumento linear com a redução de PB na dieta (tabela 8). Resultado semelhante foi observado por Furuya et al. (2005), Abdel-Tawwab et al. (2010) e Kpundeh et al. (2015), em sistema com troca de 5% ao dia, 50% ao dia e recirculação de água, respectivamente. Neste presente estudo, verificou-se maior TEP no primeiro experimento (tabela 8). Resultado similar ao relatado por Abdel-Tawwab et al. (2010), que observaram redução da utilização da proteína com o aumento do tamanho da tilápia. O crescimento do peixe está relacionado com a deposição e excreção de proteína (Abdel-Tawwab et al., 2010), desta forma, a partir de 28% de PB no segundo experimento resultou maior excreção proteína na forma de amônia. Além disso, o excesso de proteína foi utilizado para produzir lipídeos.

### 5.3. Composição corporal

Os dados de composição corporal (proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo e cinzas) estão apresentados na tabela 9. Com exceção de cinzas, para os dois experimentos foram observados redução do teor de PB e aumento de EB e EE com a diminuição de PB na dieta (tabela 9). O aumento do consumo diário de ração (CDR) em relação ao peso corporal nos tratamentos com menor proteína provavelmente é uma forma de compensar a exigência mínima de proteína (tabela 7). Isso resultou em maior acúmulo de gordura na carcaça e consequentemente, resultou em maior produção de energia. Com base na amostra inicial do primeiro e segundo experimento, nota-se que houve redução de teor de PB e aumento da energia e extrato da carcaça de peixes alimentados com níveis menores de PB, principalmente na dieta com 17%. Além disso, houve mobilização de proteína corporal para complementar a exigência mínima de PB.

**Tabela 9.** Composição corporal com base na matéria seca de juvenis de tilápia do Nilo em duas fases de cultivo em bioflocos submetidas a crescentes concentrações de PB.

PB	PB (%)		EB (Kcal)		EE (%)		CINZAS (%)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
	58,58 <sup>1</sup>	58,51 <sup>2</sup>	5473,22 <sup>1</sup>	5354,38 <sup>2</sup>	20,48 <sup>1</sup>	21,36 <sup>2</sup>	12,94 <sup>1</sup>	16,19 <sup>2</sup>
<b>17%</b>	46,78	50,24	5624,66	5872,84	25,99	31,97	15,35	16,04
<b>21%</b>	55,49	54,66	5426,14	5834,83	19,84	31,06	15,04	14,67
<b>25%</b>	58,21	54,07	5442,02	5733,22	20,99	27,55	15,09	15,23
<b>29%</b>	59,03	57,37	5396,47	5557,98	20,86	24,69	15,15	15,75
<b>33%</b>	59,98	56,41	5332,79	5555,87	19,99	27,54	15,27	16,45
<b>CV</b>	11,05	7,00	3,41	4,53	23,60	14,52	6,65	11,18
<b>Regressão</b>	L***	L**	L**	L**	L**	L**	NS	NS
<b>R<sup>2</sup></b>	0,52	0,35	0,41	0,39	0,31	0,38	-	-
<b>PB</b>	<sup>1</sup> y = 0,7397x + 37,475			<sup>2</sup> y = 0,3765x + 45,136				
<b>EB</b>	<sup>1</sup> y = -15,336x + 5827,8			<sup>2</sup> y = -22,77x + 6280,2				
<b>EE</b>	<sup>1</sup> y = -0,3074x + 29,087			<sup>2</sup> y = -0,3806x + 38,075				

L\*\* - regressão linear (p<0,01), L\*\*\* - regressão linear (p<0,001), NS – não significativo. PB – proteína bruta, EB – energia bruta, EE – extrato etéreo, a – composição de carcaça da amostra inicial.

Corroborando com este trabalho, Alves (2013) trabalhou juvenis de tilápia com peso médio final entre 44-47g, alimentados com 45% de PB em bioflocos e verificou resultados similares para PB, EB, EE e cinzas em relação aos maiores níveis de PB do primeiro experimento. Neste contexto, Azim e Little (2008) encontraram resultados similares para EB, EE e cinzas, enquanto que PB foi menor ao encontrado neste trabalho para fase de crescimento intermediária e nível de PB (35 e 24%) em bioflocos. Kpundeh et al. (2015) também não observavam diferença significativa para cinzas, mas diferente deste trabalho, não verificaram diferença de PB na carcaça com diferentes níveis de PB na dieta. A diferença encontrada entre os dois trabalhos, pode ser atribuído aos diferentes níveis de PB utilizados nos dois trabalhos, uma vez que o menor nível de PB usado por Kpundeh et al. (2015) foi de 25% de PB.

Ogunji e Wirth (2002) utilizaram dieta em torno de 1% de PB na dieta de tilápia do Nilo, e verificaram redução de PB na carcaça de 57,14% para 49,18%, mas não observaram redução do peso final durante oito semanas de experimento. Isso evidencia a habilidade da tilápia em lidar com dietas com alta concentração de carboidratos.

#### **5.4. Valor nutricional do flocos**

As composições nutricionais dos flocos dos dois experimentos estão apresentadas na tabela 10. Não foram observados efeito da redução da PB sobre a qualidade do flocos em nenhum dos experimentos. Corroborando com este trabalho, Azim et al. (2008) avaliando a melhor relação C:N e 35% e 22% de PB também não observaram diferença no valor nutricional do flocos, assim como Azim e Little (2008) que trabalharam com tilápias com níveis de PB similares ao trabalho anterior. Neste contexto, Megahed (2010) e Xu et al. (2012) também não observaram diferença no valor nutricional do flocos utilizando diferentes níveis de PB com camarão. Assim como Widanarni et al. (2012), trabalhando com diferentes densidades de estocagem com tilápias.

De modo geral, o valor nutricional ficou abaixo da maioria dos trabalhos em sistema bioflocos. A PB do flocos encontra-se entre 20-32% (Ballester et al., Megahed, 2010; Emerenciano et al., Xu e Pan, Xu et al., 2012; Xu e Pan, 2013, Wang et al., Yun et al., 2015). Acima de 35% foram relatados por Azim et al. (2008), Azim e Little (2008) e Long et al. (2015). No caso de energia, trabalhos relatam de 2000-3000 Kcal (Wasielky Jr. et al., 2006;

Emerenciano et al. 2012) e 4500-5300 Kcal (Azim e Little, Azim et al., 2008). O baixo teor de lipídeos tem sido observado em biofoco. Normalmente com valores encontrados são menores que 4% (Azim et al. 2008; Luo et al. 2014; Wang et al, 2015), chegando a menos que 1% (Kuhn et al. 2010; Yun et al., 2015). A cinza é a variável que apresenta maior oscilação da qualidade do flocos, com concentração menor que 20% (Azim e Little, Azim et al., 2008; Long et al., 2015) e maiores que 30% (Wasiolesky Jr. et al., 2006; Ballester et al., 2010; Xu e Pan, 2012; Yun et al, 2015). Xu e Pan (2013) encontraram concentração de cinzas dentro da faixa deste trabalho.

Neste cenário, Alves (2013) trabalhou com juvenis de tilápias de 1,4 a 47g em biofoco, e verificou de 32 a 37% de PB, 3400 a 4200 Kcal de EB, 9 a 14% de lipídeos e 19 a 33% de cinzas. E ainda, observou que o tempo de formação do sistema biofoco não afetou no teor de PB, mas o aumento do tempo de cultivo tende a reduzir o nível de EB, aumentar o nível de cinzas e também tendência para redução do teor de lipídeos.

**Tabela 10.** Valor nutricional do flocos com base na matéria de duas fases de cultivo em biofoco submetidas a crescentes concentrações de PB.

PB	PB (%)		EB (Kcal)		CINZAS (%)	
	1	2	1	2	1	2
<b>17%</b>	21,28	15,19	1976,06	1397,47	53,19	53,48
<b>21%</b>	20,52	14,23	1943,80	1537,40	54,71	55,40
<b>25%</b>	20,01	14,86	1820,95	1457,53	54,15	59,36
<b>29%</b>	19,77	15,76	1868,91	1470,80	56,39	56,78
<b>33%</b>	19,95	15,43	1841,91	1422,03	55,68	60,10
<b>CV</b>	7,68	8,94	6,80	11,96	5,12	10,34
<b>Regressão</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>R<sup>2</sup></b>	-	-	-	-	-	-

NS – não significativo. PB – proteína bruta, EB – energia bruta.

O valor nutricional do floco está intimamente ligado ao perfil de microrganismos nele existente. Wilén et al. (2000) relatam que somente 10-20% do conteúdo do floco são composto por microrganismo. Segundo Silva et al. (2008), a abundância de bactérias heterotróficas, cianobactérias, bactérias filamentosas e flagelados estão relacionados a lipídeos, enquanto diatomáceas a proteína e nematoides a lipídeos e proteína.

A fonte de carbono também pode influenciar na qualidade do floco. (De Schryver e Verstraete, 2009; Crab et al., 2010). Além disso, a qualidade do floco é dependente de parâmetros como movimentação, temperatura, oxigênio, pH (De Schryver et al., 2008).

Nestes dois trabalhos esperava uma melhor qualidade dos flocos, O baixo valor nutricional pode este relacionado com a alta concentração de SST. Corroborando com esta hipótese, Schweitzer et al. (2013) verificaram maior teor de proteína, lipídeos, energia e menor de cinzas em concentração de 200 mg/L de SST em relação a concentrações maiores. O excesso de cinzas  $54,83 \pm 2,81$  e  $57,63 \pm 5,96\%$  para o primeiro e segundo experimento respectivamente, pode está relacionada ao baixo valor nutritivo do floco. Este valor é quase três vezes ao máximo de cinzas recomendado em dietas de tilápias (Ng e Romano, 2013) Segundo De Schryver e Verstraete (2009), o baixo teor de cinzas está relacionada a maior produtividade microbiana. Poli et al. (2015) verificaram que baixas concentrações de sólidos resultaram em maior SSV (sólidos suspensos voláteis - matéria perdida a  $550^{\circ}\text{C}$ ), conseqüentemente melhor valor nutritivo do floco. De Schryver e Verstraete (2009) e Xu et al. (2016) encontraram melhor SSV com o aumento da relação C:N.

No presente estudo, o baixo valor nutricional do floco pode está relacionado ao método de coleta, Pois, as amostras foram obtidas por sedimentação total do tanque e posteriormente, foi realizado sifonamento do material sólido. Está técnica pode ter resultado em maior contribuição de partículas minerais depositadas no fundo do tanque. Contudo, a sedimentação pode ser realizada, desde que o material seja coletado em suspensão, e em seguida, transferido para outro recipiente, onde ocorrerá a separação da parte sólida da líquida. Semelhante ao obtido por Burford et al. (2003), Azim et al. (2008) e Schweitzer et al. (2013). Outro método de obtenção de amostra de floco, é por filtração em saco de fibra (Emerenciano et al., Xu et al., 2012; Xu e Pan, 2013; Long et al., 2015). Porém, este método pode ocorrer perda de partículas menores, afetando a real valor nutricional da amostra de floco.

A expectativa de um melhor desempenho das duas fases de crescimento pode ter sido afetado pela baixa qualidade do flocos ou pela estratégia de alimentação (*ad libitum*). O flocos pode ser uma alternativa de suplementação para organismos aquáticos (Avnimelech, 1999; Azim et al., De Schryver et al., 2008), mas a sua utilização como alimento seco não é viável, pois a coleta e a secagem são dispendiosas. A alimentação natural e a vontade em tanques e lagoas de bioflocos continua sendo a mais recomendada (Avnimelech, 1999).

## 6. CONCLUSÕES

A qualidade de água melhorou com a redução da PB da dieta nas duas fases de crescimento utilizada neste presente trabalho.

Apesar de não obter a concentração máxima de inclusão de PB para juvenis de tilápia do Nilo no primeiro experimento, o nível 33% parece atender as exigências de juvenis de 10 a 56g, enquanto que tilápias de 56 a 230g podem ser alimentadas com 26 a 28% de PB. para melhor desempenho.

Os peixes alimentados com menores níveis de proteína tiveram maior deposição de gordura na carcaça devido a maior relação energia:proteína, assim como o excesso de PB no segundo experimento que foi usado para produzir lipídeos.

A taxa de sobrevivência parece estar relacionada com a exigência mínima de proteína, assim como a melhor qualidade de água. Sendo que peixes menores mostraram maior habilidade em lidar com dietas com maior teor de carboidratos.

O baixo valor nutricional do flocos provavelmente afetado pelo excesso de sólidos pode ter comprometido sua contribuição como fonte de alimento para juvenis de tilápias.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O biofloco é uma fonte adicional de alimento para peixes filtradores como a tilápia do Nilo, por isso é necessário estratégias para otimizar seu aproveitamento, como ajustar a melhor densidade de estocagem, taxa de alimentação e a frequência alimentar.

São necessários mais trabalhos de nutrição em biofloco com tilápias para determinar o nível de inclusão máxima de PB para juvenis de tilápias do Nilo de 10 a 50g. Além de determinar a melhor energia bruta para este sistema.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M. H.; KHATTAB, Y. A. E.; SHALABY, A. M. E. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, v. 298, p. 267-274, 2010.

ALVES, G. F. O. Produção de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema com bioflocos: efeito do momento de transferência dos alevinos para o sistema. 2013. 57 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

AMINOT A., CHAUSSEPIED, M. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, CNEXO, 1983. 395 p.

AOAC (association official analytical chemists). Official methods of analysis. 18 ed. Washington, D. C.: AOAC, 2005. 101 p.

APHA (American Public Health Association). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20st edition. Washington, DC. 1998. 1193 p.

ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M. A.; VERDEGEM, M. C. J.; BENERJEE, S.; AKTER, T.; HASAN, M. M.; AZIM, M. E. Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems. *Aquaculture*, v. 287, p. 371-380, 2009.

ASADUZZAMAN, M.; RAHMAN, M. M.; AZIM, M. E.; ISLAM, M. A.; WAHAB, M. A.; VERDEGEM, M. C. J.; VERRETH, J. A. J. Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. *Aquaculture*, v. 306, p.127-136, 2010.

AVNIMELECH, Y., MOKADY, S., SCHROEDER, G. L. Circulated ponds as efficient bioreactors for single cell protein production. *Bamidgeh*, v. 41, p. 58-66, 1989.

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

AVNIMELECH, Y.; RITVO, G. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*, v. 220, p. 549-567, 2003.

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

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

AVNIMELECH, Y.; KOCHBA, M. of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using <sup>15</sup>N tracing. *Aquaculture*, v. 287, 163-168, 2009.

AVNIMELECH, Y. *Biofloc technology: A practical guide book*. Baton Rouge, Louisiana-United States, The World Aquaculture Society. 2009, 182 p.

AZAZA, M. S.; DHRAIEF, M. N.; KRAIEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of Thermal Biology*, v. 33, p. 98-105, 2008.

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

AZIM, M. E.; LITTLE, D. C.; BRON, J. E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 3590-3599, 2008.

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

BENDSCHNEIDER, K.; ROBINSON, R. J. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research*, v. 11, p. 87-96, 1952.

BENLI, A. Ç. K.; KÖKSAL, G. The Acute Toxicity of Ammonia on Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Larvae and Fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, v. 29, p. 339-344, 2005.

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

BOTARO, D.; FURUYA, W. M.; SILVA, L. C. R.; SANTOS, L. D.; SILVA, T. S. C.; SANTOS, V. G. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p. 517-525, 2007.

BOYD, C. E. Phosphorus dynamics in ponds. Proceedings of 25<sup>th</sup> Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners 25, v. 25, p. 418-426, 1971.

BOYD, C. E. Pond water aeration systems. Aquacultural Engineering, v. 18, p. 9-40, 1998.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Nutrient and microbial dynamics in high intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, v. 219, p. 393-411, 2003.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture, v. 232, p. 525-537, 2004.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture, v. 270, p. 1-14, 2007.

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

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

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture, v. 356-357, p. 351-356, 2012.

DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. Aquaculture, v. 277, p. 125-137, 2008.

DE SCHRYVER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, v.100, p. 1162-1167, 2009.

DEFOIRDT, T.; HALET, D.; VERVAEREN, H.; BOON, N.; VAN DE WIELE, T.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The bacterial storage compound poly- $\beta$ -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environmental Microbiology*, v. 9, p. 445-452, 2007.

DIXON, j. b. The effect of obesity on health outcomes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 316, p. 104-108, 2010.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, v. 257, p. 346-358, 2006.

EKASARI, J.; ANGELA, D.; WALUYO, S. H.; BACHTIAR, T.; SURAWIDJAJA, E. H.; BOSSIER, P.; DE SCHRYVER, P. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, v. 426-427, p. 105-111, 2014.

EKASARI, J.; RIVANDI, D. R.; FIRDAUSI, A. P.; SURAWIDJAJA, E. H.; ZAIRIN JR., M.; BOSSIER, P.; DE SCHRYVER, P. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*, v. 441, p. 72-77, 2015.

EL-SAYED, D. M. S. D.; GABER, M. M. A. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) cultured in concrete tanks. *Aquaculture*, v. 36, p. 163-171, 2005.

EL-SAYED, A. M.; TESHIMA, S. Protein and energy requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture*, v. 103, p. 55-63, 1992.

EL-SAYED, A. M. *Tilapia culture*. CABI Publishing, Oxfordshire, U.K., 2006, 277 p.

EL-SHERIF, M. S.; EL-FEKY, A. M. Effect of ammonia on Nile tilapia (*O. niloticus*) performance and some hematological and histological measures. International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Ismailia, 2008, 18 p.

EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E. L. C.; CAVALLI, R. O.; WASIELESKY, W. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, v. 43, p. 447-457, 2012.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. In: MATOVIC, M. D. (Ed.). *Biomass Now: Cultivation and Utilization*. Manhattan: InTech, 2013. p. 301-328.

EMERSON K., RUSSO, R. C.; LUND, R. E.; THURSTON, R. V. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, v. 32, p. 2379-2383, 1975.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Yearbook of Fishery Aquaculture Statistics, 2012 Capture Production*. Rome, Italy, 2012, 105 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, Italy, 2014, 243 p.

FRANCIS-FLOYD, R.; WATSON, C.; PETTY, P.; POWDER, D. B. Ammonia in Aquatic Systems. FA 16, 1990. University of Florida, IFAS extension, FA 16, 1990, 5 p.

FURUYA, W. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B.; SOARES, C. M. Exigência de Proteína para Alevino Revertido de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, p. 1912-1917, 2000.

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; MACEDO, R. M. G.; SANTOS, V. G.; SILVA, L. C. R.; SILVA, T. C.; FURUYA, V. R. B.; SALES, P. J. P. Aplicação do Conceito de Proteína Ideal para Redução dos Níveis de Proteína em Dietas para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, p. 1433-1441, 2005.

FURUYA, W. M.; FUJII, K. M.; SANTOS, L. D.; SILVA, T. S. C.; SILVA, L. C. R.; SALES, P. J. P. Exigência de fósforo disponível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, p. 1517-1522, 2008.

FURUYA, W. M. Tabelas Brasileiras para a nutrição de tilápias. Gráfica Editora, Toledo, 2010, 100 p.

GODA, A. M. A. S.; EL-HAROON, M. E. W. E. R.; CHOWDHURY, M. A. K. Growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) and tilapia galilae *Sarotherodon galilaeus* (Linnaeus, 1758) fingerlings fed plant protein-based diets. *Aquaculture Research*, v. 38, p. 827-837, 2007.

GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; HISANO, H.; ROSA, M. J. S. Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do Nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 2289-2298, 2009.

HAFEDH, Y. S. A. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, v. 30, p. 385-393, 1999.

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

HARGREAVES, J. A. Biofloc Production Systems for Aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center Publication, v. 4503, p. 1-12, 2013.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M.; MEURER, F. Exigência de Proteína Digestível para Larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a Reversão Sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, p. 823-828, 2002.

HAYLOR, G.S.; BEVERIGDE, M.C.M.; JAUNCEY, K. Phosphorus nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus*. In: The second international symposium on tilapia in aquaculture, 1998, Manila, p. 341-345, 1988.

JIN, K.; SIMPKINS, J. W.; JI, X.; LEIS, M.; STAMBLER, I. The Critical Need to Promote Research of Aging and Aging-related Diseases to Improve Health and Longevity of the Elderly Population. *Aging and Disease*, v. 6, p. 1-5, 2015.

KPUNDEH, M. D.; QIANG, J.; HE, J.; YANG, H.; XU, P. Effects of dietary protein levels on growth performance and haemato-immunological parameters of juvenile genetically improved farmed tilapia (GIFT), *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*, v. 23, p. 1189-1201, 2015.

KUHN, D. D.; LAWRENCE, A. L.; BOARDMAN, G. D.; PATNAIK, S.; MARSH, L.; FLICK JR., G. J. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, v. 30, p. 28-33, 2010.

LARUMBE-MORÁN, E.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; OLVERA-NOVOA, M. A.; ROSTRO, C. I. P. Protein requirements of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured at different salinities. *Aquaculture Research*, v. 41, p. 1150-1157, 2010.

LEM, A.; BJORN DAL, T.; LAPPO, A. Economic analysis of supply and demand for food up to 2030 - *Special focus on fish and fishery products*. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1089, Rome, FAO, 2014, 106 p.

LI, Y.; BORDINHON, A. M.; DAVIS, D. A.; ZHANG, W.; ZHU, X. Protein: energy ratio in practical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*, v. 21, p. 1109-1119, 2013.

LIANG, W.; LUO, G.; TAN, H.; MA, N.; ZHANG, N.; LI, L. Efficiency of biofloc technology in suspended growth reactors treating aquacultural solid under intermittent aeration. *Aquacultural Engineering*, v. 59, p. 41-47, 2014.

LIM, C.; WEBSTER, C. D. *Tilapia: biology, culture, and nutrition*. New York, Food Products Press, 2006, 704 p.

LIM, C.; AKSOY, M. Y.; KLESIUS, P. Lipid and Fatty Acid Requirements of Tilapias. *North American Journal Aquaculture*. v. 73, p. 188-193, 2011.

LITTLE, D. C.; MURRAY, F. J.; AZIM, E.; LESCHEN, W.; BOYD, K.; WATTERSON, A.; AND YOUNG, J. A. Options for producing a warm water-fish in the UK: limits to “Green Growth”? *Trends in Food Science & Technology*, v. 19, p. 255-264, 2008.

LONG, L.; YANG, J.; LI, Y. GUAN, C.; WU, F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. v. 448, p. 135-141, 2015.

LORENZO, M. A.; SCHVEITER, R.; ESPIRITO SANTO, C. M.; CANDIA, E. W. S.; MOURINO, J. L. P.; LEGARDA, E. C.; SEIFFERT, W. Q.; VIEIRA, F. N. Intensive hatchery performance of the Pacific white shrimp in biofloc system. *Aquacultural Engineering*, v. 67, p. 53-58, 2015.

LOVELL, R. T. Nutrition of aquaculture species. *Journal of Animal Science*, v. 69, p. 4193-4200, 1991.

LOUM, A. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and survival rate of fry monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* reared under re-circulating system. *Journal of Biology and Life Science*. v. 4, p. 1-10, 2013.

LUIS-VILLASEÑOR, I. E.; VOLTOLINA, D.; AUDELO-NARANJO, J. M.; PACHECO-MARGES, M.R.; HERRERA-ESPERICUETA, V. E.; ROMERO-BELTRÁN, E. Effects of biofloc promotion on water quality, growth, biomass yield and heterotrophic community in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) experimental intensive culture. *Italian Journal of Animal Science*. v. 14, p. 332-337, 2015.

LUO, G.; AVNIMELECH, Y.; PAN, Y.; TAN, H. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. *Aquacultural Engineering*, v. 52, p. 73-79, 2013.

LUO, G.; GAO, Q.; WANG, C.; LIU, W.; SUN, D.; LI, L.; TAN, H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*, v. 422-423, p. 1-7, 2014.

MEGAHED, M. E. The Effect of Microbial Biofloc on Water Quality, Survival and Growth of the Green Tiger Shrimp (*Penaeus Semisulcatus*) Fed with Different crude Protein Levels. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, v. 5, p. 1-24, 2010.

MENEZES, R. F.; ATTAYDE, J. L.; VASCONCELOS, F. R. Effects of omnivorous filter-feeding fish and nutrient enrichment on the plankton community and water transparency of a tropical reservoir. *Freshwater Biology*, v. 55, p. 767-779, 2010.

MPA (Ministério da pesca e aquacultura). Boletim estatístico da pesca e aquacultura. Brasil: MPA. 2011, 60 p.

NETO, R. M.; OSTRENSKY, A. Evaluation of commercial feeds intended for the Brazilian production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): nutritional and environmental implications. *Aquaculture nutrition*, v. 21, p. 311-320, 2015.

NG, W.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Reviews in Aquaculture*, v. 5, p. 220-254, 2013.

NRC (National research council). Nutrient requirement of fish and shrimp. Washington: National Academic Press, 2011. 376 p.

OGUNJI, J. O.; WIRTH, M. Effect of Dietary Protein Content and Sources, on Growth, Food Conversion and Body Composition of Tilapia *Oreochromis niloticus* Fingerlings. Session: Sustainable Technology Development in Animal Agriculture. Deutscher Tropentag. Berlin, 1999, 10 p.

OGUNJI, J. O.; WIRTH, M. influence of dietary protein deficiency on amino acid and fatty acid composition in tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, v. 54, p. 64-72, 2002.

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

POLI, M. A.; SCHVEITZER, R. ; NUÑER, A. P. O. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. *Aquacultural Engineering*, v. 66, p. 17-21, 2015.

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

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

RAY, A. J. Biofloc Technology For Super-Intensive Shrimp Culture. In: AVNIMELECH, Y. (Ed.). *Biofloc Technology: A Practical Guidebook*. World Aquaculture Society, p. 167-188, 2012.

RIBEIRO, F. B.; LANNA, E. A. T.; BOMFIM, A. M. D.; DONZELE, J. L.; FREITAS, A. S.; SOUSA, M. P.; QUADROS, M. Níveis de fósforo total em dietas para alevinos de tilápia-do-nylo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 35, p. 1588-1593, 2006.

ROSS, L.G. Environmental physiology and energetics. In *Tilapias: biology and exploitation*. Edited by M. C. M. Beveridge and B.J. McAndrew. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. p. 89-128. 2000.

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

SANDERSON, S. L.; STEBAR, M. C.; ACKERMANN, K. L.; JONES, S. H., BATJAKAS, I. E.; KAUFMAN, L. Mucus entrapment of particles by a suspension-feeding tilapia (Pisces: Cichlidae). *Journal Experimental Biology*, v. 199, p. 1743-1756, 1996.

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

SHIAU, S.; PENG, C. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. Aureus*. *Aquaculture*, v. 117, p. 327-334, 1993.

SILVA, C. F.; BALLESTER, E.; MONSERRAT, J.; GERACITANO, L.; WASIELESKY JR. W.; ABREU, P. C. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. *Aquaculture nutrition*, v. 14, p. 507-514, 2008.

SILVA, K. R.; WASIELESKY JR., W.; ABREU, P. C. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*. v. 44, p. 1-12, 2013.

SINGH, R. K.; CHAVAN, S. L.; DESAI, A. S.; KHANDAGALE, P. A. Influence of dietary protein levels and water temperature on growth, body composition and nutrient utilization of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) fry. *Journal of Thermal Biology*, v. 33 p. 20-26, 2008.

SMITH, J. C.; SANDERSON, S. L. Mucus function and crossflow filtration in a fish with gill rakers removed versus intact. *The Journal of Experimental Biology*, v. 210, p. 2706-2713, 2007.

SUPONO, J. H.; PRAYITNO, S. B.; DARMANTO, Y. S. The effect of different C:N and C:P ratio of media on the content of polyhydroxybutyrate in biofloc inoculated with bacterium *Bacillus cereus*. *Journal of Coastal Development*, v.16, p. 114-120, 2013.

SULOMA, A.; MABROKE, R. S.; EL-HAROON, E. R. Meat and bone meal as a potential source of phosphorus in plant-protein-based diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture International*, v. 21, p. 375-385, 2013.

TACON, A. G. J.; METIAN, M. Fish Matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. *Reviews in Fisheries Science*, v. 21, p. 22-38, 2013.

TORRES-NOVOA, D. M.; HURTADO-NERY, V. L. Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) Orinoquia, v. 16, p. 1-6, 2012.

TRAN-DUY, A.; SCHRAMA, J. W.; DAM, A. A. V.; VERRETH, J. A. J. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, v. 275, p. 152-162, 2008a.

TURKER, H.; EVERSOLE, A. G.; BRUNE, D. E. Effect of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), size on phytoplankton filtration rate. *Aquaculture Research*, v. 34, p. 1087-1091, 2003a.

TURKER, H.; EVERSOLE, A. G.; BRUNE, D. E. Comparative Nile tilapia and silver carp filtration rates of Partitioned Aquaculture System phytoplankton. *Aquaculture*, v. 220, p. 449-457, 2003b.

TURKER, H. Clearance rates of suspended particulate organic carbon by Nile tilapia with a dual pattern of filter feeding. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, v. 56, p. 29-34, 2004.

UNESCO. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides, v.12, Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France. 1983.

VINATEA, L.; GÁLVEZ, A. O.; BROWDY, C. L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B. L.; LAWSON, A.; SHULER, A.; LEFFLER, J. W. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, v. 42, p. 17-24, 2010.

WANG, G.; YU, E.; XIE, J.; YU, D.; LI, Z.; LUO, W.; QIU, L.; ZHENG, Z. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, v. 443, p. 98-104, 2015.

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

WIDANARNI; EKASARI, J.; MARYAM, S. Evaluation of Biofloc Technology Application on Water Quality and Production Performance of Red Tilapia *Oreochromis* sp. Cultured at Different Stocking Densities. *HAYATI Journal of Biosciences*, v. 19, p. 73-80, 2012.

WUERTZ, S.; SCHULZE, S. G. E.; EBERHARDT, U.; SCHULZ, C.; SCHROEDER, J. P. Acute and chronic nitrite toxicity in juvenile pike-perch (*Sander lucioperca*) and its compensation by chloride. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 157, p. 352-360, 2013.

XU, W.; PAN, L. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture*, v. 356-357, p. 147-152, 2012.

XU, W.; PAN, L.; ZHAO, D.; HUANG, J. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, v. 350-353, p. 147-153, 2012.

XU, W.; PAN, L. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. *Aquaculture Research*, p. 1-10, 2013.

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

YAO, Y. F.; JIANG, M.; WEN, H.; WU, F.; LIU, W.; TIAN, J.; YANG, C. G. Dietary phosphorus requirement of GIFT strain of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in freshwater. *Aquaculture Nutrition*, v. 20, p. 273-280, 2014.

YUN, H.; SHAHKAR, E.; KATYA, K.; JANG, I.; KIM, S. K.; BAI, S. C. Effects of bioflocs on dietary protein requirement in juvenile whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, p. 1-12, 2015.

ZHAO, P.; HUANG, J.; WANG, X.; SONG, X.; YANG, C.; ZHANG, X.; WANG, G. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, v. 354-355, p. 97-106, 2012.