

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

MANEJO E NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS EM SISTEMA BFT

TESE DE DOUTORADO

Emerson Giuliani Durigon

Santa Maria, RS
2022

Emerson Giuliani Durigon

MANEJO E NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS EM SISTEMA BFT

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal – Nutrição de Peixes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia**.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lazzari

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Durigon, Emerson Giuliani
MANEJO E NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS EM SISTEMA BFT /
Emerson Giuliani Durigon.- 2022.
110 p.; 30 cm

Orientadora: Rafael Lazzari
Tese (livre-docência) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, RS, 2022

1. Biflocos 2. Enzimas oxidativas 3. Ganho
compensatório 4. *Oreochromis niloticus* I. Lazzari ,Rafael II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, EMERSON GIULIANI DURIGON, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese (livre-docência)) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Emerson Giuliani Durigon

MANEJO E NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS EM SISTEMA BFT

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal – Nutrição de Peixes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), com requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia**.

Aprovada em 15 de setembro de 2022:

Rafael Lazzari, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Diogo Luiz de Alcantara Lopes, Dr. (UDESC) - videoconferência

Giovani Taffarel Bergamin, Dr. (UNIPAMPA) - videoconferência

Giovanni Lemos de Melo, Dr. (UDESC) - videoconferência

Naglezi de Menezes Lovatto, Dra. (UFSM) - videoconferência

Santa Maria, RS
2022

**Dedico este trabalho a Deus,
meus familiares,
amigos e colegas**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos por todo o apoio

Ao meu orientador Rafael Lazzari,

A Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade,

Aos meus amigos em especial (Thamara, Luiza, Eduardo, Samuel, Maicon e Tayna), por todo o apoio aprendido, parceria e força de vontade,

A todos os colaboradores do laboratório de piscicultura da UFSM-PM, pela ajuda em especial (Roberta, Mara, Giulia, Juliano e Nilce),

A empresa BIOAQUA, pela oportunidade de ingressar no mercado de trabalho,

A piscicultura Peixe Zago, pela oportunidade, confiança, parceria,

A todos os meus amigos,

A todos que torcem por mim:

MUITO OBRIGADO

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

MANEJO E NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS EM SISTEMA BFT

AUTOR: EMERSON GIULIANI DURIGON
ORIENTADOR: RAFAEL LAZZARI

A produção de tilápias está em franca expansão em todo o mundo. Entretanto, problemas ambientais, sanitários e hídricos têm causado preocupações para os produtores. Neste cenário, tem se buscado na produção de tilápias alternativas para estes problemas, como a utilização do sistema de bioflocos (BFT). Esta tecnologia tem se mostrado excelente alternativa, principalmente para otimizar a produção de juvenis maiores e mais resistente a doenças, reduzindo o ciclo de cultivo. Uma das grandes preocupações com este sistema é a quantidade excessiva de sólidos sedimentáveis, que apesar de serem ricos em nutrientes, se não forem reutilizados de forma correta poderão ser fonte de poluição ambiental. O objetivo geral do trabalho foi avaliar respostas metabólicas de tilápias em diferentes sistemas de produção e manejos em sistema BFT, além de avaliar a inclusão de farinha de bioflocos em dietas para esta espécie. Ao todo, foram conduzidos 3 ensaios biológicos. No primeiro, foi avaliado o perfil lipídico, parâmetros metabólicos e oxidativos e a composição bromatológica do filé de tilápias cultivadas durante 150 dias em sistema de bioflocos e tanque de terra. No segundo, foi avaliado o crescimento compensatório de tilápias criada em altas densidades em BFT e transferidas para sistema de recirculação com baixa densidade durante 60 dias. No terceiro trabalho foi avaliada a inclusão de farinha de bioflocos (4, 8, 12 e 16%) na ração de tilápias durante 49 dias. No primeiro experimento, os peixes criados em sistema BFT apresentaram melhora na qualidade do filé e no metabolismo dos peixes, sem alteração do perfil lipídico. No segundo e no terceiro experimento o BFT (tanto o sistema como a inclusão da farinha) mostrou ser uma excelente fonte de proteção contra o estresse oxidativo, pois as tilápias apresentaram respostas metabólicas significativas. As tilápias criadas em altas densidade em um período inicial de 30 dias podem apresentar um crescimento compensatório após esse período. Quanto a inclusão da farinha de bioflocos na dieta, observou-se altas inclusões podem limitar o crescimento dos peixes.

Palavras-Chave – Bioflocos. Enzimas oxidativas. Ganho compensatório. *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

Thesis of Doctorate
Post Graduate Program in Animal Science
Federal University of Santa Maria

MANAGEMENT AND NUTRITION OF TILAPIA IN BFT SYSTEM

AUTHOR: EMERSON GIULIANI DURIGON
ADVISOR: RAFAEL LAZZARI

Tilapia production is booming all over the world. However, environmental, sanitary and water problems have caused concerns for producers. In this scenario, alternative tilapia production for these problems has been sought, such as the use of the biofloc system (BFT). This technology has proven to be an excellent alternative, mainly for optimizing the production of larger and more disease-resistant juveniles, reducing the cultivation cycle. One of the major concerns with this system is the excessive amount of sedimentable solids, which despite being rich in nutrients, if not reused correctly, could be a source of environmental pollution. The general objective of this work was to evaluate metabolic responses of tilapia in different production systems and management in BFT system, in addition to evaluating the inclusion of biofloc flour in diets for this species. In all, 3 biological assays were conducted. In the first, the lipid profile, metabolic and oxidative parameters and the bromatological composition of tilapia fillet grown for 150 days in a biofloc system and soil tank were evaluated. In the second, the compensatory growth of tilapia reared at high densities in BFT and transferred to a recirculation system with low density for 60 days was evaluated. In the third work, the inclusion of biofloc flour (4, 8, 12 and 16%) in the tilapia diet for 49 days was evaluated. In the first experiment, fish reared in the BFT system showed improvement in fillet quality and fish metabolism, without changing the lipid profile. In the second and third experiments, BFT (both the system and the inclusion of flour) proved to be an excellent source of protection against oxidative stress, as tilapia showed significant metabolic responses. Tilapia reared at high density in an initial period of 30 days may show compensatory growth after this period. As for the inclusion of biofloc flour in the diet, it was observed that high inclusions can limit fish growth.

Keywords – Biofloc. Oxidative enzymes. Compensatory gain. *Oreochromis niloticus*

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO II

- FIGURA 1. Esquema ilustrativo do desenho experimental 73
- FIGURA 2. Volume de sólidos sedimentáveis para tilápias cultivadas em sistema de bioflocos por 60 dias. 74
- FIGURE 3: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado e músculo de tilápias cultivadas em sistema de bioflocos (BFT) e água clara (AC) com diferentes densidades de estocagem..... 75

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

| | |
|---|----|
| TABELA 1 Densidade de estocagens de tilápias recomendadas para as diferentes fases em diferentes sistemas de produção | 19 |
| TABELA 2 Composição bromatológica da farinhas de bioflocos | 24 |

MANUSCRITO I

| | |
|---|----|
| TABLE 1: Organosomatic parameters of tilapia reared in biofloc systems (BFT) and earthen ponds (EP) (mean \pm standard deviation) | 34 |
| TABLE 2: Bromatological composition of biofloc and fillet of tilapia created in biofloc system (BFT) and earth ponds (EP) (mean \pm standard deviation)..... | 34 |
| TABLE 3: Fatty acid composition (% of total identified fatty acids) of the biofloc, fillet and whole body of tilapia raised in a biofloc system (BFT) and earth ponds (EP)..... | 35 |
| TABLE 4: Biochemical parameters of tilapia created in a biofloc system (BFT) and earth ponds (EP) (mean \pm standard deviation)..... | 37 |

MANUSCRITO II

| | |
|--|----|
| TABELA 1. Parâmetros de qualidade da água para tilápias cultivadas em sistema de bioflocos (BFT) e água clara (AC) | 67 |
| TABELA 2. Desempenho de tilápias cultivadas em sistema de água clara com 100 peixes por m ³ (AC 100) e em sistema de bioflocos com 750 e 1500 peixes por m ³ (BFT 750 e BFT 1500) nos primeiros 30 dias de experimento | 68 |
| TABELA 3. Desempenho de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades | 69 |
| TABELA 4. Composição bromatológica e índices de deposição de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades | 70 |
| TABELA 5. Parâmetros organossomáticos de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades..... | 71 |
| TABELA 6. Parâmetros bioquímicos de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades..... | 72 |

MANUSCRITO III

| | |
|---|-----|
| TABELA 1. Formulação das dietas com o aminograma e a composição aminoácídica baseada nos ingredientes utilizados | 96 |
| TABELA 2. Parâmetros de crescimento de tilápia alimentadas por 49 dias com rações contendo diferentes níveis de farinha de bioflocos..... | 98 |
| TABELA 3. Índices organossomáticos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo diferentes níveis de farinha de bioflocos..... | 99 |
| TABELA 4. Composição centesimal de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo diferentes níveis de farinha de bioflocos..... | 100 |
| TABELA 5. Parâmetros hematológicos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo diferentes níveis de farinha de bioflocos..... | 101 |
| TABELA 6. Parâmetros oxidativos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo diferentes níveis de farinha de bioflocos..... | 102 |

SUMÁRIO

| | |
|--|------------|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 SISTEMA DE PRODUÇÃO “BFT” | 15 |
| 2.2 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM ÁGUA CLARA (RAS) X BIOFLOCOS (BFT)..... | 16 |
| 2.3 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM BIOFLOCOS | 17 |
| 2.4 DENSIDADE DE ESTOCAGEM..... | 18 |
| 2.5 ASPECTOS NUTRICIONAIS E UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE BIOFLOCOS NA DIETA PARA PEIXES | 22 |
| 3 OBJETIVOS | 26 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 26 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 26 |
| 4 DESENVOLVIMENTO | 27 |
| 4.1 CAPITULO I..... | 28 |
| Lipid profile and metabolic parameters of tilapia in the finishing phase in earth ponds and biofloc | 28 |
| 4.2 CAPITULO II..... | 46 |
| Ganho compensatório e resposta oxidativa de tilápias cultivadas em altas densidades em sistema de bioflocos e transferidas para sistema de água clara | 46 |
| 4.3 CAPITULO III | 76 |
| Utilização de farinha de bioflocos para alimentação de tilápias | 76 |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 103 |
| REFERENCIAS BLIBLIOGÁFICAS..... | 104 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

O crescente aumento da população mundial e a preocupação com a preservação dos recursos naturais têm impulsionado sistemas mais intensivos de produção que não prejudicam o meio ambiente. Um exemplo disto é o sistema de bioflocos (BFT - da sigla em inglês “Biofloc Technology”) que foi desenvolvido na década de 1970, pelo Instituto Francês de Investigação (IFREMER) para a produção de camarão marinho com troca mínima de água (EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2013).

Dentre as diversas vantagens deste sistema destacam-se a biosseguridade (cultivos controlados), produção de grandes quantidades de biomassa de pescado em um pequeno espaço (EMERENCIANO et al., 2017) e o aspecto nutricional onde, os flocos também servem de alimento para os animais cultivados (CRAB et al., 2007; AVNIMELECH; KOCHBA, 2009), suprimindo em algumas espécies boa parte da demanda proteica (AZIM; LITTLE, 2008). O sistema de produção pode interferir diretamente na exigência de nutriente a ser ofertada para o animal, Azim e Little (2008) relataram que é possível uma redução de 11% nos níveis de proteína bruta das dietas de juvenis de tilápias cultivadas em BFT. Outro fator importante é a utilização de maiores densidades de estocagem (LIMA et al., 2015).

A Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de peixe mais cultivada no Brasil, com 63,5% do total da produção nacional em 2021 (PEIXE BR, 2022). Também é a terceira espécie de peixe mais produzida no mundo atrás apenas das carpas (carpa capim, *Ctenopharyngodon idellus*, e carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix*, com produção de 4407 mil toneladas em 2018 e aumento de aproximadamente 8% entre os anos de 2016 a 2018 (FAO, 2020). Deste total de volume produzido, o Brasil contribui com 432.149 toneladas tornando-o o 4º maior produtor mundial desta espécie, atrás apenas da China, Indonésia e Egito (PEIXE BR, 2020). Alguns fatores têm contribuído para o aumento da produção desta espécie, como rusticidade, crescimento acelerado, hábito alimentar onívoro, boa conversão alimentar, características organolépticas da carne, ausência de espinhos intramusculares e boa aceitação no mercado consumidor (EL-SAYED, 2006).

A tilápia é a espécie de peixe mais pesquisada em sistema de BFT, no entanto os trabalhos que comparam o sistema de bioflocos com o sistema de água clara são para fases específicas de criação, como por exemplo, para a fase de alevinos entre 1 e 20g (LOVERA et al., 2017; FLECKENSTEIN; TIERNEY; RAY, 2018), e a fase de juvenil entre 50 e 200g (AZIM; LITTLE, 2008; LONG et al., 2015; MANSOUR; ESTEBAN, 2017). Somente Luo et al. (2014) avaliou tilápias criadas em sistema de água clara e bioflocos com maior peso final

(600 g), entretanto em todos os trabalhos o sistema de bioflocos é comparado com o sistema de AC, o que não reflete o sistema comumente mais utilizado, que é em tanque de terra com a presença de microalgas.

Outro fator que tem sido comumente estudado em sistema de bioflocos para a produção de tilápia é a densidade de estocagem (EKASARI; MARYAM, 2012; BROL et al., 2017; HARIDAS et al., 2017; LIMA et al., 2015b, 2018; LIU et al., 2018; VIEIRA et al., 2019) Para tilápias de aproximadamente 1g alguns autores tem mostrado que a melhor densidade é de aproximadamente 750 a 800 peixes por m³ (BROL et al., 2017; LIMA et al., 2018; VIEIRA et al., 2019). Entretanto, observa-se que há necessidade de avaliação da densidade em outras fases de cultivo em sistema de BFT, sendo que algumas perdas no crescimento podem ser irreversíveis, por outro lado, pode haver crescimento compensatório e rápida recuperação no desempenho (GALLARDO-COLLÍ et al., 2020).

Apesar dos avanços da pesquisa sobre o uso de fontes alternativas de proteínas na alimentação da aquicultura, as fontes tradicionais, como farinha de peixe e farelo de soja, ainda são ingredientes padrão, especialmente para espécies onívoras (KUMAR et al., 2017). Nesse sentido, muitos estudos se concentraram em novas perspectivas nutricionais, como fontes alternativas de proteínas vegetais e subprodutos de animais. Uma alternativa pode ser a farinha de bioflocos que pode contribuir como uma fonte proteica (AZIM; LITTLE, 2008; XU; PAN, 2012), Esta farinha é uma excelente fonte de ácidos graxos (AZIM; LITTLE, 2008; CRAB et al., 2010; EKASARI; CRAB; VERSTRAETE, 2010; TOLEDO et al., 2016), sendo que alguns podem ser encontrados em grandes quantidades como o C20:4n6, que apresenta valores cinco vezes maior no bioflocos quando comparado a ração fornecida para os peixes, além de ser importante fonte de PUFA (TOLEDO et al., 2016) contribuindo para o crescimento e a saúde dos peixes (HARIDAS et al., 2017).

Neste intuito, este trabalho comparou tilápias criadas em sistema de bioflocos com criadas em viveiros de terra, além de avaliar o desempenho de tilápias após um período com altas densidades, e o uso de farinha de bioflocos na ração para a alimentação de tilápias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SISTEMA DE PRODUÇÃO “BFT”

Apesar do cenário crescente, a aquicultura brasileira ainda enfrenta alguns problemas, entre eles a dificuldade em obter licenciamento ambiental e a falta de alevinos e juvenis de qualidade (PEIXE BR 2022). Por isso é de grande importância o desenvolvimento de tecnologias que aumentem a oferta de juvenis de tilápia de qualidade, para que assim todos os produtores tenham acesso a estes peixes.

Soma-se a isso a ocorrência de problemas sanitários como surtos de ectoparasitoses, ou doenças causadas por fungos, bactérias e mais recentemente vírus, preocupam os produtores e podem causar enormes prejuízos para a tilapicultura mundial (FAO, 2020). Além disso, no Brasil outro problema que preocupa os aquicultores é a crise hídrica vivenciada nos últimos anos. Importantes reservatórios no nordeste e sudeste brasileiro chegaram a níveis muito baixos, que inviabilizam a atividade. Exemplos são os reservatórios do Castanhão no Ceará (FIESP, 2018).

O sistema de bioflocos (BFT) surge como alternativa de sistema de produção mais sustentável, pois tem uma relação C/N controlada, possibilitando altas produções com troca de água zero, somente repõe a água de evaporação (SAMOCHA et al., 2010). Este sistema foi desenvolvido na década de 1970, pelo Instituto Francês de Investigação IFREMER, para a produção com troca mínima de água (SAMOCHA et al., 2010). Esta tecnologia é empregada com o objetivo de diminuir o descarte de efluentes, melhorar a biossegurança e aumentar as produtividades nos cultivos (WASIELESKY et al., 2006).

Através da manipulação da relação carbono e nitrogênio da água, estimulando o crescimento de comunidades microbianas específicas, principalmente as bactérias heterotróficas há uma ciclagem dos nutrientes (AVNIMELCH, 2007; EMERENCIANO et al., 2012). Esta microbiota também possibilita a maturação e estabilidade do sistema, incorporando a amônia excretada pelos organismos cultivados em biomassa e fomentando a “alça microbiana”. Por causa disso, o sistema de bioflocos proporciona um conjunto de benefícios ao ser aplicado na produção aquícola, como i) disponibilidade contínua de alimento natural e consequente melhoria da conversão alimentar; ii) aumento do controle e biossegurança do cultivo; iii) menor dependência de água para produção; iv) manutenção da qualidade da água, principalmente em relação aos compostos nitrogenados; v) melhora na

saúde do animal, principalmente em relação a competição biológico com patógenos e a consequente inibição da atuação destes (EMERENCIANO et al., 2017).

Atualmente, o uso dessa tecnologia tem sido investigado por várias espécies de peixes, como *Brycon orbignyanus* (SGNAULIN et al., 2018), *Piaractus brachypomus* (CRISTINA et al., 2017), *Rhamdia quelen* (POLI et al., 2015; BATTISTI et al., 2020), *Mugil cf. hospes* (ROCHA et al., 2012), *Cyprinus carpio* (ZHAO et al., 2014). No entanto a tilápia é a espécie de peixe com maior número de pesquisas neste sistema, por isso o objetivo desta revisão é discorrer sobre os principais estudos envolvendo a produção de tilápia em sistema de bioflocos.

2.2 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM ÁGUA CLARA (RAS) X BIOFLOCOS (BFT)

O primeiro trabalho comparando os dois sistemas de produção foi realizado por Azim e Little (2008), que relataram melhorias no desempenho de tilápias criadas em sistema de BFT. Além disso, outros trabalhos mostraram que o sistema de bioflocos traz melhores resultados produtivos para criação de tilápia (LUO et al., 2014; LONG et al., 2015; MANSOUR; ESTEBAN, 2017). Estes autores encontraram melhor conversão alimentar, taxa de crescimento específico e ganho de peso em tilápias criadas em sistema de BFT quando comparado ao sistema de água clara.

Luo et al. (2014) observou uma diminuição significativa no ortofosfato da água, visto que cerca de 80 a 90 % do fósforo consumido pelos peixes é liberado de volta para o sistema (BARAK et al., 2003). Em sistemas de recirculação este fósforo é acumulativo já no sistema de BFT ocorre uma ciclagem dos nutrientes pelos microrganismos. O mesmo foi observado para o nitrato, que em RAS é oriundo da transformação da amônia em nitrito e do nitrito em nitrato, que este é acumulativo no sistema, já no sistema de BFT este composto é reciclado pelos microrganismos (LUO et al., 2014). Long et al. (2015), também observou uma diminuição significativa do nitrato no sistema de BFT comparado ao RAS.

Para os parâmetros hematológicos não foi encontrada diferença estatística quando comparado RAS e BFT para tilápias (AZIM; LITTLE, 2008; LONG et al., 2015). No entanto, Mansour e Esteban, (2017) relataram uma possível melhora no sistema imune dos peixes cultivados em BFT. Isto porque observaram aumento do número de hematócrito, leucócitos e linfócitos, sendo que o aumento de leucócitos pode ser considerado um indicador positivo do estado de saúde dos animais (SECOMBES, 1996).

Também comparando os dois sistemas de produção, Fleckenstein; Tierney e Ray,

(2018) encontraram resultados distintos dos demais trabalhos, mostrando uma piora nos resultados de desempenho para tilápias criadas em BFT. Esse resultado pode estar relacionado ao alto nível de nitrito no sistema, tornando-se tóxico para os peixes e influenciado seu crescimento. No entanto, este pico de nitrito evidencia que o sistema não foi corretamente preparado para o cultivo.

2.3 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM BIOFLOCOS

Historicamente a tecnologia de bioflocos foi desenvolvida com foco na carcinicultura e até hoje é amplamente conhecido na produção de camarão marinho (EMERENCIANO et al., 2013). O primeiro trabalho avaliando o desempenho de tilápias em sistema de BFT foi realizado por Azim e Little (2008), comparando dois níveis proteicos em sistema de bioflocos (24 e 35% PB) e um nível proteico em sistema de água clara (35% PB) com tilápias de aproximadamente 100g por 84 dias e concluiu que até mesmo as tilápias criadas com o nível de 24% PB apresentaram melhores resultados que tilápias alimentadas com 35% PB criadas em água clara. A partir de 2012 ocorreu aumento expressivo do número de publicações científicas avaliando o desempenho de tilápias em BFT. Isto porque, a espécie possui algumas características que a tornam apta a desenvolver-se bem em sistema de BFT e aproveitar a comunidade microbiana disponível como suplemento alimentar.

A aplicação do BFT pode ocorrer em todas as etapas do processo produtivo no cultivo de tilápia, sendo que seus benefícios, quando comparada a um sistema de água clara, vão desde o incremento de 45% da produtividade e redução nos valores de conversão alimentar (AZIM; LITTLE, 2008). Com destaque para a fase de berçário (1 até ~ 30g) onde há grande aproveitamento do alimento natural. Por outro lado, informações sobre os benefícios do sistema para reprodutores e larvas de tilápia ainda são escassas. Ekasari et al. (2013) relatam aumento de 65% na taxa de fecundidade quando cultivado os reprodutores em BFT. Enquanto que para a larvicultura, Ekasari et al. (2015) mostraram maior resistência das larvas criadas em BFT, chegando a ter sobrevivência 33% superior ao tratamento controle em água clara, quando submetida ao uma situação de estresse.

Recentemente tem se avaliado a utilização de tilápias juntamente com o cultivo de camarão a fim de melhorar a qualidade de água e aumentar a retenção de flocos oriundos da produção do camarão, e melhorando também a retenção de nitrito e fósforo do sistema, além de proporcionar um aumento de 31,2 % da rentabilidade do sistema, quando comparado a produção somente de camarão (POLI et al., 2019).

2.4 DENSIDADE DE ESTOCAGEM

A densidade de estocagem tem grande importância na produtividade das fazendas de tilápia e demais espécies. Ao intensificar os cultivos, o objetivo é minimizar custos. Para isso é importante considerar boas práticas de manejo, a fim de não tornar a atividade aquícola uma possível fonte de impacto ambiental e garantir a sustentabilidade econômica. No entanto, cultivos intensivos com altas densidades, necessitam de altas taxas de renovação de água para garantir a qualidade desta, o que gera efluentes com elevadas concentrações de nutrientes e matéria orgânica com risco de eutrofização de ambientes aquáticos adjacentes (ROBLES-PORCHAS et al., 2020). Isso ocorre pela elevada quantidade de ração com elevados níveis de proteína e outros nutrientes que geram resíduos e interferem no meio aquático piorando a qualidade da água (BOYD; CLAY, 1998). Além disso, altas densidades de estocagem requerem altas taxas de troca de água para manter a qualidade da água, que além de aumentando o impacto ambiental como já citado anteriormente, aumenta o risco de introdução de patógenos nos sistemas de produção pela constante renovação de água (ROBLES-PORCHAS et al., 2020).

Além disso a intensificação da produção por área, pode acabar acarretando estresse nos peixes tendo efeito negativo no desempenho zootécnico e desempenho reprodutivo (BARTON, 2002), essa redução do crescimento e da sobrevivência em altas densidades de estocagem é resultado da diminuição de espaço, aumento de canibalismo, competição por alimento, concorrência por espaço, degradação da qualidade da água e do acúmulo de sedimentos indesejáveis no fundo dos viveiros (KRUMMENAUER et al., 2006). Alguns estudos de densidade de estocagem mostram que as taxas de sobrevivência foram afetadas pelo aumento da densidade. Isso se deve muitas vezes ao hábito de territorialíssimo de algumas espécies, onde em altas densidades, a falta de espaço viável gera estresse e leva ao canibalismo (ARNOLD et al., 2005). Entretanto muitas vezes o estresse dos peixes não necessariamente está ligado a densidade de estocagem e sim ao ambiente de cultivo. Costa et al. (2017) avaliando densidades de estocagem entre 250 a 450 peixes/m³ em tanque-rede observou que os níveis de cortisol foram altos em todos os tratamentos e atribuiu o estresse ao sistema produtivo.

Para larvas de tilápia o aumento da densidade traz prejuízos no desempenho em sistema de água clara (TACHIBANA et al., 2008; SILVA et al., 2016). Já em sistema de BFT é possível aumentar a densidade na fase inicial (BROL et al., 2017; HARIDAS et al., 2017;

LIMA et al., 2015a, 2018; LIU et al., 2018; VICENTE et al., 2020) e na fase de crescimento com tilápias de > 50 g (EKASARI; MARYAM, 2012; LIMA et al., 2015a; ZAKI et al., 2020) (Tabela 1). Possibilitando assim maior produção por área e diminuindo problemas com falta de área para implantação desta atividade (FÜLBER et al., 2009). As densidades de estocagem ideais a serem utilizadas variam muito, a depender da espécie, fase de vida, sistema de cultivo e práticas de manejo empregadas em cada unidade produtora. Alguns resultados são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 Densidade de estocagens de tilápias recomendadas para as diferentes fases em diferentes sistemas de produção

| Tratamento (peixes/m ³) | Peso inicial (g) | Sistema | Peso Final (g) | Recomendada (peixes/m ³) | Recomendada (kg/m ³) | Referência |
|--|---------------------|---------|-------------------|---|-------------------------------------|--|
| 1000, 3000, 5000 e 7000 | 0,007 | RAS | 1,6 | 1000 | 0,01 | (TACHIBANA et al., 2008) |
| 1000, 1500 e 2000 | 0,01 | TR | 0,125 | 1500 | 0,02 | (TETTEH-DOKU MENSAH; KLENAM ATTIPOE; ASHUN- JOHNSON, 2013) |
| 167, 333 e 600 | 0,51 | BFT | 16,11 | 333 | 0,17 | (LIU et al., 2018) |
| 150, 200, 250, 300 e 350 | 0,98 | BFT | 14,00 | 350 | 0,34 | (HARIDAS et al., 2017) |
| 500, 750, 1000 e 1250 | 1,02 | BFT | 18,99 | 750 | 0,77 | (LIMA et al., 2018) |
| 1000, 1250 e 1500 | 1,1 | TR | 23,49 | 1000 | 1,10 | (GERALD KWIKIRIZA, A BAREKYE, R MUHEREZE, 2016) |
| 400, 800 e 1200 | 2,12 | TR | 29,03 | 800 | 1,70 | (ASASE et al., 2016) |
| 400 e 800 | 3,06 | BFT | 19,53 | 800 | 2,45 | (BROL et al., 2017) |
| 200, 250 e 300 | 4,07 | TR | 150,79 | 200 | 0,81 | (IVAN et al., 2020) |
| 3, 6 e 9 | 5,01 | TT | 196,35 | 6 | 0,03 | (SHOKO et al., 2014) |
| 50, 90 e 136 | 6,25 | RAS | 269,30 | 50 | 0,31 | (WANG et al., 2019) |
| 200, 300, 400, 500 e 600 | 6,74 | BFT | 28,87 | 500 | 3,37 | (VICENTE et al., 2020) |
| 90, 180 e 360 | 7,0 | RAS | 14,89 | 180 | 1,26 | (LE MOS et al., 2018) |

| | | | | | | |
|---------------------|-------|-----|--------|-----|-------|------------------------------------|
| 50, 75,100 e 125 | 9,15 | TR | 23,10 | 50 | 0,46 | (MONIRUZZAM AN et al., 2016) |
| 50, 75,100 e 125 | 15,20 | TR | 255,53 | 50 | 0,76 | (MONIRUZZAM AN et al., 2016) |
| 250, 350 e 450 | 30,71 | TR | 150,43 | 250 | 7,68 | (COSTA et al., 2017) |
| 50, 100 150 e 200 | 45,96 | TR | 219,71 | 50 | 2,30 | (GIBTAN; GETAHUN; MENGISTOU, 2008) |
| 20, 40 e 60 | 50,47 | BFT | 136,00 | 40 | 2,02 | (ZAKI et al., 2020) |
| 130, 330, 415 e 500 | 78 | TR | 260 | 130 | 10,14 | (GARCIA et al., 2013) |
| 20, 40, 60 e 80 | 94,40 | BFT | 283,19 | 40 | 3,78 | (MANDUCA et al., 2020) |
| 15, 30 e 45 | 123,0 | BFT | 302,51 | 45 | 5,54 | (LIMA et al., 2015b) |
| 25, 50 e 100 | 138,0 | BFT | 275,43 | 100 | 13,80 | (EKASARI; MARYAM, 2012) |
| 90, 120 e 150 | 23,86 | TR | 497,08 | 150 | 3,58 | (SILVA et al., 2002) |
| 100, 130 e 150 | 250 | TR | 809,57 | 150 | 37,50 | (GARCIA et al., 2013) |

RAS: Sistema de recirculação de água clara; BFT: Sistema de bioflocos; TR; Tanque rede; TT: Tanque de terra.

No entanto o aumento da densidade pode ter efeito negativo sobre as enzimas digestivas (LIU et al., 2018), tendo um efeito negativo sobre a digestão e a utilização da ração, resultando em um aumento da conversão alimentar conforme o aumento da densidade (HARIDAS et al., 2017; LIU et al., 2018; VICENTE et al., 2020; ZAKI et al., 2020). Estes resultados podem estar relacionados a uma piora na qualidade de água visto que em tanques com maior densidade de estocagem há uma maior excreção de compostos nitrogenados, e consequentemente maior estresse (VICENTE et al., 2020; ZAKI et al., 2020).

Além disso, o aumento da densidade pode influenciar negativamente a imunidade, isso foi observado pela diminuição da lisozima em *Cyprinus carpio* (YIN; LAM; SIM, 1995). Para tilápia criadas em alta densidade em sistema de BFT também foi observado uma diminuição lisozima hepática e do componente 3 do complemento (esta que é uma proteína do sistema imune), podendo assim prejudicar a resistência à infecção por *Vibrio harveyi* devido à alta densidade de estocagem (LIU et al., 2018), esta que é uma bactéria Gram-negativa que causa doenças nos peixes e camarões, resultando em grandes perdas econômicas aos piscicultores (RANSANGAN; LAL; AL-HARBI, 2012). Resultados semelhantes foram encontrados para

camarão *Litopenaeus vananmei* cultivados em alta densidade, onde se observou uma resistência diminuída contra patógenos, evidenciada por reduções nos parâmetros imunológicos indicando perturbações do sistema imunológico, quando cultivados em alta densidade (LIN et al., 2015).

Em estudo realizado por Haridas et al. (2017), avaliando a intensificação de até 350 tilápias/m³, observou que esta densidade de estocagem não afeta a sobrevivência, imunidade, enzimas oxidativas, glicose e cortisol. Já Liu et al. (2018) observou que o aumento da densidade de 333 para 600 tilápias/m³ traz um efeito negativo para as enzimas antioxidantes e saúde do fígado, podendo assim acabar levando a uma lesão hepática, perda de desempenho e até mesmo a morte. Para tilápias de 50,47g também foi observado um aumento do estresse oxidativo dos peixes em maiores densidade (ZAKI et al., 2020).

Resultados diferentes foram encontrados por Brol et al. (2017) e Lima et al. (2018), que concluiu que é possível cultivar alevinos de tilápia até 800/m³ e 750/m³ respectivamente sem prejuízo no desempenho zootécnico. Vale ressaltar que estes estudos, diferente dos demais usaram baixa salinidade, ~8 à 10 g/L o que pode ter um efeito probiótico na saúde dos animais favorecendo assim a maior lotação dos animais. Níveis ideais de salinidade para tilápias cultivadas em biofloco já foram avaliados por Souza et al. (2019), que avaliou níveis de 0, 4, 8, 12 e 16 g/L e concluiu que níveis acima de 12 podem provocar estresse para as tilápias. Por outro lado, Alvarenga et al. (2018) avaliando os mesmos níveis de salinidade também mostrou piores resultados de desempenho para tilápias cultivadas com 16 g/L de salinidade e concluiu que níveis entre 8 e 12 g/L podem trazer melhoras no desempenho zootécnico.

Garcia et al. (2013) observa que na fase de crescimento entre 78 à 260g é preferível uma densidade de estocagem mais baixa 130 peixes/m³ ou 30kg/m³ pois assim não há necessidade de repicagem dos peixes para a próxima fase pois há uma boa uniformidade do lote. Também foi observado melhor desempenho, conversão alimentar, e o tempo para atingir o tamanho de abate foi menor, consequentemente, o custo de produção diminuiu e o lucro operacional aumentou. Ao usar densidade de estocagem inicial mais baixa, o risco de doenças também é reduzido, consequentemente a taxa de mortalidade diminuem e os níveis de oxigênio dissolvido no interior das gaiolas aumentam (GARCIA et al., 2013).

Entretanto os trabalhos que avaliaram a densidade de estocagem em sistema de BFT já mencionados anteriormente não avaliaram as tilápias após esse período, sendo que algumas perdas no crescimento podem ser irreversíveis, por outro lado, pode haver um crescimento compensatório e uma rápida recuperação no desempenho, podendo estar associado a melhor

utilização da ração, aumento do crescimento e eficiência alimentar, como estratégia do organismo após um fator estressor (GALLARDO-COLLÍ et al., 2020).

O crescimento compensatório já foi demonstrado para camarão submetidos a restrição alimentar em sistema de bioflocos (MACIEL; FRANCISCO; MIRANDA-FILHO, 2018; ROCHA et al., 2019) para tilápia submetidas a períodos de restrição alimentar em sistema de BFT (GALLARDO-COLLÍ et al., 2020), e diferentes períodos de transferência para o sistema de bioflocos (DE OLIVEIRA ALVES et al., 2017). O crescimento compensatório é definido como uma fase de crescimento mais acelerada após o animal passar por um período com condições desfavoráveis, seja pela restrição alimentar, parâmetros de qualidade de água, ou qualquer outro fator que possa causar estresse ao animal (ALI; NICIEZA; WOOTTON, 2003).

Portanto, o desafio na intensificação desta atividade é manter a qualidade da água com características semelhantes às do ecossistema natural, onde a interação de parâmetros físico-químicos como temperatura, oxigênio dissolvido, e a concentração de metabólitos tóxicos mantém um condição estável e propícia para o desenvolvimento dos peixes (ROBLES-PORCHAS et al., 2020)

2.5 ASPECTOS NUTRICIONAIS E UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE BIOFLOCOS NA DIETA PARA PEIXES

Apesar deste sistema de bioflocos apresentar várias vantagens, como já foi relatado anteriormente, este sistema produz uma quantidade considerável de sólidos sedimentáveis, estes sólidos são compostos por restos de ração, fezes, e uma série de micro-organismos, bactérias e microalgas (BROL et al., 2017; MONROY-DOSTA et al., 2013). Neste sistema a quantidade ideal de sólidos na água varia de 200 a 600 mg/L, para a maioria das espécies (GAONA et al., 2015). Quando são identificados quantidades superiores a essa se faz necessário a remoção do sistema e posteriormente tratamento (GAONA et al., 2015). Uma alternativa para este resíduo é a utilização em rações para peixes e camarão como já foi relatado por Yu et al. (2020) para *Opsariichthys kaopingensis*, por Anand et al. (2014) para *Penaeus monodon*, e para *Litopenaeus vannamei* Dantas et al. (2014) e Kuhn et al. (2009, 2010).

Os sólidos presentes neste sistema apresentam elevado nível de proteína e uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (LI et al., 2018). Para camarão, nota-se que parte da exigência proteica pode ser originária dos microrganismos presentes no sistema (MELO et

al., 2015). Para tilápias, inúmeros trabalhos tem evidenciado que esta espécie consegue reter o N do bioflocos e sendo possível reduzir a proteica da dieta desta espécie (EKASARI et al., 2014; MANSOUR; ESTEBAN, 2017; SILVA et al., 2018; GREEN et al., 2019; HISANO et al., 2019; DURIGON et al., 2020). No entanto estes trabalhos avaliaram a produção da tilápia neste sistema e não a utilização da farinha de bioflocos incorporada na ração.

Além da composição proteica o BFT apresenta importante fonte de ácidos graxos e pode contribuir para a alimentação de peixes como já foi relatado por Azim e Little (2008); Crab et al. (2010); Ekasari et al. (2010); Toledo et al. (2016), o que pode contribuir para o crescimento e a saúde (HARIDAS et al., 2017). Alguns ácidos graxos são encontrados em grandes quantidades no bioflocos, como é o caso do C20:4n-6 (pode estar presente em quantidades 5 vezes maior quando comparado à ração), além de ser importante fonte de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (TOLEDO et al., 2016).

Ekasari et al. (2014) usando o isótopo N-estável como indicador confirmou o consumo de bioflocos e absorção de proteína microbiana pelas tilápias cultivadas em sistema de BFT. Sendo que a absorção diária de compostos nitrogenados pelas tilápias pode contribuir com aproximadamente 22 - 28% da proteína diária da alimentação convencional usando uma dieta formulada (AVNIMELECH; KOCHBA, 2009).

Entretanto a composição nutricional da farinha de bioflocos pode ser influenciada por diversos fatores, com a condição ambiental, o nível de sólidos suspensos totais, a intensidade da luz (EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2013), fonte de carbono utilizada (CRAB et al., 2010; LI et al., 2018; LIU et al., 2019), relação C:N (MIRZAKHANI et al., 2019), composição de micro-organismos do sistema, salinidade da água (EKASARI; CRAB; VERSTRAETE, 2010) e a composição lipídica da dieta (TOLEDO et al., 2016) visto que os micro-organismos podem além de fazer a síntese de novos ácidos graxos, fazer a incorporação de novos ácidos graxos nas estruturas lipídicas, fazendo assim o alongamento da cadeia lipídica (EKASARI; CRAB; VERSTRAETE, 2010). O tempo de cultivo do sistema BFT, também pode ser um fator que altere sua composição, pois quanto mais tempo tiver o cultivo há uma tendência de maior aparecimento de dinoflagelados (DURIGON et al., 2020), estes que são os principais responsáveis pela presença de ácidos graxos no bioflocos. Alguns trabalhos que avaliaram a composição bromatológica do bioflocos são apresentados na Tabela 2.

Ekasari et al. (2014) mostrou que, de acordo com a composição de aminoácidos essenciais, a farinha de bioflocos poderia ser considerada uma fonte de proteína de boa qualidade para a utilização em rações. A farinha de bioflocos pode contribuir com

aminoácidos considerados essenciais para os animais aquáticos como treonina, arginina, valina, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina, além de aminoácidos não essenciais, incluindo asparagina, glutamina, serina, glicina, alanina e prolina, mas deficientes em tirosina (ROBLES-PORCHAS et al., 2020)

Tabela 2 Composição bromatológica de diferentes farinhas de bioflocos

| PB (%) | Carb (%) | Lipídios (%) | FB (%) | Cinzas (%) | Referência |
|--------|----------|--------------|--------|------------|----------------------------|
| 31,2 | ND | 2,6 | ND | 28,2 | (TACON et al., 2002) |
| 30,4 | ND | 1,9 | 12,4 | 38,9 | (JU et al., 2008) |
| 49,0 | 36,4 | 1,13 | 12,6 | 13,4 | (KUHN et al., 2009) |
| 38,8 | 25,3 | <0,1 | 16,2 | 24,7 | (KUHN et al., 2010) |
| 30,4 | 29,1 | 0,5 | 0,8 | 39,2 | (EMERENCIANO et al., 2012) |
| 18,1 | 35,7 | 0,3 | 2,1 | 34,5 | (EMERENCIANO et al., 2013) |
| 26,3 | 20,2 | 0,7 | 3,4 | 41,5 | (EMERENCIANO et al., 2013) |
| 17,39 | ND | 1,22 | ND | 28,84 | (DURIGON et al., 2020) |
| 18,89 | ND | 0,8 | ND | 18,35 | (SGNAULIN et al., 2020) |

PB: Proteína Bruta; Carb: Carboidratos; Lip: Lipídios; FB: Fibra Bruta; ND: Não determinado.

Xu e Pan (2012) sugeriram que a melhoria da assimilação proteica por animais criados em sistemas BFT está relacionada ao aumento da atividade da protease e digestiva no trato intestinal como resultado da contribuição de ambas as enzimas digestivas exógenas provenientes das bactérias no biofoco e a produção de enzimas digestivas endógenas estimuladas pelo biofoco.

Outro fator importante é a presença de vários compostos bioativos, incluindo carotenóides, clorofilas, polissacarídeos, fitoesteróis, taurina e vitaminas lipossolúveis (YU et al., 2020b, 2020c), que são responsáveis pela melhora do estado de saúde fisiológica de organismos aquáticos (XU; PAN, 2013). Foi observado que o sistema de BFT pode auxiliar na síntese de óxido nítrico, este que desempenha importante papel na redução do estresse oxidativo e no aumento da resposta imune (ZHAO et al., 2012; CARDONA et al., 2016).

Este sistema desenvolve também um potencial probiótico, onde as bactérias que estão associadas com a microbiota intestinal quando liberada pelas fezes em um ambiente com nutriente, se proliferam e com isso as espécies cultivadas recebem os benefícios dos microrganismos probióticos (MONROY et al., 2015). Entre os benefícios da ingestão dos micro-organismos deste sistema, pode-se ressaltar o aumento da absorção de nutrientes devido à produção de exo-enzimas e nutrientes como vitaminas e minerais que pode levar a um maior crescimento dos peixes (HONG; DUC; CUTTING, 2005). Além disso, a presença

de poli-p-hidroxibutirato (PHB), que é uma substância presente em bactérias benéficas para o sistema imune, podendo ajudar na proteção dos organismos contra agentes patogênicos (CRAB et al., 2012), segundo estes mesmos autores estas bactérias acumuladoras de PHB estão presentes em biofloco, pois foram medidos os níveis de PHB em biofloco e foi encontrado valores entre 0,5 e 18% na matéria seca.

Além da composição proteica e aminoacídica o sistema de bioflocos aparece também como uma fonte importante de ácidos graxos e pode contribuir para a alimentação de peixes como já foi relatado por (AZIM; LITTLE, 2008; CRAB et al., 2010; EKASARI; CRAB; VERSTRAETE, 2010; TOLEDO et al., 2016). Este fato pode contribuir para o crescimento e a saúde dos peixes (HARIDAS et al., 2017) visto que os micro organismos deste sistema podem representar até 50% da ingestão de nutrientes pelos peixes (AVNIMELECH, 2007).

Alguns ácidos graxos são encontrados em grandes quantidades no biofloco como é o caso do C20: 4n6. Entre os ácidos graxos polis saturados o mais abundante no sistema de bioflocos é o C18: 2n6, no entanto há uma presença significativa de ácidos graxos C16: 0, C16: 1n-7, C18 :1n-7 C18: 1n-9 (EKASARI; CRAB; VERSTRAETE, 2010).

Dados do perfil de ácidos graxos dos camarões cultivados em BFT mostraram que as concentrações de ácidos graxos 15:0, 16:1n-7, 17:0 e 17:1, foram encontradas em maiores quantidades no camarão cultivados em BFT do que aqueles cultivados em sistema de recirculação, ressaltando a importância do biofloco como fonte de alimento (IZQUIERDO et al., 2006).

Alguns trabalhos já avaliaram a utilização desta farinha de bioflocos para peixes e camarões como já foi relatado por Yu et al., (2020c) para *Opsariichthys kaopingensis*, onde foram avaliados níveis de inclusão de 0 a 16%, relatado melhor desempenho, melhor atividade das enzimas digestivas e melhor capacidade antioxidante dos peixes alimentados com 12% de farinha de bioflocos. Para *Penaeus monodon*, Anand et al. (2014) avaliaram níveis de inclusão que variaram de 0 a 12% e encontraram melhores taxas de conversão alimentar, melhora nas enzimas digestivas com a utilização de 4% de farinha de bioflocos. Para *Litopenaeus vannamei* Dantas et al. (2014) e Kuhn et al. (2009, 2010), avaliando níveis de inclusão de até 30% de farinha de bioflocos, encontraram bons resultados de desempenho e sobrevivência em todos os níveis testados. Por estes motivos a farinha de bioflocos apresenta um grande potencial na elaboração de dietas aquícolas, justamente por apresentar composição nutricional interessante composta por proteínas, lipídeos e carboidratos (CRAB et al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar respostas metabólicas de tilápias em diferentes sistemas de produção e manejos em sistema BFT, além de avaliar a inclusão de farinha de biofloco em dietas para esta espécie..

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar se há alterações metabólicas, e nos índices somáticos de tilápias criadas em sistema de bioflocos e tanque de terra;
- Avaliar a composição de ácidos graxos de tilápias criadas em bioflocos e em tanque de terra
- Analisar a estocagem direta em sistema de água clara, com baixa densidade e a estocagem com berçário em bioflocos;
- Avaliar diferentes densidades de estocagem de tilápias em sistema de BFT e transferência para tanque com água clara;
- Verificar a utilização de farinha de bioflocos como uma fonte alternativa para a alimentação de tilápias.

4 DESENVOLVIMENTO

Essa tese foi elaborada no formato de manuscritos que serão apresentados na sequência, sendo intitulados:

- Lipid profile and metabolic parameters of tilapia in the finishing phase in earth ponds and biofloc;
- Transferência de tilápias cultivadas em altas densidades em sistema de bioflocos para sistema de água clara;
- Utilização de farinha de bioflocos para alimentação de tilápias

4.1 CAPITULO I

Lipid profile and metabolic parameters of tilapia in the finishing phase in earth ponds and biofloc

* Esse manuscrito foi submetido ao periódico ***Acta Scientiarum. Biological Sciences***

Lipid profile and metabolic parameters of tilapia in the finishing phase in earth ponds and biofloc

Emerson Giuliani Durigon ^{1*}, Juliano Uczay², Nilce Coelho Peixoto³, Samuel Marasca¹,
Thamara Luísa Staudt Schneider¹, Luana Haselein Maurer⁴, Tatiana Emanuelli⁵ and Rafael
Lazzari^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

² Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, UFSM, *Campus* Palmeira das Missões, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil.

³ Departamento de Ciências da Saúde, UFSM, *Campus* Palmeira das Missões, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha, Alegrete, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁵Centro Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, UFSM , Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Orcid;

Emerson Giuliani Durigon; 0000-0001-5760-3070, Juliano Uczay; 0000-0003-2190-5020, Nilce Coelho Peixoto; 0000-0002-6982-867X, Samuel Marasca; 0000-0002-4256-0300, Thamara Luísa Staudt Schneider; 0000-0002-1064-4913 Luana Haselein Maurer; 0000-0001-8214-0565, Tatiana Emanuelli; 0000-0003-0168-3416 and Rafael Lazzari; 0000-0003-3016-6215.

1 Lipid profile and metabolic parameters of tilapia in the finishing phase in earth ponds and
2 biofloc

3
4 Reduction of lipid peroxidation of tilapias

5
6 **ABSTRACT :** Tilapia is a species with great growth potential. Its production comes from a
7 semi-intensive system, such as earthen ponds (EP). Recently, the biofloc system (BFT)
8 appears as an option to intensify fish production. The objective of this work was to compare
9 the organosomatic indices, biochemical parameters and chemical composition of tilapia raised
10 in EP and BFT. The fish were grown for 150 days, with an initial weight of \cong 2g and a final
11 weight of \cong 780g. Thereafter, tissues and organs were collected to measure organosomatic
12 indices and analyze biochemical parameters and fatty acid and proximate composition. The
13 carcass yield was higher for tilapia reared in EP than BFT. The production system did not
14 affect the fillet yield of the fish. The other organosomatic parameters were higher for tilapia
15 raised in BFT than EP. Tilapia created in EP showed higher content of crude protein and
16 lipids in the fillet than those raised in BFT. Fish reared in BFT showed a higher concentration
17 of glucose and ammonia in the muscle and amino acids in the liver than those raised in EP.
18 Fish reared in EP showed a higher concentration of lactate in the liver compared to BFT. In
19 both production systems there was no difference in the body lipid profile. It is concluded that
20 the production system alters the metabolism of fish. The biofloc has a considerable amount of
21 fatty acids, which can be considered in the formulation of diets for tilapia in this system.

22
23 **KEYWORDS:** Reared system, *Oreochromis Niloticus*, Fish culture, Polyunsaturated fatty
24 acids.

25
26 **INTRODUCTION**

27 Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) is the third most produced species in the world,
28 approximately 4,525 thousand tons, representing 8.3% of aquaculture production (FAO
29 2020). This fish is consolidated as one of the main species cultivated in aquaculture
30 worldwide, as it is rustic, has good growth rates and does not have intramuscular spines (El-
31 Sayed, 2006). Due to these characteristics, tilapia adapts to intensive production systems, such
32 as the net tank and biofloc (BFT) system.

33 In Brazil, most of the fish production (80%) occurs in small properties with less than 2
34 ha, in earthen ponds (EP) that need water renovation or mechanical aeration (Valenti et al
35 2021). In this context, it is necessary to develop farming technologies that reduce the use of
36 water and nutrients, thus minimizing environmental impacts, without harming the production
37 indexes (Hu et al., 2015).

38 BFT is a system that has a balanced ratio of carbon and nitrogen to stimulate the
39 development of microorganisms that contribute to the control of water quality parameters and
40 can serve as food for fish (Azim & Little, 2008). This system has minimal or no water
41 renewal (Avnimelech & Kochba, 2009). Recent studies compare BFT with the clear water
42 (CW) system, mainly in the initial phases (1 to 20 g) and show that BFT causes an “anti-
43 stress” effect on fish (Lovera et al., 2017). In addition, these authors showed that BFT
44 provides better survival rates, feed conversion and water savings compared to CW.

45 In the growth phase (50 to 200 g), tilapia raised in BFT shows better performance,
46 immune response and antioxidant status, besides increased activity of digestive enzymes
47 (Azim & Little, 2008; Long et al., 2015; Mansour & Esteban, 2017). Luo et al. (2014)
48 evaluated tilapia in a BFT and CW system in the finishing phase (greater than 600 g body
49 weight) and concluded that the BFT system is beneficial for tilapia production. However, it is
50 worth mentioning that the CW system does not have microalgae, which are food sources
51 present in EP (He et al., 2018).

52 Previous studies on tilapia farming in BFT were focused in the initial stages, or in
53 specific growth stages. The present study was aimed to evaluate tilapia farming in BFT and
54 EP during the entire productive period by assessing organosomatic parameters,
55 bromatological composition, biochemical parameters and fatty acid profile of tilapia.
56 Therefore, novel data are provided concerning to the whole farming process.

57

58 MATERIAL AND METHODS

59

60 REARED SYSTEMS

61 Twelve tilapia were captured at random, with an average size of $780 \pm 22\text{g}$, coming
62 from two production systems, the biofloc system (BFT) and earthen ponds (EP).

63 The BFT system, matured with the previous cultivation of tilapia, was composed of 10
64 m^3 tanks. Molasses was used as a carbon source when the ammonia value exceeded 2 mg/L.
65 The tanks were lined with geomembrane, covered with greenhouse and with a constant

66 aeration system to maintain the levels of oxygen and solids in suspension. The decanting of
67 the solids was carried out whenever the values exceeded 40 mL/L, until reaching 25 mL/L. To
68 correct the pH, agricultural limestone was used whenever the value was less than 7.0.
69 Alkalinity was corrected whenever the value dropped from 70 mg of CaCO₃/L, with sodium
70 bicarbonate at a concentration of 0.025 g/L. The stocking density was 55 fish/m³ (Luo et al.,
71 2014).

72 The EP used for cultivation (250 m²), had a depth ranging from 80 to 120 cm, the
73 stocking density was four fish/m². Whenever the ammonia value exceeds 2 mg/L, 20% of the
74 water in the tank was been renewed. Use emergency aeration, by means of an aerator (Electric
75 fountain aerator, 1.5 Hp) whenever the oxygen level was less than three mg/L. Transparency
76 was measured with the Secchi disk, maintained between 20 and 40 cm. When the value was
77 less than 20 cm, water was renewed. Chemical fertilization (urea) was carried out whenever
78 the transparency value exceeded 40 cm. The fish were fed commercial feed according to each
79 stage of growth (El-Sayed, 2006).

80

81 ORGANOSOMATIC INDEXES

82 The fish were euthanized to collect data on weight, body and organ length.
83 Subsequently, the organosomatic parameters were calculated: condition factor (CF): (total
84 weight x 100 / fish length³) x 100; hepatosomatic index (HI): (liver weight / fish weight) x
85 100; visceral fat index (VFI): (visceral fat weight / fish weight) x 100; intestinal quotient (IQ):
86 (length of digestive tract / length of fish) x 100; enterosomatic index (EI): (digestive tract
87 weight / total weight) x 100; fillet yield (FY): (fillet weight / total weight) x 100 and carcass
88 yield (CY): (carcass weight / total weight) x 100. All experimental procedures were registered
89 by the Animal Use Ethics Committee (CEUA) of the Federal University of Santa Maria with
90 protocol number 2423200420.

91

92 BROMATOLOGICAL COMPOSITION OF THE FILLET AND BIOFLOC

93 The contents of dry mass (DM), crude protein (CP) and mineral matter (MM) of
94 biofloc and fish fillets were carried out according to the methodology proposed by AOAC
95 (1999). To determine lipid levels, the Bligh and Dyer (1959) technique was used. The biofloc
96 collection was carried out by decanting the culture water (about 400 L) for approximately 30
97 min, and then eliminating the supernatant. This operation was carried out a few times until
98 obtaining a material with the least amount of water possible, afterwards, the biofloc was

99 subjected to drying in a study with air recirculation (at 55 ° C for 72 h) to carry out the
100 bromatological analyzes: dry mass, CP, lipids and ashes (Durigon et al., 2020).

101

102 FATTY ACID PROFILE

103 The fat was extracted from samples using chloroform and methanol as described by
104 Bligh and Dyer (1959) and used for determination of the fatty acid profile. To prevent lipid
105 oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxy toluene (BHT) was added to the
106 chloroform used. Fat was saponified in methanolic KOH solution and then esterified in
107 methanolic H₂SO₄ solution (Hartmann & Lago, 1973). Methylated fatty acids were analyzed
108 using an Agilent Technologies gas chromatograph (HP 6890N) equipped with a capillary
109 column (DB-23 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm) and flame ionization detector. The temperature
110 of the injector port was set at 250°C and the carrier gas was nitrogen (0.6 mL/min). After
111 injection (1 µL, split ratio 50:1), the oven temperature was hold at 150°C for 1 min, the it was
112 increased to 240°C at 4°C/min and hold at this temperature for 12 min. Standard fatty acid
113 methyl esters (37-component FAME Mix, C 22:5 n3 and PUFA n° 2 from Sigma, Saint Louis,
114 MO, USA) were run under the same conditions and the subsequent retention times were used
115 to identify the fatty acids. Fatty acids were expressed as percentage of the total fatty acids
116 identified.

117

118 BIOCHEMICAL PARAMETERS

119 Samples of gills, liver and muscle were collected. In the gills, the total ammonia content
120 was determined (Verdouw et al., 1978). In the liver and muscle tissues, total proteins
121 (Bradford, 1976), glycogen and glucose (Dubois et al., 1956), lactate (Harrower and Brown,
122 1972), total ammonia (Verdouw et al., 1978), thiobarbituric acid reactive substances
123 (TBARS) (Buege & Aust, 1975) and amino acids (AA) (Spies, 1957).

124

125 STATISTICAL ANALYSIS

126 The data were submitted to the Shapiro-Wilk normality test. The results with normal
127 distribution were submitted to analysis of variance (ANOVA). In the variables that showed a
128 significant difference ($p < 0.05$), their means were compared using the Student's t test. All
129 analyses were performed using the R® statistical package.

130

131 RESULTS

132

133 ORGANOSOMATIC INDEXES

134 The FY showed no difference between the cultivation systems (BFT and EP). CY was
 135 higher in fish reared in EP. The CW, HS, VFI, IQ and EI indices were higher in fish reared in
 136 a BFT system (Table 1).

137 Table 1: Organosomatic parameters of tilapia reared in biofloc systems (BFT) and earthen
 138 ponds (EP) (mean \pm standard deviation)

| Parameters | BFT | EP | P value |
|-------------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| Condition fator | 2.60 \pm 0.14 a | 2.27 \pm 0.07 b | <0.001 |
| Hepatosomatic index (%) | 2.26 \pm 0.47 a | 1.52 \pm 0.43 b | 0.012 |
| Visceral fat index (%) | 4.34 \pm 0.98 a | 2.24 \pm 0.44 b | <0.001 |
| Intestinal quotient (%) | 9.29 \pm 1.14 a | 7.79 \pm 1.12 b | 0.046 |
| Enterosomatic index (%) | 3.07 \pm 0.40 a | 2.32 \pm 0.40 b | 0.022 |
| Fillet yield (%) | 32.20 \pm 1.69 a | 33.86 \pm 2.72 a | NS (0.22) |
| Carcass yield (%) | 86.67 \pm 1.15 b | 90.51 \pm 1.46 a | <0.001 |

139 Means with different letters on the same line differ significantly according to Student's t test
 140 ($p < 0.05$). NS: not significant.

141

142 BROMATOLOGICAL COMPOSITION OF THE FILLET AND BIOFLOC

143 There was no difference for MS and MM. The levels of CP and lipids were higher in
 144 the fillets of fish raised in EP (Table 2). BFT showed high levels of MM and CP, 23.84% and
 145 21.34%, respectively, while the lipid content was 2.39% (Table 2).

146

147 Table 2: Bromatological composition of biofloc and fillet of tilapia created in biofloc system
 148 (BFT) and earth ponds (EP) (mean \pm standard deviation)

| Parameters (%) | BFT | EP | P value | Biofloc |
|----------------|--------------------|--------------------|-----------|------------------|
| Dry mass | 21.45 \pm 2.38 a | 21.35 \pm 0.13 a | NS (0.18) | 93.14 \pm 0.99 |
| Ashes | 2.38 \pm 0.34 a | 2.31 \pm 0.54 a | NS (0.82) | 23.84 \pm 2.51 |
| Crude protein | 18.30 \pm 0.95 b | 19.61 \pm 0.48 a | 0.004 | 21.34 \pm 1.12 |
| Lipids | 1.67 \pm 0.49 b | 2.79 \pm 0.76 a | 0.047 | 2.39 \pm 0.42 |

149 Means with different letters on the same line differ significantly according to Student's t test
 150 ($p < 0.05$). NS: not significant.

151

152 FATTY ACID COMPOSITION

153 The composition of fatty acids in the fillet and body of tilapia was not influenced by
 154 the production system. The fatty acids found at greatest quantities were C16:0, C18:0,
 155 C16:1n-7 and C18:1n-9, C 18:2n-6 (Table 3).

156

157 Table 3: Fatty acid composition (% of total identified fatty acids) of the biofloc, fillet and
 158 whole body of tilapia raised in a biofloc system (BFT) and earth ponds (EP).

| Composition (%) | Fillet | | Whole body | | Biofloc |
|--------------------|--------|-------|------------|-------|---------|
| | BFT | EP | BFT | EP | |
| C12:0 | 0.07 | 0.09 | 0.10 | 0.08 | 0.14 |
| C14:0 | 2.50 | 2.78 | 2.68 | 2.59 | 1.59 |
| C14:1 n-5 | 0.15 | 0.17 | 0.24 | 0.19 | 0.00 |
| C15:0 | 0.19 | 0.20 | 0.18 | 0.19 | 0.58 |
| C15:1 n-5 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.07 | 0.60 |
| C16:0 | 24.79 | 23.59 | 21.03 | 23.10 | 25.03 |
| C16:1 n-7 | 4.71 | 5.02 | 5.99 | 5.77 | 5.05 |
| C17:0 | 0.29 | 0.33 | 0.23 | 0.32 | 0.77 |
| C17:1 n-5 | 0.19 | 0.19 | 0.23 | 0.30 | 0.42 |
| C18:0 | 6.37 | 6.20 | 4.45 | 5.73 | 12.09 |
| C18:1 n-9 | 34.11 | 33.90 | 37.72 | 36.13 | 19.72 |
| C18:1 n-7 | 2.60 | 2.80 | 2.62 | 2.47 | 7.26 |
| C18:2 n-6 | 15.36 | 15.88 | 15.90 | 15.87 | 20.51 |
| C18:3 n-6 | 0.84 | 0.99 | 1.64 | 0.98 | 0.18 |
| C18:3 n-3 | 1.17 | 1.46 | 1.12 | 1.30 | 2.30 |
| C20:0 | 0.00 | 0.07 | 0.09 | 0.06 | 0.00 |
| C20:1 n-9 | 1.61 | 1.69 | 1.51 | 1.69 | 0.70 |
| C20:2 n-6 | 0.26 | 0.25 | 0.00 | 0.19 | 0.00 |
| C20:3 n-6 | 0.84 | 0.78 | 1.01 | 0.65 | 0.20 |
| C20:4 n-6 | 1.59 | 1.27 | 1.34 | 0.74 | 0.58 |
| C20:3 n-3 | 0.18 | 0.20 | 0.17 | 0.21 | 0.00 |
| C20:5 n-3 | 0.08 | 0.10 | 0.00 | 0.15 | 0.00 |

| | | | | | |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| C22:4 n-6 | 1.05 | 0.92 | 0.61 | 0.36 | 0.33 |
| C24:0 | 0.05 | 0.07 | 0.00 | 0.05 | 1.27 |
| C22:5 n-6 | 0.12 | 0.14 | 0.09 | 0.12 | 0.00 |
| C22:5 n-3 | 0.29 | 0.28 | 0.25 | 0.20 | 0.16 |
| C22:6n3 | 0.54 | 0.57 | 0.75 | 0.48 | 0.51 |
| SFA | 34.26 | 33.32 | 28.77 | 32.12 | 41.46 |
| UFA | 65.74 | 66.68 | 71.23 | 67.88 | 58.54 |
| MUFA | 43.44 | 43.83 | 48.35 | 46.62 | 33.76 |
| PUFA | 22.30 | 22.85 | 22.88 | 21.26 | 24.78 |
| UFA/SFA ratio | 1.92 | 2.00 | 2.48 | 2.11 | 1.41 |
| n-6 | 20.06 | 20.23 | 20.59 | 18.92 | 21.81 |
| n-3 | 2.25 | 2.62 | 2.29 | 2.34 | 2.97 |
| n-3/n-6 ratio | 0.11 | 0.13 | 0.11 | 0.12 | 0.14 |

159 C12:0 = lauric acid; C14:0 = myristic acid; C14:1 n-5 = myristoleic acid; C15:0 =
160 pentadecanoic acid; C15:1 n-5 = 10-pentadecenoic acid; C16:0 = palmitic acid; C16:1 n-7 =
161 palmitoleic acid; C17:0 = heptadecanoic acid; C17:1 n-5 = 10-heptadecenoic acid; C18:0 =
162 stearic acid; C18:1 n-7 = 11-octadecenoic; C18:1 n-9 = oleic acid; C18:2 n-6 = linoleic acid;
163 C18:3 n-6 = gamma-linolenic acid; C18:3 n-3 = alfa-linolenic acid; C20:0 = arachidic acid;
164 C20:1n-9 = 11-eicosenoic acid; C20:2 n-6 = dihomolinoleic acid; C20:3 n-6 =
165 dihomopinolenic acid; C20:4 n-6 = arachidonic acid; C20:3 n-3 = dihomolinolenic acid;
166 C20:5 n-3 = eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoic acid; C22:4 n-6 = adrenic acid; C24:0 =
167 lignoceric acid; C22:5 n-6 = docosa-4,7,10,13,16-pentaenoic acid; C22:5n-3 = docosa-
168 7,10,13,16,19-pentaenoic acid; C22:6n-3 = docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoic acid.

169

170

171 BIOCHEMICAL PARAMETERS

172 In the muscle there was a difference in the concentration of ammonia and glucose,
173 with a higher concentration of both being observed in fish reared in BFT. In the liver, a higher
174 lactate concentration was observed in fish reared in EP and a higher AA content in fish reared
175 in BFT. Ammonia, total proteins, glucose, glycogen and TBARS did not show any difference
176 between fish reared in BFT and EP (Table 4).

177

178 Table 4: Biochemical parameters of tilapia created in a biofloc system (BFT) and earth ponds
 179 (EP) (mean \pm standard deviation)

| Tissue | | BFT | EP | P |
|--------|--|----------------------|----------------------|------------|
| Muscle | Ammonia ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 0.44 \pm 0.08 a | 0.27 \pm 0.07 b | < 0.01 |
| | Lactate (mg dL ⁻¹) | 146.85 \pm 41.99 a | 133.63 \pm 27.78 a | NS (0.75) |
| | Total proteins (g dL ⁻¹) | 35.66 \pm 6.79 a | 31.64 \pm 5.85 a | NS (0.16) |
| | Glucose (mg dL ⁻¹) | 16.46 \pm 4.79 a | 9.40 \pm 1.30 b | 0.01 |
| | Amino acids ($\mu\text{mol mL}^{-1}$) | 4.11 \pm 0.82 a | 5.55 \pm 1.79 a | NS (0.36) |
| | Glycogen (mg g ⁻¹) | 11.10 \pm 5.02 a | 17.35 \pm 7.35 a | NS (0.09) |
| | TBARS (μmol malondialdehyde g ⁻¹) | 0.61 \pm 0.29 a | 0.35 \pm 0.13 a | NS (0.131) |
| Liver | Ammonia ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 0.50 \pm 0.19 a | 0.67 \pm 0.23 a | NS (0.12) |
| | Lactate (mg dL ⁻¹) | 9.80 \pm 3.13 a | 16.82 \pm 4.68 b | 0.02 |
| | Total proteins (g dL ⁻¹) | 28.61 \pm 8.69 a | 31.78 \pm 8.49 a | NS (0.52) |
| | Glucose (mg dL ⁻¹) | 21.17 \pm 4.73 a | 28.65 \pm 6.99 a | NS (0.06) |
| | Amino acids ($\mu\text{mol mL}^{-1}$) | 3.97 \pm 0.83 a | 2.94 \pm 0.47 b | 0.03 |
| | Glycogen (mg g ⁻¹) | 50.30 \pm 14.92 a | 50.59 \pm 16.68 a | NS (0.97) |
| | TBARS (μmol malondialdehyde g ⁻¹) | 1.25 \pm 0.28 a | 1.06 \pm 0.21 a | NS (0.175) |
| Gills | Ammonia ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 3.69 \pm 0.27 a | 3.92 \pm 0.36 a | NS (0.15) |

180 Means with different letters on the same line differ significantly according to Student's t test
 181 ($p < 0.05$).

182

183 DISCUSSION

184

185 ORGANOSOMATIC INDEXES

186 BFT has availability of highly digestible nutrients for fish (Emerenciano et al., 2017).
 187 This is due to microorganisms that live in this system, such as microalgae, rotifers, ciliate and
 188 nematodes (Monroy-Dosta et al., 2013). Tilapia can enjoy the BFT substrate, due to its
 189 filtration capacity (El-Sayed, 2006). In the present study, the constant availability of food may
 190 have contributed to increase the organosomatic indexes in fish reared in BFT. The constant
 191 presence of food results in an increase in metabolic activity involving the breakdown and

192 absorption of nutrients, mainly from protein (Baldisserotto, 2013). In the present study, BFT
193 had an approximate 21% CP content (Table 2). A similar result was observed by other studies
194 (Silva et al., 2018). The CP of the diet together with the protein of the bioflocs may have
195 caused an increase in the routes of anabolism and catabolism (glycogenesis, and deamination)
196 and therefore there was an increase in size of the liver.

197 In the present study, fish reared in BFT had a higher CW value when compared to fish
198 reared in EP. This index is used as a comparison, as it provides information on the
199 physiological state of the animals, based on this assumption where individuals with greater
200 mass in a given length, are in a better condition (Lima-junior et al., 2002).

201 The increase in EI in the BFT system can be directly related to the consumption of
202 substrates, which results in an increase in the surface of the intestine, enabling greater contact
203 and, consequently, greater absorption of nutrients (Moreira et al., 2012). These same authors
204 observed an increase in this parameter when the fish were fed diets containing natural feed,
205 compared to diets based on ration.

206

207 BROMATOLOGICAL COMPOSITION OF THE FILLET AND BIOFLOC

208 In the present study, fish reared in BFT had a lower content of CP and fat in the fillet.
209 This decrease may be linked to the different food constituents between the production
210 systems. In BFT, tilapia can absorb the CP present in the biofloc (Poli et al., 2019), which
211 may have caused an imbalance in the energy/protein ratio in the animal's diet, thus causing it
212 to have less deposition of CP and lipids (NRC, 2011).

213 In this work, tilapia raised in EP had a higher lipid content in the fillet compared to
214 BFT. This result may be related to the presence of microalgae, since these microalgae are rich
215 in protein and lipids, with 23.16% CP and 36.58% lipids in the dry matter (He et al., 2018).
216 Because it is a filter species, tilapia can obtain a large part of its nutrients from microalgae,
217 this fact may also have contributed to a greater amount of CP in the tilapia fillets created in
218 EP. On the other hand, tilapia raised in BFT had lower content of lipids, this result was also
219 observed by Lovera et al. (2017).

220

221 COMPOSITION OF THE LIPID PROFILE

222 In the EP there is production of microalgae, which are sources of polyunsaturated fatty
223 acids (PUFA) such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). In
224 closed systems these nutrients come from the diet (Toledo et al., 2016). However, BFT has

225 been considered an important source of fatty acids that contributes to fish feeding as has been
226 documented by Azim & Little (2008); Ekasari et al. (2010); Toledo et al. (2016). The
227 consumption of biofloc can contribute to animal growth and health (Haridas et al., 2017),
228 since microorganisms can represent 30 to 50% of nutrient intake (Avnimelech, 2007). Some
229 fatty acids have been found in large quantities in the biofloc, for example, C20:4 n-6, which
230 can represent 5 times more quantity compared to feed, in addition to being an important
231 source of PUFA (Toledo et al., 2016). These fatty acids present in the biofloc may have been
232 incorporated in the filet and in the carcass since in this study for C20:4 n-6 a 20% greater
233 amount was observed in the fillet and 44% greater in the body composition of fish reared in
234 BFT.

235 In the present study, linoleic acid (C18:2 n-6) was the most abundant PUFA in the
236 biofloc, whereas palmitic acid (C16:0) was the most abundant SFA. A similar result was
237 observed by Ekasari et al. (2010). Also in the biofloc large amounts of C16:1 n-7, C18:1 n-7
238 and C18:1 n-9 were also observed, with the sum of n-6 being greater in BFT (21.81 mg/g).
239 This increase may be related to the time of the BFT system, because the longer the cultivation
240 time, the greater the development of dinoflagellates (Durigon et al., 2020), which are the main
241 responsible for the presence of fatty acids in the BFT.

242 The BFT fatty acid profile can vary for several reasons, including the carbon source
243 used, the composition of microorganisms, the salinity of the water (Ekasari et al., 2010) and
244 the lipid composition of the diet (Toledo et al., 2016). In addition, microorganisms can
245 synthesize new fatty acids, elongating and denaturing the carbonic lipid chain (Ekasari et al.,
246 2010). The significant presence of PUFA n-3 and n-6 in the biofloc, such as α - linolenic
247 (C18:3 n-3), can be elongated and denatured to produce EPA and DHA, however, the process
248 occurs in a low percentage (Suárez-Mahecha et al., 2002). In the present study, this fatty acid
249 was not found in a significant amount in fish reared in BFT. The lack of a specific diet for fish
250 reared in this system can cause the consumption of this fatty acid as a substrate for others
251 necessary for fish.

252 Palmitic acid was one of the most abundant fatty acids in the composition of the filet
253 and in the body composition of the fish, similar results found by Luiza et al. (2003), however,
254 these authors found 36.4 and 35.5% of palmitic acid for tilapia raised in winter and summer
255 was respectively, higher than the values found in the present study, which ranged between
256 21.03 and 24.79. Values very similar to those found in this study were also observed by

257 Duarte et al. (2021) who evaluated the fatty acid profile in the muscle of tilapia fed different
258 levels of fish meal.

259

260 BIOCHEMICAL PARAMETERS

261 In the present study, the concentration of glucose and ammonia increased in the
262 muscle of fish raised in BFT. In the liver, there was a reduction in lactate content and an
263 increase in AA. These changes in metabolism may be related to the imbalance of nutrients
264 present in the diet. BFT has microorganisms with high digestibility that serve as natural food
265 (Nelson & Cox, 2013), which can lead to an improvement in the absorption rate and increase
266 in nutrients available. The increase in the amount of AA in the liver indicates an improvement
267 in absorption (Uczay et al., 2019). Fish reared in a BFT system have a lower protein demand
268 from the feed, as it can meet part of their requirement for the microorganisms present in this
269 system (Mansour and Esteban, 2017; Silva et al., 2018; Green et al., 2019; Durigon et al.,
270 2020). The intake of the BFT protein fraction and the diet may have caused an increase in AA
271 intake, modifying the elevated metabolic parameters (Teodósio et al., 2019).

272 Imbalances in the protein fraction and energy of the diet can lead to AA catabolism
273 and the AA carbon chain can go to energy production routes (NRC, 2011). The carbonated
274 chain, on the other hand, can go to gluconeogenesis for conversion to glucose. This is because
275 excess AA cannot be stored. The amino group is transformed into ammonia and excreted.
276 Excessive ammonia, in the body and in water, can cause fish mortality, cross cell membranes
277 and cause cell depolarization, leading to apoptosis (Baldisserotto, 2013). Balanced diets are
278 necessary, especially in systems with little water renewal, since AA imbalance can cause
279 effects on fish metabolism, such results have already been evidenced (Uczay et al., 2019;
280 Battisti et al., 2020).

281 Fish reared in EP showed lower glucose concentration in the muscle and higher lactate
282 concentration in the liver in our study. This is due to the increase in anaerobic glycolysis, the
283 biochemical pathway that involves glucose and lactate is called the Cori cycle (Nelson & Cox,
284 2013). The glucose present in the muscle is converted to lactate, anaerobically, the lactate is
285 transported to the liver, through the bloodstream, and again converted to glucose, this route is
286 a way of producing energy in situations of hypoxia or anoxia and the Cori cycle happens
287 mainly in conditions of increased muscle activity, when there is intense exercise (Nelson &
288 Cox, 2013), this was possibly due to the fish farming system. In the EP, the fish have more
289 space to move around, consuming more oxygen. In BFT, the space available is smaller and

290 therefore the liver's lactate production was lower and the glucose levels in the muscle were
291 higher.

292

293 **CONCLUSION**

294

295 In conclusion the production system influences the fillet composition and the
296 metabolism of tilapia. BFT has an excess amount of PB and fatty acids, which improves
297 organosomatic indexes, fillet composition and fish metabolism compared to those created in
298 EP. However, formulations of diets that consider the nutrients present in the biofloc are
299 necessary studies to maximize the production of tilapia in BFT.

300

301 **Agradecimentos**

302 This work was conducted with the support of the Coordenação de Aperfeiçoamento de
303 Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) (Finance Code 001). T.E. is the recipiente of
304 CNPq research fellowship [303654/2017-1].

305

306 **Conflict of interest statement**

307 The authors certify that all data used to reach the findings are available within the article
308 results. We declare that there are no conflicts of interest and this manuscript has not been
309 submitted to any other periodical.

310

311 **Statement of animal rights**

312 Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais
313 (CEUA) da Universidade Federal de Santa Maria com o protocolo número 2423200420.

314

315 **REFERENCES**

316 AOAC, (1999). AOAC International, Official methods of analysis, 16th edn. ed. Washington.

317 Avnimelech Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs
318 technology ponds. *Aquaculture*, 264, 140–147.

319 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>

320 Avnimelech Y., Kochba M. (2009). Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in
321 biofloc tanks, using 15 N tracing. *Aquaculture*, 287, 163–168.

322 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.009>

- 323 Azim M.E., Little D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality,
324 biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
325 Aquaculture, 283, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>
- 326 Baldisserotto B. (2013). Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, 3a edition. ed. Santa
327 Maria.
- 328 Battisti E.K., Rabaioli A., Uczay J., Sutili J., Lazzari R. (2020). Effect of stocking density on
329 growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant status of silver
330 catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system. Aquaculture,
331 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735213>
- 332 Bligh E., Dyer W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian
333 Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911–917.
- 334 Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
335 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical
336 Biochemistry, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.10.005>
- 337 Buege J.A., Aust S.D. (1975). Microsomal lipid peroxidation. Journal of Physics: Conference
338 Series, 71, 302–310. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/71/1/012004>
- 339 Duarte F.O.S., Paula F.G., Prado C.S., Santos R.R., Minafra-Rezende C.S., Moacir C.G.,
340 Lage E. (2021). Better fatty acids profile in fillets of Nile Tilapia (*Oreochromis*
341 *niloticus*) supplemented with fish oil. Aquaculture, 534,
342 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736241>
- 343 Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956). Colorimetric method
344 for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28, 350–356.
345 <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- 346 Durigon E.G., Lazzari R., Uczay J., Lopesa D.L.A., Jerônimo G.T., Sgnaulin T., Emerenciano
347 M.G.C. (2020). Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein
348 and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water.
349 Aquaculture and Fisheries, 5, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>
- 350 Ekasari J., Crab R., Verstraete W. (2010). Primary nutritional content of bio-flocs cultured
351 with different organic carbon sources and salinity. HAYATI Journal of Biosciences, 17,
352 125–130. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.3.125>
- 353 El-Sayed A.F. (2006). Tilapia culture. <https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>

- 354 Emerenciano M.G.C., Martínez-Córdova L.R., Martínez-Porchas M., Miranda-Baeza A.
355 (2017). Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture,
356 in: Intech. pp. 92–109. <https://doi.org/10.5772/66416>
- 357 FAO, (2020). The state of world fisheries and aquaculture, p. 224
- 358 Green B.W., Mcentire M.E., Rawles S.D., Schrader K.K., Gaylord T.G. (2019). Effects of
359 dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*)
360 performance , common microbial off-flavor compounds , and water quality dynamics in
361 an outdoor biofloc technology production system. *Aquaculture*, 503, 571–582.
362 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.034>
- 363 Haridas H., Verma A.K., Rathore G., Prakash C., Banerjee P. (2017). Enhanced growth and
364 immuno-physiological response of genetically improved farmed tilapia in indoor biofloc
365 units at different stocking densities. *Aquaculture Research*, 1–10.
366 <https://doi.org/10.1111/are.13256>
- 367 Harrower J.R., Brown C.H. (1972). Blood lactic acid -a micromethod adapted to field
368 collection of microliter samples. *Journal of Applied Physiology*, 32, 709–711.
- 369 He Y., Lin G., Rao X., Chen L., Jian H., Wang M., Guo Z., Chen B. (2018). Microalga
370 *Isochrysis galbana* in feed for *Trachinotus ovatus* : effect on growth performance and
371 fatty acid composition of fish fillet and liver. *Aquaculture International*, 26, 1261–1280.
- 372 Hu Z., Lee J.W., Chandran K., Kim S., Brotto A.C., Khanal S.K. (2015). Effect of plant
373 species on nitrogen recovery in aquaponics. *Bioresource technology*, 188, 92–98.
374 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.013>
- 375 Lima-junior S.E., Cardone I.B., Goitein R. (2002). Determination of a method for calculation
376 of allometric condition factor of fish. *Acta Scientiarum*, 24, 397–400.
377 <https://doi.org/http://hdl.handle.net/11449/67090>
- 378 Long L., Yang J., Li Y., Guan C., Wu F. (2015). Effect of biofloc technology on growth,
379 digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved
380 farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 448, 135–141.
381 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.017>
- 382 Lovera K.P.Z., Brito L.O., Lima P.C.M., Arana L.A.V., Galvez A.O., Cárdenas J.M.V.
383 (2017). Cultivo de alevines de tilapia en sistema biofloc bajo diferentes relaciones
384 carbono/nitrógeno. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43, 399–407.
385 <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n3p399>

- 386 Luo G., Gao Q., Wang C., Liu W., Sun D., Li L., Tan H. (2014). Growth, digestive activity,
387 welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia
388 (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor
389 biofloc system. *Aquaculture*, 422–423, 1–7.
390 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>
- 391 Mansour A.T., Esteban M.A. (2017). Effects of carbon sources and plant protein levels in a
392 biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile
393 tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunology*, 64, 202–209.
394 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>
- 395 Monroy-Dosta M.C., Lara-Andrade R., Castro-Mejía J., Castro-Mejía G., Emerenciano
396 M.G.C. (2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociados al
397 biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48, 511–
398 520. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000300009>
- 399 Moreira R.L., Silveira L.P., Teixeira E.G., Glaydson A. (2012). Growth and gastrointestinal
400 indices in Nile tilapia fed with different diets. *Acta Scientiarum*, 34, 223–229.
401 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v34i3.13327>
- 402 Nelson D.L., Cox M.M. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry* 6th ed., Book.
403 <https://doi.org/10.1016/j.jse.2011.03.016>
- 404 NRC (2011). National Research Council. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, Na-
405 tional. ed. Na- tional Academies Press, Washington.
- 406 Poli M.A., Legarda E.C., Lorenzo M.A., Martins M.A., Vieira N. (2019). Pacific white
407 shrimp and Nile tilapia integrated in a biofloc system under different fish-stocking
408 densities. *Aquaculture*, 498, 83–89. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.08.045
- 409 Silva M.A., Alvarenga E.R., Alves G.F., Manduca L.G., Turra E.M., Brito T.S., Sales S.C.M.,
410 Silva Junior A.F., Borges W.J.M., Teixeira E.A. (2018). Crude protein levels in diets for
411 two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system.
412 *Aquaculture Research*, 49, 1–11. <https://doi.org/10.1111/are.13730>
- 413 Spies J.R. (1957). Colorimetric procedures for amino acids. *Methods Enzymol*, 3, 467–477.
414 [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(57\)03417-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(57)03417-5)
- 415 Suáres-Mahecha H. Francisco A. Beirão L.H., Block J.M., Saccol A., Pardo-carrasco S.
416 (2002). Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e
417 de ambiente natural para a nutrição humana. *Boletim do Instituto da Pesca*, 28, 101–
418 110.

- 419 Teodósio R., Engrola S., Colen R., Masagounder K., Aragão C. (2019). Optimizing diets to
420 decrease environmental impact of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production.
421 Aquaculture Nutrition, 1–10. <https://doi.org/10.1111/anu.13004>
- 422 Toledo T.M., Silva B.C., Vieira F.N., Mouriño J.L.P., Seiffert W.Q. (2016). Effects of
423 different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white shrimp
424 *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: water quality, biofloc
425 composition , growth and health. Aquaculture Research, 47, 1841–1851.
426 <https://doi.org/10.1111/are.12642>
- 427 Uczay J., Battisti E.K., Lazzari R., Schneider T.L.S., Hermes L.B., Peixoto N.C., Fabregat,
428 T.E.H.P. (2019). Fish meal replaced by hydrolysed soybean meal in diets increases
429 growth and improves the antioxidant defense system of silver catfish (*Rhamdia quelen*).
430 Aquaculture Research, 50, 1438–1447. <https://doi.org/10.1111/are.14019>
- 431 Valenti W.C., Barros H.P., Moraes-Valenti P., Bueno G.W., Cavalli R.O. (2021). Aquaculture
432 in Brazil: past, present and future. Aquaculture Reports.
433 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611>
- 434 Verdouw H., Van Echteld C.J.A., Dekkers E.M.J. (1978). Ammonia determination based on
435 indophenol formation with sodium salicylate. Water Research, 12, 399–402.
436 [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(78\)90107-0](https://doi.org/10.1016/0043-1354(78)90107-0)
- 437
438
439

4.2 CAPITULO II

Ganho compensatório e resposta oxidativa de tilápias cultivadas em altas densidades em sistema de bioflocos e transferidas para sistema de água clara

* Esse manuscrito será submetido ao periódico Aquaculture

1 **Ganho compensatório e resposta oxidativa de tilápias cultivadas em altas densidades**
2 **em sistema de bioflocos e transferidas para sistema de água clara**

3
4
5 Emerson Giuliani Durigon^{1*}, Thamara Luísa Staudt Schneider¹, Samuel Marasca¹, Luiza
6 Beatriz Hermes¹, Juliano Uczay², Nilce Coelho Peixoto³, Rafael Lazzari^{1,2}

7
8 ¹ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa
9 Maria, *Campus* Santa Maria, 97105-900, Rio Grande do Sul, Brasil

10 ² Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de
11 Santa Maria, *Campus* Palmeira das Missões, Palmeira das Missões, 98300-000, Rio
12 Grande do Sul, Brasil

13 ³ Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria,
14 *Campus* Palmeira das Missões, Palmeira das Missões, 98300-000, Rio Grande do Sul,
15 Brasil

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33 * Autor para correspondência: E-mail: emersom_durigon@hotmail.com
34

35 **RESUMO:** A aquicultura apresenta crescimento acentuado nos últimos anos, sendo que
36 a tilápia é uma das espécies com maior potencial de crescimento. A utilização de
37 sistemas intensivos, com uma maior produção, biossegurança e ambientalmente corretos
38 têm sido alvo de recentes pesquisas. O sistema de bioflocos (BFT) tem se destacado em
39 termos de produção e desempenho dos peixes. O objetivo deste estudo foi avaliar a
40 utilização de berçário de tilápia em BFT por 30 dias e/ou o povoamento direto em
41 sistema de água clara (AC). Os tratamentos foram os seguintes: AC 100 (60 dias em AC
42 com 100 peixes/m³), TRN 750; (30 dias em BFT com 750 peixes/m³ e 30 dias em AC
43 100 peixes/m³), TRN 1500 (30 dias em BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em AC 100
44 peixes/m³), BFT 750 (60 dias em BFT com 750 peixes/m³) e BFT 1500 (60 dias em
45 BFT com 1500 peixes/m³). Foram avaliados os parâmetros de qualidade de água, de
46 crescimento, bromatológicos, bioquímicos, índices de deposição, organossomáticos e as
47 espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Foram observados maiores níveis de
48 amônia e uma diminuição do pH no BFT, isso pode estar associado à uma maior
49 densidade no sistema de BFT. Aos 30 dias houve um menor crescimento dos peixes
50 criados em altas densidades em BFT, mas aos 60 dias houve um crescimento
51 compensatório dos peixes que foram transferidos do BFT para a AC. Enquanto que os
52 peixes cultivados 60 dias em BFT com alta densidade apresentaram piores índices de
53 desempenho. Foi constatada uma melhora nos índices de deposição e eficiência proteica
54 e lipídica nos peixes transferidos do BFT para a AC. Também foi observado um
55 aumento de glicogênio nos peixes que foram cultivados 60 dias em BFT e uma
56 diminuição da proteína e dos aminoácidos no fígado dos peixes cultivados 60 dias em
57 BFT. Houve uma diminuição nas TBARS nos peixes que em algum momento foram
58 cultivados em BFT, mostrando que esse sistema pode agir como um protetor contra a
59 peroxidação lipídica. Recomenda-se o cultivo de tilápias de aproximadamente 2 g em
60 BFT com alta densidade por um período de 30 dias e após isso, a transferência para
61 sistema de produção com menores densidades de estocagem.

62

63 **Palavras-chave:** crescimento compensatório, metabolismo, *Oreochromis niloticus*

64 INTRODUÇÃO

65

66 A aquicultura é uma importante atividade que gera renda e alimento. Em 2018, a
67 produção aquícola foi de 82,1 milhões de toneladas, um crescimento de 6,82% em
68 comparação a 2016 (Food & Agriculture Organization - FAO, 2020). A produção de
69 peixes contribuiu com 66,12% do total produzido. A tilápia do Nilo (*Oreochromis*
70 *niloticus*) representou 8,3% do total de peixes produzidos e ocupa a terceira posição
71 entre as espécies mais produzidas no mundo (FAO 2020).

72 A obtenção de juvenis de boa qualidade para iniciar o processo de engorda tem
73 sido descrita como a fase mais crítica para a produção de tilápia (Ayroza et al., 2011).
74 Juvenis maiores e mais resistentes possuem elevado custo devido à baixa oferta e a falta
75 de tecnologias que viabilizam a produção nessa fase (Leonardo et al., 2009). Neste
76 sentido, a fase de berçário, caracterizada pelo período posterior à alevinagem e anterior
77 à engorda, permite o maior controle de alimentação e predadores durante um tempo
78 curto de produção. Assim, o povoamento de peixes juvenis possibilita lotes uniformes,
79 resistentes e diminuição do ciclo de produção (Leonardo et al., 2009).

80 O sistema de bioflocos (BFT) é uma tecnologia muito promissora na aquicultura.
81 Destaca-se pelos aspectos nutricionais, pois os flocos produzidos no sistema servem de
82 alimento para os peixes, podendo suprir parte da demanda proteica (Silva et al., 2018;
83 Green et al., 2019; Hisano et al., 2019; Durigon et al., 2020), e ambiental, pela
84 biosseguridade (cultivos controlados) e pouca demanda por água (Avnimelech e
85 Kochba, 2009; Crab et al., 2007; Emerenciano et al., 2013).

86 Outro elemento comumente estudado em BFT tem sido as densidades de
87 estocagem (Brol et al., 2017; Ekasari; Maryam, 2012; Haridas et al., 2017; Lima et al.,
88 2015b, 2018; Liu et al., 2018b; Vieira et al., 2019). A densidade para tilápias (1 g) tem
89 sido recomendada em aproximadamente 750 a 800 peixes/m³ (Brol et al., 2017; Lima et
90 al., 2018; Vieira et al., 2019). O aumento da densidade pode ter efeito negativo no
91 crescimento e na utilização dos nutrientes, resultando na piora da conversão alimentar
92 (Haridas et al., 2017; Liu et al., 2018). Liu et al. (2018) observaram que o aumento da
93 densidade prejudicou a atividade de enzimas antioxidantes e comprometeu o tecido
94 hepático, o que pode acarretar perda de desempenho e mortalidade.

95 Embora existam trabalhos avaliando a densidade de estocagem em BFT, os
96 mesmos não avaliam as tilápias após esse período. Algumas perdas no crescimento
97 podem ser irreversíveis e, por outro lado, pode haver crescimento compensatório com

98 rápida recuperação no desempenho. Essas respostas podem estar associadas à uma
99 melhor utilização da ração e ao aumento da eficiência alimentar ou pode ser uma
100 estratégia do organismo após a exposição a um fator estressor (Gallardo-Collí et al.,
101 2020). O objetivo com esse estudo foi avaliar o crescimento, o metabolismo e a
102 peroxidação lipídica de tilápias cultivadas em duas densidades de estocagem no BFT e
103 transferidas para sistema de água clara (AC) com baixa densidade de estocagem.

104

105 MATERIAL E MÉTODOS

106

107 O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de
108 Santa Maria – *Campus* Palmeira das Missões, RS, Brasil. Foram utilizados dois
109 sistemas de recirculação de água. O sistema de bioflocos (BFT) era formado por 12
110 unidades experimentais (caixas de polietileno de 70 L). O sistema de água clara (AC)
111 era formado 20 unidades experimentais (caixas de polietileno de 250 L) com filtragem
112 mecânica e biológica. Os sistemas continham entrada e saída individual de água,
113 oxigenação constante e sistema de controle de temperatura. A alimentação foi fornecida
114 três vezes ao dia, às 8:00 am, 1:30 pm e 6:00 pm horas. Foi utilizada uma ração
115 comercial extrusada com 45% de proteína bruta. A ração foi fornecida até saciedade
116 aparente.

117 Foram utilizadas 980 tilápias (peso inicial de $2,01 \pm 0,23$) distribuídas nos
118 sistemas AC e BFT. No sistema BFT, avaliou-se duas densidades de estocagem com
119 seis repetições: 750 e 1500 peixes/m³ baseados em Lima et al. (2018) e Vieira et al.
120 (2019). As unidades experimentais deste sistema continham volume útil de 70 L, por
121 isso foram estocados 50 e 100 peixes/unidade experimental durante 60 dias,
122 respectivamente. Após 30 dias, os peixes de duas unidades experimentais/densidade do
123 BFT foram transferidos para o sistema de AC. A densidade de estocagem utilizada no
124 sistema de AC foi 100 peixes/m³ (Ekasari e Maryam, 2012), devido o volume útil das
125 unidades experimentais (200 L), foram alojados 20 peixes/unidade experimental. Além
126 disso, no sistema de AC foi realizado um tratamento controle com densidade de 100
127 peixes/m³ cultivados por 60 dias. Os cinco tratamentos estão explicados na figura 1 e
128 foram organizados da seguinte forma:

129 AC 100: 60 dias em AC com 100 peixes/m³;

130 TRN 750: 30 dias em BFT com 750 peixes/m³ e 30 dias em AC 100 peixes/m³;

131 TRN 1500: 30 dias em BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em AC 100
132 peixes/m³;

133 BFT 750: 60 dias em BFT com 750 peixes/m³;

134 BFT 1500: 60 dias em BFT com 1500 peixes/m³.

135

136 Qualidade da água

137

138 Diariamente, a temperatura e o oxigênio da água foram aferidos com o auxílio
139 de oxímetro digital marca YSI – ProODO[®] e o pH com equipamento pHmetro modelo
140 MPA – 210 P[®]. O volume de flocos em suspensão (sólidos sedimentáveis) foi medido
141 utilizando cone de Imhoff de 1000 mL, de acordo com metodologia descrita por Eaton
142 et al. (1995). Semanalmente, a amônia total, o nitrito, o nitrato e a alcalinidade foram
143 determinados utilizando kit colorimétrico Alfakit[®].

144 Os valores de sólidos foram mantidos de 25 a 40 mL/L, a decantação dos sólidos
145 foi realizada quando o valor ultrapassava 40 mL/L. Para corrigir o pH (inferior a 6,7)
146 utilizou-se calcário agrícola. A alcalinidade foi corrigida, quando o valor fosse inferior a
147 70 mg de CaCO₃/L, com 0,025 g de bicarbonato de sódio/L (Martins et al., 2017). No
148 BFT adicionou-se melão como fonte de carbono quando o valor de amônia
149 ultrapassava 2 mg/L. No sistema de AC, a sifonagem, para a retirada de resíduos de
150 fezes e de ração, foi realizada uma vez ao dia.

151

152 Parâmetros de desempenho

153

154 Aos 30 e 60 dias foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: peso
155 final (g), comprimento total (cm), sobrevivência (%), biomassa total (g), taxa de
156 crescimento específico (%/dia): $TCE = [(\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial}))/\text{dias}] \times 100$;
157 conversão alimentar aparente: $CAA = (\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})/\text{consumo}$
158 total; ganho em peso diário (g): $GPD = (\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{dias}$; ganho em peso
159 relativo (%) $GPR = [(\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{peso inicial}] \times 100$.

160 Ao final do experimento, três peixes/unidade experimental (12
161 peixes/tratamento) foram eutanasiados por secção na medula para a determinação dos
162 pesos: carcaça, trato digestivo, fígado e gordura visceral. Posteriormente, os seguintes
163 parâmetros foram calculados: rendimento de carcaça (%): $RC = (\text{peso eviscerado com}$
164 $\text{cabeça e brânquias}/\text{peso inteiro}) \times 100$; índice hepatossomático (%): $IHS = (\text{peso}$

165 fígado/peso inteiro) $\times 100$; índice enterossomático (%): $IES = (\text{comprimento}$
166 $\text{trato/comprimento do peixe}) \times 100$; índice de gordura visceral (%): $IGV = (\text{peso da}$
167 $\text{gordura visceral/peso inteiro}) \times 100$ e fator de condição: $FC = (\text{peso final} \times$
168 $100)/\text{comprimento total}^3$.

169

170 Composição corporal e índices de deposição

171

172 No início do experimento 20 peixes foram retirados e abatidos para a análise de
173 composição corporal inicial. Aos 30 e 60 dias, 10 peixes por tratamento foram abatidos
174 para a análise deste parâmetro. Os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e
175 proteína bruta (PB) foram determinados segundo metodologia descrita na (Association
176 of Official Analytical Chemists - AOAC, 1999). O teor de lipídeos foi quantificado
177 seguindo o método proposto por (Bligh e Dyer, 1959). A partir desses resultados
178 calculou-se os seguintes parâmetros: deposição de proteína corporal (g): $DPC = \{[Pf \times$
179 $(\%PBCf/100)] - [Pi \times (\%PBCi/100)]\}$; deposição de gordura corporal (g): $DGC = \{[Pf \times$
180 $(\%GCf/100)] - [Pi \times (\%GCI/100)]\}$; coeficiente de retenção proteica (CRP) = $\{[100 \times$
181 $(Pf \times PBCf)] - [(Pi \times PBCi)/(consumo \text{ ração} \times PBd)]\}$ e taxa de eficiência proteica
182 (TEP) = (ganho em peso/quantidade de proteína consumida). Onde: Pf = peso final (g);
183 Pi = peso inicial (g); PBCi = proteína corporal inicial; PBCf = proteína corporal final;
184 PBd = proteína bruta da dieta; GCI = gordura corporal inicial; GCf = gordura corporal
185 final.

186

187 *Parâmetros Bioquímicos*

188

189 Ao final do experimento coletou-se amostras de músculo, fígado e brânquias. No
190 músculo e fígado foram analisados o teor de proteínas (BRADFORD, 1976), onde as
191 amostras (50 mg) foram aquecidas a 100°C com KOH e após centrifugadas a 3500 rpm
192 por 10 minutos. Em seguida, o teor de glicogênio foi determinado conforme descrito por
193 Krisman, (1962), utilizou-se álcool etílico para a hidrólise e precipitação do glicogênio.
194 Para a quantificação do teor de aminoácidos (SPIES, 1957) uma amostra de 50 mg de
195 tecido foi homogeneizada em tampão (TFK 20 mM) e centrifugada a 3500 rpm por 10
196 minutos. Além disso, nestes dois tecidos também foi determinado o teor de lactato
197 (Harrower e Brown, 1972). Nas brânquias e no fígado foi analisado o teor de amônia
198 total (Verdouw et al., 1978). Nos três tecidos (fígado, músculo e brânquias), foi

199 analisado o teor das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Buege e
200 Aust, 1975). No fígado foi mensurado a concentração de glicose, utilizando-se kit
201 colorimétrico comercial da marca Doles[®] (Goiânia, GO, BR).

202

203 *Análise estatística*

204

205 Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os
206 resultados que apresentaram distribuição normal foram submetidos à análise de
207 variância (ANOVA). Os dados que apresentaram diferença ao nível de 5% foram
208 submetidos ao teste Tukey. Todas as análises foram realizadas com o pacote estatístico
209 SAS (2001).

210

211 **RESULTADOS**

212

213 *Qualidade da água*

214

215 Os parâmetros de qualidade da água estão mostrados na Tabela 1. O oxigênio,
216 temperatura, nitrito, nitrato e alcalinidade não foram diferentes entre os dois sistemas de
217 produção. O valor de pH foi menor no BFT. Foi evidenciado maior concentração de
218 amônia total no BFT. O volume de sólidos sedimentáveis está apresentado na Figura 2,
219 onde observa-se que os valores não ultrapassaram 45 mL/L. Quando o valor chegava em
220 30 mL/L, era realizada a decantação para a retirada dos sólidos.

221

222 *Parâmetros de desempenho*

223

224 Os parâmetros de desempenho estão mostrados nas Tabelas 2 e 3. Aos 30 dias
225 (Tabela 2) houve diferença para o peso final, CA, TCE, GPD e GPR, os peixes
226 cultivados no sistema de AC100 apresentaram melhores parâmetros de desempenho. A
227 sobrevivência não foi afetada pelos tratamentos. Aos 60 dias (Tabela 3) houve diferença
228 para o peso inicial, uma vez que os peixes foram oriundos dos tratamentos AC 100,
229 BFT 750 e BFT 1500, após 30 dias de cultivo. O peso final, TCE e GPD dos peixes
230 cultivados em BFT foram menores quando comparados aos dos peixes cultivados em
231 sistema de AC. A CA dos peixes cultivados em sistema de AC foi menor em

232 comparação à CA dos peixes cultivados em BFT. Os peixes cultivados em TRN 750 e
233 TRN 1500 apresentaram crescimento igual ao dos peixes do tratamento AC 100.

234

235 *Composição bromatológica e índices de deposição*

236

237 A composição bromatológica e os parâmetros de deposição corporal foram
238 influenciados pelos tratamentos (Tabela 4). O teor de PB dos peixes cultivados em AC
239 100 apresentou-se maior quando comparado ao dos animais do tratamento BFT 1500. O
240 biofoco do sistema apresentou teor de PB de $31,78 \pm 0,01\%$. O teor de lipídeo foi
241 menor nos peixes cultivados na AC 100 se comparado aos demais tratamentos. Os
242 tratamentos BFT 750 e BFT 1500 resultaram em peixes com menores valores para
243 DPC, CPR e TEP. Os peixes cultivados no tratamento TRN 750 apresentaram maior
244 DGC, enquanto os peixes cultivados nos tratamentos em BFT apresentaram menor
245 DGC.

246

247 *Parâmetros organossomáticos*

248

249 Os parâmetros organossomáticos estão demonstrados na Tabela 5. Os
250 parâmetros de RC, IES, IGV e FC não foram influenciados pelos tratamentos. O IHS foi
251 maior nos tratamentos com BFT 750 e BFT 1500.

252

253 *Parâmetros bioquímicos*

254

255 Os maiores teores de glicogênio no músculo e fígado foram observados nos
256 peixes cultivados durante 60 dias em BFT. Também foi observado menor teor de
257 aminoácidos e proteínas no fígado dos peixes em BFT (Tabela 6). Já no músculo, não
258 houve diferença no teor de aminoácidos e proteínas. O teor de amônia total não diferiu
259 nos tecidos avaliados (fígado e brânquias). Houve uma diminuição no teor de TBARS
260 nos peixes que em algum momento foram criados em BFT (Figura 3).

261

262 **DISCUSSÃO**

263

264 *Qualidade da água*

265

266 Embora tenha havido diferença entre os níveis de amônia para os sistemas de
267 produção, estes valores não afetaram o desempenho dos peixes visto que o maior nível
268 encontrado foi de 3,5 mg/L. Vieira et al. (2019), avaliando densidades de tilápia em
269 BFT, encontraram concentrações de 6,5 mg/L de amônia e não houve influência no
270 desempenho. Liu et al. (2018) também observaram o aumento da amônia quando os
271 peixes foram cultivados em alta densidade em BFT, 1,02 mg/L, e 0,57 mg/L para baixa
272 densidade em AC.

273 A maior concentração de amônia no sistema de bioflocos está relacionada com a
274 maior lotação de peixes, conseqüentemente maior quantidade de ração fornecida,
275 portanto, maior excreção deste composto. Resultados semelhantes foram encontrados
276 em outros trabalhos que avaliaram densidade de tilápia em BFT (Lima et al., 2015; Liu
277 et al., 2018; Vicente et al., 2020; Vieira et al., 2019; Zaki et al., 2020).

278 O aumento do nível de amônia resultou em maior nitrificação no BFT, a qual
279 consiste na conversão de amônia em nitrito, através das bactérias *Nitrosomonas*, e
280 nitrito em nitrato, pelas bactérias *Nitrobacters* (Lima et al., 2015; Zaki et al., 2020).
281 Com isso ocorreu a diminuição do pH, pois para a oxidação da amônia é necessário a
282 utilização de íons H^+ , conseqüentemente, diminuindo o pH da água (de Oliveira Alves
283 et al., 2017). Além disso, a alcalinidade da água pode contribuir para evitar a oscilação
284 dos valores de pH ao longo do tempo (Martins et al., 2017), contudo, o parâmetro não
285 diferiu entre os sistemas produtivos. Além disso, os valores de pH e alcalinidade não
286 influenciaram o desempenho dos animais. Martins et al. (2017) encontraram valores
287 semelhantes aos do presente estudo e não observaram influência destes parâmetros
288 sobre o desempenho de tilápias.

289 Os sólidos sedimentáveis caracterizam-se pelo conjunto de resíduos de ração,
290 fezes e microrganismos e podem representar de 30 a 50% da ingestão de nutrientes
291 pelos peixes (Avnimelech, 2007), podendo contribuir para o crescimento e a saúde
292 (Haridas et al., 2017). Entretanto, quando em excesso, os sólidos podem ocasionar
293 problemas para os peixes, como exemplo, a obstrução das brânquias causando estresse e
294 perda de desempenho (Liu et al., 2018). Desta forma, os valores de sólidos
295 sedimentáveis foram mantidos entre 20 e 30 mL/L, semelhantes aos demonstrados por
296 Zaki et al. (2020).

297 Os demais parâmetros de qualidade de água como, oxigênio, temperatura, nitrito
298 e nitrato não apresentaram diferença entre os sistemas de produção, sugere-se que tais
299 parâmetros não influenciaram no desempenho dos animais, uma vez que, encontravam-

300 se nas faixas recomendadas por (Baldisserotto, 2013; El-Sayed, 2006) para a espécie em
301 questão.

302

303 *Parâmetros de desempenho*

304

305 Quando comparado a criação de tilápias em mesma densidades no sistema de
306 BFT e AC tem sido observado que com o sistema de BFT é possível aumentar a
307 densidade de estocagem (Ekasari e Maryam, 2012; Liu et al., 2018; Vieira et al., 2019).
308 Entretanto, no presente estudo, no sistema de AC a densidade de estocagem foi bem
309 inferior, a fim de que os peixes conseguissem atingir o máximo desempenho. Após 30
310 dias foi observado maior crescimento dos peixes cultivados em AC quando comparado
311 às duas densidades em BFT, de 750 e 1500 que foram 7,5 e 15 vezes maiores que a
312 densidade de AC.

313 A criação parcial de tilápia em sistema BFT proporciona condições para
314 aumentar a densidade de juvenis de tilápias. As tilápias criadas em densidade de 1500
315 m³ durante 30 dias em BFT e posteriormente 30 dias em AC apresentaram o mesmo
316 crescimento que as criadas em uma densidade mais baixa e totalmente em água clara
317 (AC 100). O BFT favorece o adensamento de peixes sem comprometer o crescimento,
318 pois este sistema contém compostos como carotenoides, clorofilas, polissacarídeos,
319 fitoesteróis, taurina e vitaminas lipossolúveis (Yu et al., 2020a 2020b), que podem
320 servir como aditivos nutricionais aos peixes. No entanto, o estresse devido ao aumento
321 da densidade é inevitável, uma vez que as tilápias também estabelecem uma hierarquia
322 social e a alimentação de alguns peixes pode ser restrita (Zhang et al., 2016). Em geral,
323 altas densidades de estocagem resultam em heterogeneidade nas taxas de crescimento,
324 pesos finais e consumo de ração, além disso, podem causar mortalidade (Liu et al.,
325 2018).

326 Após 60 dias os peixes que foram transferidos do BFT para o sistema de AC
327 apresentaram peso igual aos peixes cultivados por 60 dias em sistema de AC com baixa
328 densidade, com isso sugere-se um crescimento compensatório. Este fato já foi
329 demonstrado para camarões submetidos à restrição alimentar em BFT (Maciel et al.,
330 2018; Rocha et al., 2019), para tilápias submetidas a períodos de restrição alimentar em
331 BFT (Gallardo-Collí et al., 2020) e diferentes períodos de transferência para o BFT (de
332 Oliveira Alves et al., 2017). O crescimento compensatório consiste numa fase de
333 crescimento mais acelerada após o animal passar por um período de cultivo em

334 condições desfavoráveis, seja pela restrição alimentar, parâmetros de qualidade de água
335 inadequados, ou qualquer outro fator que possa causar estresse (Ali et al., 2003).

336 Neste estudo, a CA foi maior em peixes cultivados em BFT, o que não está de
337 acordo com os resultados encontrados por Long et al. (2015), Luo et al. (2014) e
338 Mansour e Esteban, (2017). No entanto, o aumento da densidade pode ter efeito
339 negativo sobre a atividade de enzimas digestivas (Liu et al., 2018), por consequência,
340 predispor uma má digestão e utilização do alimento, resultando em um aumento da CA
341 (Haridas et al., 2017; Liu et al., 2018; Vicente et al., 2020). Já nos peixes com
342 densidades de 750 e 1500/m³ transferidos para AC após 30 dias foi observada CA
343 menor (0,88 e 0,91, respectivamente), evidenciando um possível crescimento
344 compensatório. Para os peixes cultivados durante 60 dias em sistema de AC, a CA foi
345 de 0,97, isso sugere que, embora os peixes receberam uma ração de boa qualidade,
346 houve uma boa eficiência da espécie em converter o alimento em produto.

347 A sobrevivência não diferiu entre os tratamentos ao final de 30 e 60 dias de
348 experimento, sendo que a menor, ao final de 60 dias, foi de 88,57%. Esse resultado tem
349 sido considerado bom se observarmos o alto crescimento neste período experimental.
350 No presente estudo, os resultados de sobrevivência foram semelhantes aos de outros
351 trabalhos que avaliaram a densidade de tilápias (Lima et al., 2018; Vieira et al., 2019).
352 Para TCE e GPD dos peixes, resultados semelhantes foram encontrados por Liu et al.
353 (2018), onde os tratamentos com alta densidade em BFT apresentaram menor
354 crescimento.

355

356 Composição bromatológica e índices de deposição corporal

357

358 Peixes que foram transferidos do BFT para o sistema de AC apresentaram uma
359 menor quantidade de MS, logo uma maior quantidade de água na carcaça, fato esse que
360 está diretamente relacionado ao crescimento compensatório visto que quando um animal
361 tem um crescimento acelerado o primeiro reflexo é uma maior deposição de água (Ali et
362 al., 2003).

363 Todos os parâmetros que indicam a eficiência do uso da proteína (PB, DPC,
364 CRP e TEP) tiveram comportamento muito semelhante, principalmente, onde os peixes
365 terminados com baixa densidade em sistema de AC tiveram uma melhora nestes
366 parâmetros, fato este que também pode estar relacionado com o crescimento
367 compensatório (de Oliveira Alves et al., 2017). Além da deposição de água, o primeiro

368 nutriente a ser depositado é a proteína, pois após um período de estresse alimentar, há
369 um aumento muito rápido da atividade da ornitina descarboxilase, enzima que
370 desempenha um papel limitante da taxa na síntese de poliamina, que reflete a síntese de
371 proteínas (Ali et al., 2003). Por outro lado, no presente estudo foi observado que o
372 aumento da densidade tem influência negativa sobre a TEP, como já foi observado por
373 Zaki et al. (2020). Resultados semelhantes foram observados em animais que passaram
374 por um período de restrição e, ao final, apresentaram uma melhora na eficiência
375 alimentar (Wang et al., 2005).

376 O teor de lipídeos foi maior nos peixes que em algum momento foram mantidos
377 em BFT, isso pode ser explicado devido à presença dos microrganismos neste sistema,
378 os quais são ricos em ácidos graxos e podem contribuir para a alimentação de peixes
379 como já foi relatado por Azim e Little, (2008), Crab et al. (2010), Ekasari et al. (2010) e
380 Toledo et al. (2016). Alguns ácidos graxos foram encontrados em grandes quantidades
381 no biofoco, como exemplo, o araquidônico (C20:4 n6), que pode ser encontrado em
382 quantidades cinco vezes maior no biofoco quando comparado a ração fornecida para os
383 peixes, além de ser importante fonte de PUFA (Toledo et al., 2016). Os resultados deste
384 estudo corroboram com os encontrados por Long et al. (2015), que demonstraram maior
385 teor de lipídeos em peixes cultivados em BFT.

386

387 *Parâmetros organossomáticos*

388

389 Não houve diferença para o IES dos peixes. O uso de alimento natural pode estar
390 associado a este parâmetro (Moreira et al., 2012). Entretanto, neste estudo não foi
391 observado este efeito, resultado semelhante ao encontrado por Nhi et al. (2018).
392 Contudo, vale ressaltar que o tamanho do trato gastrointestinal não está necessariamente
393 correlacionado com a absorção de nutrientes, uma vez que esta está relacionada ao
394 tamanho das vilosidades intestinais (Nhi et al., 2018).

395 Neste trabalho, o biofoco continha em média 31,78% de PB, esse resultado
396 pode explicar o aumento do IHS dos peixes cultivados durante 60 dias neste sistema. Já
397 que o desequilíbrio de aminoácidos ou excesso de proteína na alimentação pode
398 acarretar numa sobrecarga de nutrientes no fígado dos peixes.

399

400 *Parâmetros bioquímicos*

401

402 Os peixes criados parcialmente em BFT/água clara apresentaram maiores
403 quantidades de proteína e AA no fígado que os totalmente criados em BFT.
404 Aminoácidos são compostos necessários para o crescimento muscular e ganho de peso
405 magro em peixes. A criação parcial dos peixes em BFT pode ter melhorado a condição
406 do trato gastrointestinal, como por exemplo uma melhora nas enzimas digestivas, o que
407 levou a uma melhor absorção de aminoácidos (Long et al., 2015; Luo et al., 2014).

408 A glicose consiste na principal fonte do metabolismo de energia na maioria dos
409 animais, podendo ser armazenada na forma de glicogênio, encontrado em maior
410 quantidade no fígado e no músculo, sendo a única forma direta de armazenamento da
411 glicose no organismo (Kelein, 2014). Desta forma, a maior quantidade de glicogênio
412 depositado nos tecidos pode indicar uma maior reserva de energia, isso pode corroborar
413 com o aumento do IHS.

414 A maior quantidade de aminoácidos nos peixes cultivados por 30 dias em BFT e
415 30 dias em AC, pode ser benéfica para o organismo, visto que estes compostos também
416 são combustíveis importantes, além de constituírem a estrutura das proteínas. Além
417 disso, os aminoácidos são importantes substratos para a neoglicogênese, indicando que
418 eles (a maioria dos aminoácidos) podem ser convertidos em glicose quando a
419 disponibilidade desta for pequena (Kelein, 2014).

420 O aumento do lactato no músculo dos peixes cultivados por 60 dias em BFT
421 pode estar relacionado ao maior gasto de energia para o deslocamento neste ambiente.
422 No BFT há uma maior movimentação da água para não decantar os sólidos. Essa
423 movimentação da água proporciona um maior gasto energético dos peixes ao se
424 deslocarem neste ambiente. A maior demanda energética estimula o ciclo anaeróbico no
425 tecido muscular (ciclo de Cori) para suprir a demanda energética (Battisti et al., 2020).
426 Assim, há um aumento na concentração de lactato no músculo.

427 A menor peroxidação lipídica nos peixes cultivados em BFT, observada redução
428 nos valores de TBARS no fígado para os tratamentos mantidos pelo menos por 30 dias e
429 BFT e para o músculo para os tratamentos TRNs, podem estar relacionadas aos
430 compostos bioativos presentes no bioflocos incluindo aminoácidos livres (Ju et al.,
431 2008), minerais e vitaminas (Tacon et al., 2002), como a vitamina C (Crab et al., 2012),
432 vitamina B12 e vitamina E (Logan et al., 2010), além de carotenóides, clorofilas,
433 polissacarídeos, fitoesteróis e taurina (Yu et al., 2020a 2020b,.) que são responsáveis
434 pela melhora do estado de saúde de organismos aquáticos (Xu e Pan, 2013). Em adição,
435 o BFT pode auxiliar na síntese de óxido nítrico, este que desempenha importante papel

436 na redução do estresse oxidativo e no aumento da resposta imune de peixes (ZHAO et
437 al., 2012; CARDONA et al., 2016).

438

439 **CONCLUSÃO**

440

441 Os peixes cultivados em sistema de BFT, independente do tempo apresentaram
442 crescimento compensatório e menor peroxidação lipídica. Sendo assim, a densidade de
443 criação de tilápia pode ser de até 1500 peixes/m³ em BFT, com posterior transferência
444 para o sistema de água clara e redução para a densidade de estocagem de 100 peixes/
445 m². Mais estudos nesta temática ainda são imprescindíveis para avaliar o crescimento
446 dos peixes após 60 dia em sistema de BFT com altas densidade.

447

448

449 **DECLARAÇÃO DE PROTEÇÃO ANIMAL**

450

451 Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso
452 de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Maria com o protocolo número
453 2423200420.

454

455 **CONFLITO DE INTERESSE**

456

457 Os autores declaram que não há conflito de interesses.

458

459

460 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

461

462 Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2010. Effect of
463 dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed
464 utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.).
465 *Aquaculture* 298, 267–274. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.10.027

466 Ali, M., Nicieza, A., Wootton, R.J., 2003. Compensatory growth in fishes: a response to
467 growth depression. *Fish Fish.* 4, 147–190. doi:10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x

468 Alves, G.F. de O., Fernandes, A.F.A., de Alvarenga, É.R., Turra, E.M., de Sousa, A.B.,
469 de Alencar Teixeira, E., 2017. Effect of the transfer at different moments of
470 juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to the biofloc system in formation.
471 *Aquaculture* 479, 564–570. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.06.029

472 AOAC, 1999. AOAC International, Official methods of analysis, 16th edn. ed.
473 Washington.

474 Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge
475 bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.
476 doi:10.1016/j.aquaculture.2006.11.025

477 Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by
478 tilapia in biofloc tanks, using 15 N tracing. *Aquaculture* 287, 163–168.
479 doi:10.1016/j.aquaculture.2008.10.009

480 Ayroza, L.M. da S., Romagosa, E., Ayroza, D.M.M. de R., Filho, J.D.S., Salles, F.A.,
481 2011. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tanques-
482 rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 231–
483 239. doi:10.1590/S1516-35982011000200001

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

487 Baldisserotto, B., 2013. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, 3ª edition. ed. Santa
488 Maria.

489 Battisti, E.K., Rabaioli, A., Uczay, J., Sutili, J., Lazzari, R., 2020. Effect of stocking
490 density on growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant
491 status of silver catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system. *Aquaculture*
492 524, 735213. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735213

493 Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification,

494 in: Can. J. Biochem. Physiol. 32, 911-917.

495 Buege, J.A., Aust, S.D., 1975. [30] Microsomal lipid peroxidation. J. Phys. Conf. Ser.
496 71, 302–310. doi:10.1088/1742-6596/71/1/012004

497 Cardona, E., Lorgeoux, B., Chim, L., Goguenheim, J., Le Delliou, H., Cahu, C., 2016.
498 Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive
499 performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences
500 for the quality of eggs and larvae. Aquaculture 452, 252–262.
501 doi:10.1016/j.aquaculture.2015.08.003

502 Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen
503 removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture 270,
504 1–14. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.05.006

505 Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of
506 different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for
507 *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquac. Res. 41, 559–567.
508 doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x

509 Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in
510 aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture 356–357, 351–
511 356. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.04.046

512 Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Lopesa, D.L. de A., Jerônimo, G.T., Sgnaulin, T.,
513 Emerenciano, M.G.C., 2020. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of
514 digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in
515 brackish water. Aquac. Fish. 5, 42–51. doi:10.1016/j.aaf.2019.07.001

516 Eaton, A.D., Cleserci, L.S., Greenberg, A.E., 1995. Standard methods for the
517 examination of water and waste water., 10th ed. ed. Washington.

518 Ekasari, J., Crab, R., Verstraete, W., 2010. Primary nutritional content of bio-flocs
519 cultured with different organic carbon sources and salinity. HAYATI J. Biosci. 17,
520 125–130. doi:10.4308/hjb.17.3.125

521 Ekasari, J., Maryam, S., 2012. Evaluation of biofloc technology application on water
522 quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. cultured at
523 different stocking densities. HAYATI J. Biosci. 19, 73–80.
524 doi:10.4308/hjb.19.2.73

525 El-Sayed, E.M., 2006. Tilapia culture, CABI publi. ed. Massachusetts, USA.

526 Emerenciano, M., Gaxiola, G., Cuzon, G., 2013. Biofloc Technology (BFT): A Review
527 for Aquaculture Application and Animal Food Industry, IN: Intech. pp. 301–328.

528 doi:10.5772/53902

529 FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2020. The State of
530 World Fisheries and Aquaculture. Rome. doi:10.4060/ca9229en

531 Gallardo-Collí, A., Pérez-Fuentes, M., Pérez-Rostro, C.I., Hernández-Vergara, M.P.,
532 2020. Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, L . subjected to
533 cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. *Aquac. Res.* 1–
534 11. doi:10.1111/are.14530

535 Green, B.W., Mcentire, M.E., Rawles, S.D., Schrader, K.K., Gaylord, T.G., 2019.
536 Effects of dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O.*
537 *niloticus*) performance , common microbial off-flavor compounds , and water
538 quality dynamics in an outdoor biofloc technology production system. *Aquaculture*
539 503, 571–582. doi:10.1016/j.aquaculture.2019.01.034

540 Haridas, H., Verma, A.K., Rathore, G., Prakash, C., Banerjee, P., 2017. Enhanced
541 growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed
542 Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. *Aquac. Res.* 1–10.
543 doi:10.1111/are.13256

544 Harrower, J.R., Brown, C.H., 1972. Lactic acid -a of microliter micromethod samples
545 adapted to field collection. *J. Appl. Physiol.* 32, 709–711.

546 Hisano, H., Parisi, J., Cardoso, I.L., Ferri, G.H., Ferreira, P.M.F., 2019. Dietary protein
547 reduction for Nile tilapia fingerlings reared in biofloc technology. *J. World Aquac.*
548 *Soc.* 1–11. doi:10.1111/jwas.12670

549 Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C., Horgen, F.D., 2008.
550 Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by
551 biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquac. Res.* 39, 118–133.
552 doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x

553 Kelein, B.G., 2014. Cunningham: tratado de fisiologia veterinária, 5a edição. ed. Rio de
554 Janeiro.

555 Krisman, C. R. (1962). A method for the colorimetric estimation of glycogen with
556 iodine. *Analytical Biochemistry*, 4(1), 17–23. [https://doi.org/10.1016/0003-](https://doi.org/10.1016/0003-2697(62)90014-3)
557 [2697\(62\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(62)90014-3)

558 Leonardo, A.F.G., Tachibana, L., Corrêa, C.F., Baccarin, A.E., Filho, J.D.S., 2009.
559 Avaliação econômica da produção de juvenis de tilápia-do-nilo, alimentados com
560 ração comercial e com a produção primária advinda da adubação orgânica e
561 inorgânica. *Custos e @gronegocio line 5*, 22–35.

- 562 Lima, E.C.R. de, Souza, R.L. de, Wambach, X.F., Lima, U., Correia, E. de S., 2015.
563 Culture of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in biofloc system with different
564 stocking densities. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim 16, 948–957. doi:10.1590/S1519-
565 99402015000400018
- 566 Lima, P.C.M., Abreu, J.L., Silva, A.E.M., Severi, W., Galvez, A.O., Brito, L.O., 2018.
567 Nile tilapia fingerling cultivated in a low-salinity biofloc system at different
568 stocking densities. Spanish J. Agric. Res. 16, 1–9.
- 569 Liu, G., Ye, Z., Liu, D., Zhao, J., Sivaramasamy, E., Deng, Y., Zhu, S., 2018. Influence
570 of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses,
571 antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. Fish Shellfish
572 Immunol. 81, 416–422. doi:10.1016/j.fsi.2018.07.047
- 573 Logan, A.J., Lawrence, A., Dominy, W., Albert, G.J., 2010. Single-cell proteins from
574 food byproducts provide protein in aquafeed. Glob. Aquac. Advocate 1–4.
- 575 Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F., 2015. Effect of biofloc technology on
576 growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of
577 genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 448,
578 135–141. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.05.017
- 579 Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H., 2014. Growth, digestive
580 activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed
581 tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and
582 an indoor biofloc system. Aquaculture 422–423, 1–7.
583 doi:10.1016/j.aquaculture.2013.11.023
- 584 Maciel, J.C., Francisco, C.J., Miranda-Filho, K.C., 2018. Compensatory growth and
585 feed restriction in marine shrimp production , with emphasis on biofloc
586 technology. Aquac. Int. 26, 203–212. doi:10.1007/s10499-017-0209-z
- 587 Mansour, A.T., Esteban, M.Á., 2017. Effects of carbon sources and plant protein levels
588 in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status
589 of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Shellfish Immunol. 64, 202–209.
590 doi:10.1016/j.fsi.2017.03.025
- 591 Martins, G.B., Tarouco, F., Rosa, C.E., Robaldo, R.B., 2017. The utilization of sodium
592 bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality,
593 growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
594 Aquaculture 468, 10–17. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.09.046
- 595 Moreira, R.L., Silveira, L.P., Teixeira, E.G., Glaydson, A., 2012. Growth and

596 gastrointestinal indices in Nile tilapia fed with different diets. *Acta Sci.* 34, 223–
597 229. doi:10.4025/actascianimsci.v34i3.13327

598 Nhi, N.H.Y., Da, C.T., Lundh, T., Lan, T.T., Kiessling, A., 2018. Comparative
599 evaluation of Brewer's yeast as a replacement for fishmeal in diets for tilapia
600 (*Oreochromis niloticus*), reared in clear water or biofloc environments.
601 *Aquaculture* 495, 654–660. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.06.035

602 Rocha, J.V., Silva, J.F., Barros, C., Peixoto, S., Soares, R., 2019. Compensatory growth
603 and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding
604 restriction in a biofloc system. *Aquac. Res.* 1–10. doi:10.1111/are.14323

605 Silva, M.A., de Alvarenga, É.R., de O Alves, G.F., Manduca, L.G., Turra, E.M., de
606 Brito, T.S., de Sales, S.C.M., da Silva Junior, A.F., Borges, W.J.M., Teixeira, E.A.,
607 2018. Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia
608 (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. *Aquac. Res.* 49, 1–11.
609 doi:10.1111/are.13730

610 Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E.,
611 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific
612 white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets.
613 *Aquaculture Nutrition* 8, 121–137.

614 Toledo, T.M., Silva, B.C., Vieira, F. do N., Mouriño, J.L.P., Seiffert, W.Q., 2016.
615 Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white
616 shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: water quality ,
617 biofloc composition , growth and health. *Aquac. Res.* 47, 1841–1851.
618 doi:10.1111/are.12642

619 Verdouw, H., Van Echteld, C.J.A., Dekkers, E.M.J., 1978. Ammonia determination
620 based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Res.* 12, 399–402.
621 doi:10.1016/0043-1354(78)90107-0

622 Vicente, L.R.M., Owatari, M.S., Mouriño, J.L.P., Silva, B.C. da, Vieira, F. do N., 2020.
623 Nile tilapia nursery in a biofloc system : evaluation of different stocking densities.
624 *Bol. do Inst. Pesca* 46, 1–9. doi:10.20950/1678-2305.2020.46.2.573

625 Vieira, R.B., Barreto, L.M., Fonseca, K.Z., Lordelo, M.S., Souza, F.R. de, Evangelista-
626 Barreto, N.S., 2019. Zootechnical performance evaluation of the use of biofloc
627 technology in Nile tilapia fingerling production at different densities. *Bol. do Inst.*
628 *Pesca* 45, 1–9. doi:10.20950/1678-2305.2019.45.4.505

629 Wang, B.Y., Cui, Y., Yang, Y., Cai, F., 2005. Partial compensatory growth in hybrid

630 tilapia *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus* following food deprivation. J.
631 Appl. Ichthyol 21, 389–393. doi:10.1111/j.1439-0426.2005.00648.x

632 Xu, W., Pan, L., 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of
633 *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C
634 / N ratio of feed input. Aquaculture 412–413, 117–124.
635 doi:10.1016/j.aquaculture.2013.07.017

636 Yu, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Duan, J., Wang, J., Liu, Y., 2020a. Monitoring of
637 growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters
638 of Golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero- water exchange tanks of
639 biofloc systems. Aquac. Reports 16, 1–10. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100283

640 Yu, Z., Zheng, Y., Du, H., Li, H., Wu, L., 2020b. Bioflocs protects copper-induced
641 inflammatory response and oxidative stress in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski
642 through inhibiting NF- κ B and Nrf2 signaling pathways. Fish Shellfish Immunol.
643 98, 466–476. doi:10.1016/j.fsi.2020.01.048

644 Zaki, M.A.A., Alabssawy, A.N., Nour, A.E.M., Basuini, M.F. El, Dawood, M.A.O.,
645 Alkahtani, S., Abdel-daim, M.M., 2020. The impact of stocking density and dietary
646 carbon sources on the growth , oxidative status and stress markers of Nile tilapia (
647 *Oreochromis niloticus*) reared under biofloc conditions. Aquac. Reports 16, 1–8.
648 doi:10.1016/j.aqrep.2020.100282

649 Zhang, N., Luo, G., Tan, H., Liu, W., Hou, Z., 2016. Growth, digestive enzyme activity
650 and welfare of tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc-based system
651 with poly- β -hydroxybutyric as a carbon source. Aquaculture 464, 710–717.
652 doi:10.1016/j.aquaculture.2016.08.013

653 Zhao, Y., Zhang, W., Xu, W., Mai, K., Zhang, Y., Liufu, Z., 2012. Effects of potential
654 probiotic *Bacillus subtilis* T13 on growth, immunity and disease resistance against
655 *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Fish
656 Shellfish Immunol. 32, 750–755. doi:10.1016/j.fsi.2012.01.027

657
658

659 Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água para tilápias cultivadas em sistema de
 660 bioflocos (BFT) e água clara (AC)

| Parâmetros | BFT | AC | p |
|--|--------------|--------------|--------|
| Oxigênio (mg/L) | 7,13 ± 0,55 | 7,16 ± 0,81 | NS |
| | 5,78 – 7,95 | 4,45 – 8,20 | |
| Temperatura (°C) | 25,42 ± 2,32 | 25,10 ± 1,95 | NS |
| | 22,0 – 31,5 | 20,2 – 29,0 | |
| pH | 7,02 ± 0,16 | 7,79 ± 0,15 | < 0.01 |
| | 6,4 – 7,2 | 7,1 – 8,0 | |
| Amônia (mg/L NH ₃) | 1,28 ± 1,20 | 0,13 ± 0,03 | <0.01 |
| | 0 – 3,5 | 0 – 0,5 | |
| Nitrito (mg/L NO ₂ ⁻) | 0,23 ± 0,14 | 0,15 ± 0,05 | NS |
| | 0,0 – 0,50 | 0 – 0,25 | |
| Nitrato (mg/L NO ₃ ⁻) | 1,38 ± 0,84 | 0,72 ± 0,64 | NS |
| | 0 – 5,2 | 0 – 3,1 | |
| Alcalinidade (mg/L de CaCO ₃) | 70,33 ± 9,37 | 75,67 ± 5,89 | NS |
| | 55 – 80 | 68 – 82 | |

661 Média ± desvio padrão, mínimo – máximo.

662

663

664 Tabela 2. Desempenho de tilápias cultivadas em sistema de água clara com 100 peixes
 665 por m³ (AC 100) e em sistema de bioflocos com 750 e 1500 peixes por m³ (BFT 750 e
 666 BFT 1500) nos primeiros 30 dias de experimento

| | AC 100 | BFT 750 | BFT 1500 | p |
|-------------------|----------------|---------------|---------------|-----------|
| Peso Inicial (g) | 1,87 ± 0,30 | 2,01 ± 0,23 | 2,05 ± 0,19 | NS (0,91) |
| Peso Final (g) | 10,84 ± 0,84 a | 9,28 ± 0,41 b | 9,10 ± 0,27 b | < 0,001 |
| Sobrevivência (%) | 91,88 ± 9,88 | 93,33 ± 3,27 | 92,50 ± 2,26 | NS (0,77) |
| CA | 1,06 ± 0,12 a | 1,32 ± 0,13 b | 1,34 ± 0,06 b | 0,001 |
| TCE (%/dia) | 5,86 ± 0,25 a | 5,09 ± 0,15 b | 4,97 ± 0,09 b | < 0,001 |
| GPD (g) | 0,30 ± 0,03 a | 0,24 ± 0,01 b | 0,24 ± 0,01 b | < 0,001 |

667 CA: conversão alimentar; TCE: taxa de crescimento específico; GPD: ganho de peso diário; AC
 668 100: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; BFT 750: tilápias
 669 cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³ e BFT 1500: tilápias cultivadas 30
 670 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³.
 671
 672

673 Tabela 3. Desempenho de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com
 674 diferentes densidades durante 60 dias

| | AC 100 | TRN 750 | TRN 1500 | BFT 750 | BFT 1500 | p |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| PI (g) | 10,33 ± 0,66 a | 9,39 ± 0,16 b | 9,17 ± 0,34 b | 9,19 ± 0,50 b | 9,16 ± 0,32 b | 0,01 |
| PF (g) | 38,19 ± 2,91 a | 38,03 ± 1,03 a | 37,41 ± 1,54 a | 28,13 ± 0,82 b | 28,69 ± 0,78 b | < 0,01 |
| Sob (%) | 97,22 ± 5,56 | 94,44 ± 6,42 | 97,22 ± 3,21 | 94,58 ± 2,31 | 88,57 ± 3,71 | NS (0,09) |
| CA | 0,97 ± 0,03 a | 0,91 ± 0,08 a | 0,88 ± 0,03 a | 1,18 ± 0,03 b | 1,22 ± 0,07 b | < 0,01 |
| TCE (%/dia) | 4,36 ± 0,26 a | 4,64 ± 0,10 a | 4,68 ± 0,07 a | 3,73 ± 0,18 b | 3,80 ± 0,16 b | < 0,01 |
| GPD (g) | 0,93 ± 0,09 a | 0,95 ± 0,03 a | 0,94 ± 0,04 a | 0,63 ± 0,03 b | 0,65 ± 0,03 b | < 0,01 |

675 PI: peso inicial; PF: peso final; Sob: Sobrevivência; CA: conversão alimentar; TCE: taxa de
 676 crescimento específico; GPD: ganho de peso diário; AC 100: tilápias cultivadas 60 dias em
 677 sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 750: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT
 678 com 750 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 1500: tilápias
 679 cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100
 680 peixes/m³; BFT 750: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³; BFT
 681 1500: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³.
 682

683 Tabela 4. Composição bromatológica e índices de deposição de tilápias cultivadas em
 684 sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades por 60 dias

| | AC 100 | TRN 750 | TRN 1500 | BFT 750 | BFT 1500 | P |
|--------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|---------|
| PB (%) | 14,60 ± 0,47 a | 14,43 ± 0,36 ab | 14,11 ± 0,13 ab | 14,36 ± 0,06 ab | 13,54 ± 0,73 b | 0,03 |
| Lipídeos (%) | 7,37 ± 0,24 c | 9,66 ± 0,17 a | 8,45 ± 0,23 b | 8,13 ± 0,23 b | 8,33 ± 0,08 b | < 0,01 |
| MS (%) | 26,52 ± 0,20 b | 26,65 ± 0,66 b | 25,57 ± 0,33 c | 27,43 ± 0,18 a | 26,38 ± 0,15 b | < 0,01 |
| MM (%) | 3,88 ± 0,25 | 3,96 ± 0,40 | 3,01 ± 0,15 | 3,41 ± 0,18 | 3,43 ± 0,20 | NS 0,23 |
| DPC (g) | 4,20 ± 0,42 a | 4,26 ± 0,15 a | 3,95 ± 0,22 a | 2,81 ± 0,12 b | 2,56 ± 0,11 b | < 0,01 |
| DGC (g) | 2,08 ± 0,21 c | 2,99 ± 0,10 a | 2,45 ± 0,13 b | 1,60 ± 0,07 d | 1,68 ± 0,07 d | < 0,01 |
| CRP (%) | 37,69 ± 2,48 a | 40,08 ± 3,09 a | 36,99 ± 1,41 a | 29,14 ± 1,07 b | 25,46 ± 0,96 b | < 0,01 |
| TEP (%) | 2,44 ± 0,17 a | 2,55 ± 0,20 a | 2,48 ± 0,10 a | 1,79 ± 0,07 b | 1,77 ± 0,07 b | < 0,01 |

685 PB: proteína bruta; MS: matéria seca; MM: matéria mineral; DPC: deposição de proteína
 686 corporal; DGC: deposição de gordura corporal; CRP: coeficiente de retenção proteica; TEP:
 687 taxa de eficiência proteica. AC 100: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de AC com 100
 688 peixes/m³; TRN 750: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³ e 30
 689 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 1500: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de
 690 BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; BFT 750: tilápias
 691 cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³; BFT 1500: tilápias cultivadas 60 dias
 692 em sistema de BFT com 1500 peixes/m³.

693
 694
 695

696 Tabela 5. Parâmetros organossomáticos de tilápias cultivadas em sistema de água clara
 697 e bioflocos com diferentes densidades

| | AC 100 | TRN 750 | TRN 1500 | BFT 750 | BFT 1500 | P |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| RC | 86,21 ± 0,93 | 85,37 ± 1,42 | 86,76 ± 1,00 | 84,51 ± 1,10 | 85,25 ± 0,84 | (NS 0,16) |
| IHS | 3,33 ± 0,81 b | 3,79 ± 0,66 b | 3,33 ± 0,31 b | 5,48 ± 0,97 a | 5,54 ± 3,79 a | < 0,01 |
| IES | 610 ± 68 | 611 ± 107 | 579 ± 79 | 533 ± 52 | 533 ± 85,16 | NS (0,68) |
| IGV | 1,42 ± 0,52 | 1,54 ± 0,77 | 1,22 ± 0,39 | 1,52 ± 0,32 | 1,43 ± 0,42 | NS (0,63) |
| FC | 1,98 ± 0,14 | 2,05 ± 0,14 | 1,96 ± 0,10 | 2,10 ± 0,18 | 2,02 ± 0,17 | NS (0,27) |

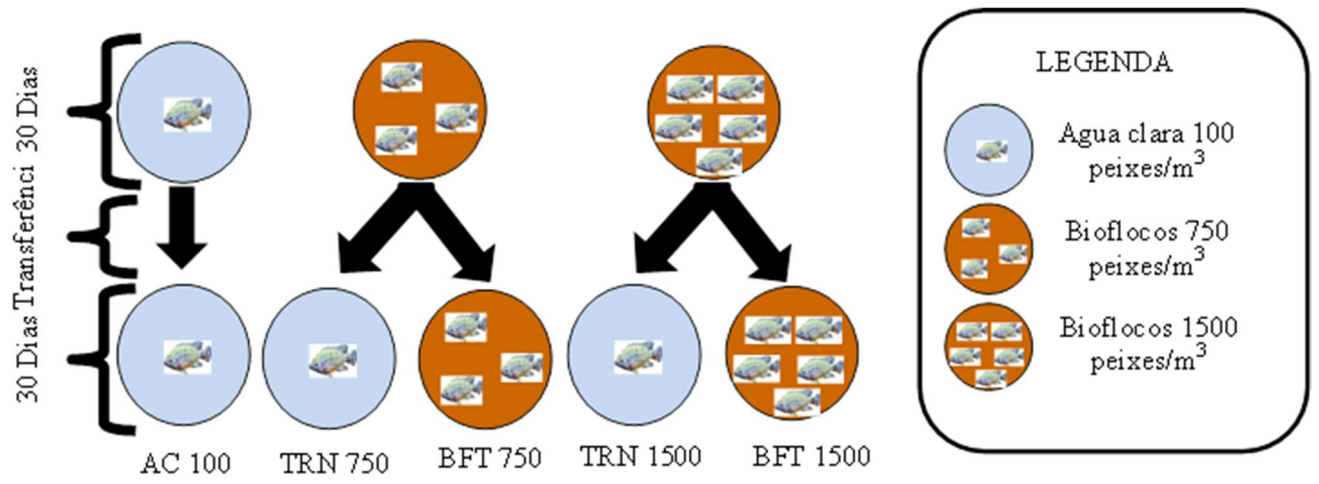
698 RC: rendimento de carcaça (%); IHS: índice hepatossomático (%); IES: índice enterossomático
 699 (%); IGV: índice de gordura visceral (%); FC: fator de condição. AC 100: tilápias cultivadas 60
 700 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 750: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de
 701 BFT com 750 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 1500: tilápias
 702 cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100
 703 peixes/m³; BFT 750: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³; BFT
 704 1500: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³.

705 Tabela 6. Parâmetros bioquímicos de tilápias cultivadas em sistema de água clara e bioflocos com diferentes densidades

| | AC 100 | TRN 750 | TRN 1500 | BFT 750 | BFT 1500 | P |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|------------|
| | | | Músculo | | | |
| Aminoácidos ($\mu\text{mol/g}$) | 167,60 \pm 13,01 | 177,19 \pm 52,27 | 195,70 \pm 20,92 | 183,17 \pm 18,25 | 191,41 \pm 10,83 | NS 0,348 |
| Proteína (mg/g) | 63,79 \pm 4,99 | 68,61 \pm 7,58 | 70,17 \pm 10,86 | 60,91 \pm 8,82 | 64,89 \pm 3,21 | NS (0,179) |
| Lactato ($\mu\text{mol/g}$) | 20,64 \pm 4,66 b | 24,81 \pm 4,79 ab | 23,27 \pm 3,05 b | 25,65 \pm 5,82 ab | 31,02 \pm 5,53 a | 0,007 |
| Glicogênio (mg/g) | 12,98 \pm 0,95 bc | 14,75 \pm 1,26 b | 11,29 \pm 2,05 c | 15,93 \pm 3,24 ab | 17,16 \pm 2,52 a | <0,001 |
| | | | Fígado | | | |
| Aminoácidos ($\mu\text{mol/g}$) | 162,55 \pm 24,42 ab | 177,07 \pm 25,93 a | 186,57 \pm 6,27 a | 137,42 \pm 24,68 b | 151,26 \pm 8,99 b | <0,001 |
| Proteína (mg/g) | 66,35 \pm 14,71 a | 65,67 \pm 8,23 a | 71,27 \pm 6,20 a | 48,42 \pm 6,35 b | 51,31 \pm 5,89 b | <0,001 |
| Lactato ($\mu\text{mol/g}$) | 4,02 \pm 1,32 | 5,04 \pm 1,11 | 4,05 \pm 0,80 | 4,68 \pm 0,84 | 5,00 \pm 0,76 | NS (0,161) |
| Amônia ($\mu\text{mol/g}$) | 8,18 \pm 1,69 | 8,80 \pm 1,74 | 7,34 \pm 1,81 | 7,16 \pm 1,01 | 6,49 \pm 1,40 | NS(0,074) |
| Glicogênio (mg/g) | 357,45 \pm 168,60 b | 347,43 \pm 113,28 b | 296,90 \pm 46,94 b | 594,62 \pm 190,68 a | 636,23 \pm 105,79 a | <0,001 |
| Glicose (mg/g) | 0,15 \pm 0,06 b | 0,36 \pm 0,14 a | 0,19 \pm 0,07 b | 0,16 \pm 0,04 b | 0,21 \pm 0,08 b | <0,001 |
| | | | Brânquias | | | |
| Amônia ($\mu\text{mol/g}$) | 3,63 \pm 0,58 | 3,30 \pm 0,79 | 3,46 \pm 0,77 | 3,12 \pm 0,28 | 3,63 \pm 0,72 | NS(0,537) |

706 AC 100: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 750: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³ e 30
707 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; TRN 1500: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com
708 100 peixes/m³; BFT 750: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³; BFT 1500: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com
709 1500 peixes/m³.

710

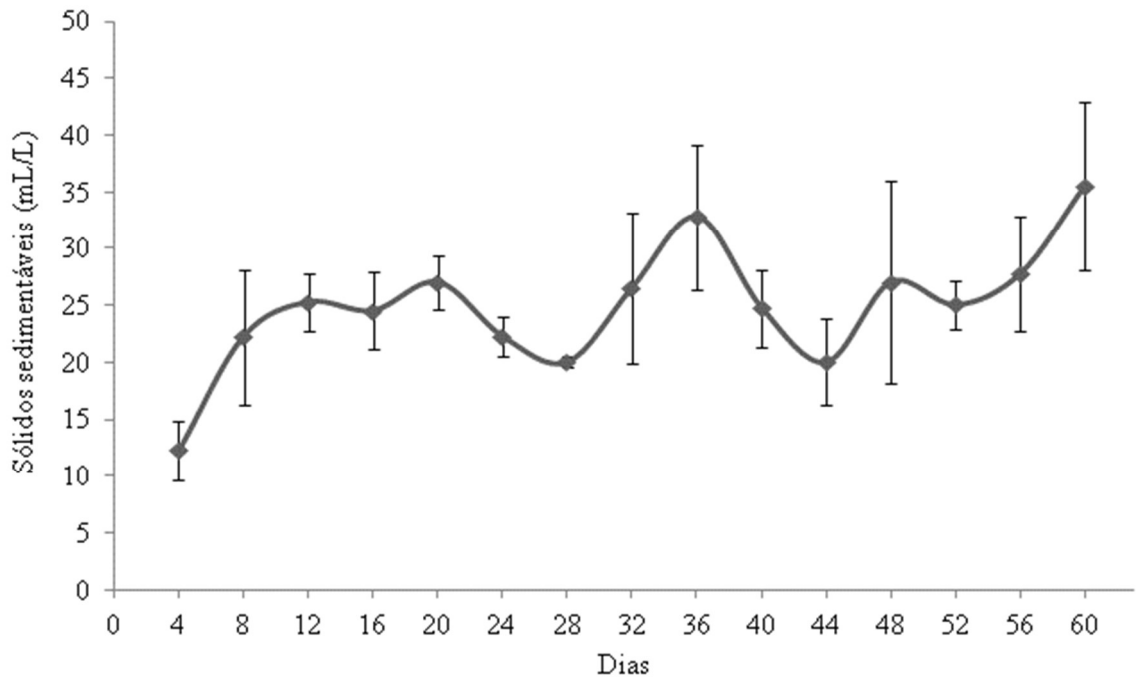


711

712 Figura 1: Esquema ilustrativo do desenho experimental

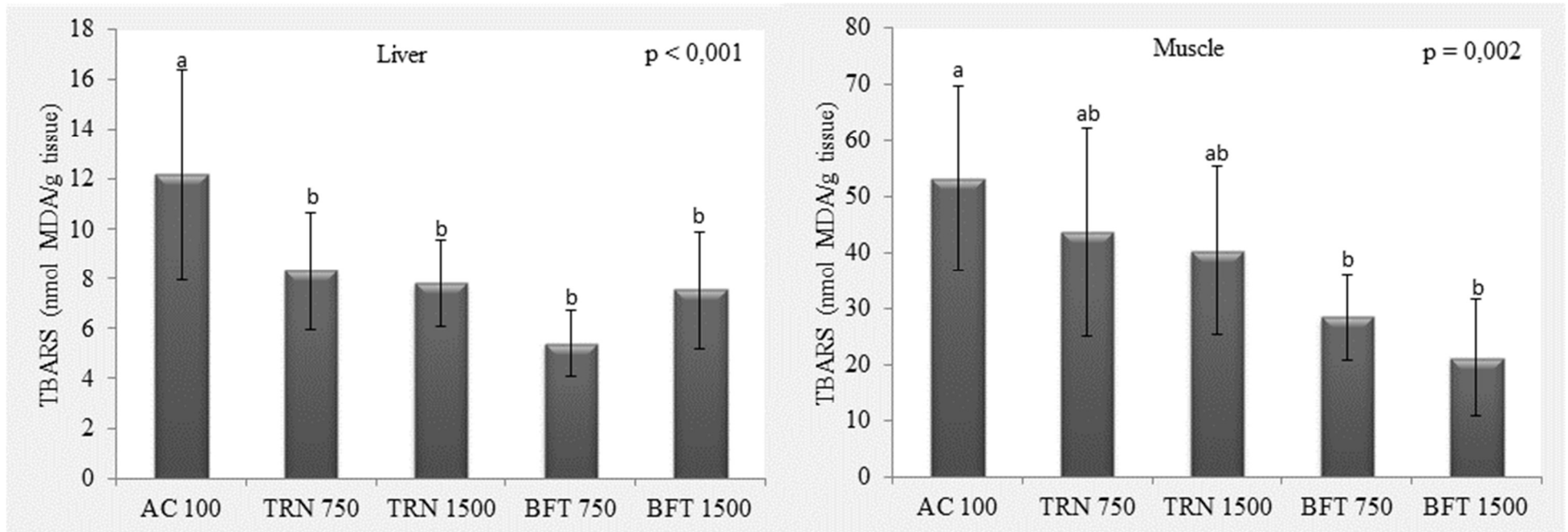
713

714



715
716 Figura 2: Volume de sólidos sedimentáveis para tilápias cultivadas em sistema de
717 bioflocos por 60 dias.

718
719



720
 721 Figure 3: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado e músculo de tilápias cultivadas em sistema de bioflocos (BFT) e água
 722 clara (AC) com diferentes densidades de estocagem
 723 de AC com 100 peixes/ /m³; TRN 750: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³;
 724 TRN 1500: tilápias cultivadas 30 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³ e 30 dias em sistema de AC com 100 peixes/m³; BFT 750: tilápias cultivadas
 725 60 dias em sistema de BFT com 750 peixes/m³; BFT 1500: tilápias cultivadas 60 dias em sistema de BFT com 1500 peixes/m³.
 726

727
 728
 729
 730
 731
 732

4.3 CAPITULO III

Utilização de farinha de bioflocos para alimentação de tilápias

* Esse manuscrito será submetido ao periódico **Aquaculture**.

1 Utilização de farinha de bioflocos para alimentação de tilápias

2
3 Emerson Giuliani Durigon^{1*}, Thamara Luísa Staudt Schneider¹, Samuel Marasca¹, Luiza
4 Beatriz Hermes¹, Eduardo Kelm Battisti², Isabela Andres Finamor³, Maria Amália Pavanato³
5 e Rafael Lazzari^{1,4}
6
7
8

9 ¹ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, *Campus*
10 Santa Maria, 97105-900, Rio Grande do Sul, Brasil

11 ² Eloaqua - Consultoria Pesquisa e Solução Aquícola, Frederico Westphalen, Rio Grande do
12 Sul, Brasil

13 ³ Programa de Pós-graduação em Farmacologia Universidade Federal de Santa Maria,
14 *Campus* Santa Maria, 97105-900, Rio Grande do Sul, Brasil

15 ⁴ Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria,
16 *Campus* Palmeira das Missões, Palmeira das Missões, 98300-000, Rio Grande do Sul, Brasil
17

18 *Autor correspondente: emersom_durigon@hotmail.com

19 Resumo - O sistema de bioflocos é uma alternativa sustentável para intensificação na
20 produção aquícola, entretanto neste sistema de produção pode haver um excesso de sólidos
21 presentes na água. Esses sólidos são ricos em nutrientes que quando em excesso podem
22 prejudicar os peixes além de contribuir para poluição ambiental, desta forma a utilização
23 desses sólidos em rações para peixes pode tornar-se uma alternativa para reutilizar este
24 resíduo. O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de farinha de bioflocos (FBFT) nas
25 dietas de tilápias nas proporções de 0, 4, 8, 12 e 16%. Foram avaliados parâmetros de
26 desempenho, índices somáticos, composição centesimal, parâmetros hematológicos e
27 oxidativos. Para os parâmetros de crescimento houve uma redução no crescimento com a
28 inclusão de 16% quando comparado ao nível de 4%. Para a composição centesimal houve
29 diferença para o teor de proteína bruta na carcaça, onde os peixes alimentados com 16% de
30 FBFT apresentaram maior teor de proteína na carcaça quando comparados aos demais níveis.
31 Os resultados oxidativos mostraram que apenas 4% de FBFT já podem apresentar melhoras
32 nas enzimas antioxidantes. Considerando os resultados obtidos neste estudo, recomenda-se a
33 adição de pequenas doses de FBFT (inclusão de 4% de FBFT), doses mais altas podem trazer
34 prejuízos para a produção, entretanto novos estudos avaliando doses menores ainda são
35 necessários.

36

37 **Palavras Chaves:** Estresse oxidativo, Ingredientes alternativos Subproduto Nutrição,
38 *Oreochromis niloticus*.

39

40

41 **1. Introdução**

42

43 O crescente aumento da população mundial e a preocupação com a preservação dos
44 recursos naturais têm impulsionado sistemas mais intensivos de produção que não prejudicam
45 o meio ambiente, um exemplo disto é o sistema de bioflocos (BFT) (Emerenciano; Gaxiola;
46 Cuzon, 2013). Dentre as diversas vantagens deste sistema destacam-se a biosseguridade
47 (cultivos controlados), produção de grandes quantidades de biomassa de pescado em um
48 pequeno espaço (Emerenciano et al., 2017) e o aspecto nutricional onde, os flocos também
49 servem de alimento para os animais cultivados (Crab et al., 2007; Avnimelech; Kochba,
50 2009), suprindo em algumas espécies boa parte da demanda proteica, (Azim; Little, 2008). O
51 sistema de produção pode interferir diretamente na exigência nutricional dos peixes, Azim e

52 Little, (2008) relataram que é possível uma redução de 11% nos níveis de proteína bruta das
53 dietas de juvenis de tilápias cultivadas em BFT.

54 Apesar das vantagens deste sistema, devido a suas características, este sistema pode
55 produzir quantidade considerável de sólidos sedimentáveis, estes sólidos são compostos por
56 restos de ração, fezes, e uma série de micro-organismos, bactérias e microalgas (Brol et al.,
57 2017; Monroy-Dosta et al., 2013). Neste sistema a quantidade ideal de sólidos na água varia
58 de 200 a 600 mg/L, para a maioria das espécies (Gaona et al., 2015). Quando são identificadas
59 quantidades superiores a essa se faz necessário a remoção dos sólidos e posteriormente
60 tratamento (Gaona et al., 2015). Uma alternativa para este resíduo é a utilização em rações
61 para peixes e camarão como já foi relatado por Yu et al. (2020) para *Opsariichthys*
62 *kaopingensis*, por Binalshikh-abubkr e Hanafiah, (2022) para tilápia híbrida vermelha
63 (*Oreochromis sp.*) por Anand et al. (2014) para *Penaeus monodon*, e para *Litopenaeus*
64 *vannamei* (Dantas et al. 2014 e Kuhn et al. (2009, 2010).

65 A Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) se destaca por ser a terceira espécie de
66 peixe mais produzida no mundo, atrás apenas das carpas *Carpa capim*, *Ctenopharyngodon*
67 *idellus*, e *Carpa prateada*, *Hypophthalmichthys molitrix*, com produção de 4525 mil toneladas
68 em 2018 e aumento de aproximadamente 8% entre os anos de 2016 a 2018 (FAO, 2020).
69 Alguns fatores têm contribuído para o aumento da produção desta espécie, sendo as
70 características biológicas da tilápia, como rusticidade, crescimento acelerado, hábito alimentar
71 onívoro, boa conversão alimentar, características organolépticas em sua carne, ausência de
72 espinhos intramusculares e boa aceitação no mercado consumidor (El-Sayed, 2006).

73 Entretanto o custo com a alimentação desta espécie pode ser superior a 70% do total
74 dos custos de produção, por isso tem se buscado fontes alternativas de proteínas para a
75 alimentação da aquicultura, os ingredientes tradicionais, como farinha de peixe e farelo de
76 soja, ainda são ingredientes padrão, especialmente para espécies onívoras (Kumar et al.,
77 2017). Nesse sentido, muitos estudos se concentraram em novas perspectivas nutricionais,
78 como fontes alternativas de proteínas vegetais e subprodutos de animais para a alimentação
79 aquícola. Uma alternativa pode ser a farinha de bioflocos que pode contribuir como uma
80 excelente fonte proteica (Azim e Little, 2008; W. J. Xu e Pan, 2012), além de excelente fonte
81 de ácidos graxos (Azim and Little, 2008; Crab et al., 2010; Toledo et al., 2016), vitaminas e
82 minerais (Yu et al., 2020c, 2020b). Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar a
83 inclusão de 0, 4, 8, 12 e 16% de farinha de bioflocos na dieta para tilápia.

84

85 2. Materiais e métodos

86

87 2.1 Peixes e condições experimentais

88

89 O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de
90 Santa Maria – Campus Palmeira das Missões, RS, Brasil. Foi utilizado sistema de
91 recirculação de água, com 20 unidades experimentais (caixas de polietileno de 250 L) com
92 filtragem mecânica biológica. O sistema continha entrada e saída individual de água,
93 oxigenação constante e sistema de controle de temperatura. A alimentação foi fornecida três
94 vezes ao dia, às 8:00 am, 1:30 pm e 6:00 pm durante 49 dias. A ração foi fornecida até
95 saciedade aparente. Foram utilizadas 300 tilápias (peso inicial de $4,15 \pm 0,86$ g) distribuídas
96 nos sistemas de recirculação. Foi utilizada uma ração peletizada com 36% de proteína bruta
97 (Tabela 1). Para a formulação das dietas foram realizados os aminogramas dos ingredientes e
98 da farinha de bioflocos (FBFT), sendo realizada a inclusão de 4, 8, 12 e 16 % de FBFT no
99 valor total dos ingredientes além de uma dieta controle sem a adição de FBFT. Os níveis
100 escolhidos para serem testados foram baseados em trabalhos anteriores que testaram farinha
101 de bioflocos para outras espécies e encontraram valores ótimos entre 4 e 12% de inclusão de
102 farinha de bioflocos (Anand et al., 2014; Binalshikh-abubkr e Hanafiah, 2022; Yu et al.,
103 2020a).

104 A FBFT foi oriunda de um cultivo de tilápias onde o floco já estava maturado há 1
105 ano, sendo eu as tilápias estavam recebendo uma ração com 32% de PB. Toda vez que os
106 sólidos ultrapassavam 35 ml/l era clarificado por decantação de 20 minutos e posteriormente
107 secados em estufa de circulação de ar forçada a 55 C° e posteriormente analisado para a
108 formulação das dietas (Tabela 1).

109

110 2.2 Qualidade da água

111

112 Diariamente, a temperatura e o oxigênio da água foram aferidos com o auxílio de
113 oxímetro digital marca YSI – ProODO® e o pH com equipamento pHmetro modelo MPA –
114 210 P®. Semanalmente, a amônia total, o nitrito, o nitrato e a alcalinidade foram
115 determinados utilizando kit colorimétrico Alfakit®. Para corrigir o pH (inferior a 6,7) utilizou-
116 se calcário agrícola. A alcalinidade foi corrigida com 0,025 g de bicarbonato de sódio/L
117 (Martins et al., 2017). Diariamente foi realizada a sifonagem, para a retirada de resíduos de

118 fezes. Durante o experimento, os parâmetros das medidas de qualidade da água foram
119 temperatura: $27,6 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$; oxigênio dissolvido: $5,10 \pm 0,82 \text{ mg/L}$; pH: $6,90 \pm 0,20$ nível de
120 amônia total: $0,02 \pm 0,01 \text{ mg/L}$; nitrito: $0,03 \pm 0,03 \text{ mg/L}$ e alcalinidade: $47,32 \pm 3,71 \text{ mg/L}$
121 CaCO_3 . Todos os parâmetros estavam dentro do recomendado para a espécie (El-Sayed,
122 2006).

123

124 2.3 Parâmetros de desempenho

125

126 Foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: peso final (g), sobrevivência
127 (%), taxa de crescimento específico (%/dia): $\text{TCE} = [(\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial}))/\text{dias}]$
128 $\times 100$; conversão alimentar aparente: $\text{CAA} = (\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial})/\text{consumo}$
129 total ; ganho de peso (g): $\text{GP} = (\text{peso final} - \text{peso inicial})$.

130

131 2.4 Índices organossomáticos

132

133 Ao final do experimento, três peixes por unidade experimental (12 peixes/tratamento)
134 foram anestesiados e eutanasiados por secção na medula para a determinação dos pesos e
135 medidas: carcaça, trato digestivo, fígado e gordura visceral. Posteriormente, os seguintes
136 parâmetros foram calculados: rendimento de carcaça (%): $\text{RC} = (\text{peso eviscerado com cabeça}$
137 $\text{e brânquias}/\text{peso inteiro}) \times 100$; índice hepatossomático (%): $\text{IHS} = (\text{peso fígado}/\text{peso inteiro})$
138 $\times 100$; Índice digestivo-somático: $\text{IDS} = (\text{peso trato digestivo}/\text{peso inteiro}) \times 100$; Quociente
139 intestinal(%): $\text{QI} = (\text{comprimento trato}/\text{comprimento do peixe}) \times 100$; índice de gordura
140 visceral (%): $\text{IGV} = (\text{peso da gordura visceral}/\text{peso inteiro}) \times 100$ e fator de condição: $\text{FC} =$
141 $(\text{peso final} \times 100)/\text{comprimento total}^3$.

142

143 2.5 Composição corporal

144

145 Ao final do experimento, 12 peixes por tratamento foram abatidos para a análise do
146 teor de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) que foram
147 determinados segundo metodologia descrita na Association of Official Analytical Chemists –
148 AOAC (1999). Matéria seca foi determinada pela diferença de peso da amostra (4 horas a 60
149 $^{\circ}\text{C}$) em estufa com circulação de ar, seguido de 8 horas em 105°C . Matéria mineral foi
150 determinado à 550°C (método 923.03). Proteína bruta (N 6.25) foi determinada pelo

151 procedimento de micro Kjeldahl (método 960.52). O teor de lipídeos foi quantificado
152 seguindo o método proposto por (Bligh ae Dyer, 1959).

153

154 2.6 Parâmetros Hematológicos

155

156 Após o término do experimento foram realizadas as coletas de sangue em 12 peixes
157 por tratamento (três peixes por unidade experimental), os peixes foram anestesiados com
158 eugenol (1 mg/L^{-1}) e com o auxílio de seringas contendo EDTA 10% foram coletadas
159 amostras de sangue por punção do vaso caudal. A amostra foi alocada em microtubos para
160 análise do hemograma.

161 A partir das amostras sanguíneas foi determinado o percentual de hematócrito (%)
162 (Goldenfarb et al., 1971), a concentração de hemoglobina (g/dl) (Collier, 1944) e a contagem
163 total de eritrócitos (μL), realizada após diluição de 1:200 em solução de cloreto de sódio
164 (0,65%), adaptada de Ghiraidelli et al., (2006). Após isso também foram calculados o volume
165 corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de
166 hemoglobina corpuscular média (CHCM), conforme metodologia descrita por (Ranzani-Paiva
167 et al., 2013).

168

169 2.7 Estresse oxidativo

170

171 Para a homogeneização dos tecidos foram usados 9 mL de tampão fosfato de sódio
172 0,3M (KCl 140 mM, pH 7,4) por grama de tecido. Foi acrescentado à mistura fluoreto de
173 fenilmetilsulfonila (PMSF) 100 nM diluído em isopropanol, para cada mL de tampão
174 adicionado, 10 μL de PMSF foram usados.

175 Uma porção dos tecidos foi separada e destinada à homogeneização com ácido
176 tricloroacético na proporção de 2 g de tecido para cada 10 mL de ácido. Tal homogeneizado
177 foi empregado para dosagem da glutathiona total.

178 Foram realizadas as seguintes análises para determinação dos parâmetros oxidativos:
179 Medida das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), (Hermes-Lima et al.,
180 1995); Determinação da glutathiona total (GLUT), (Giustarini et al., 2013); Determinação da
181 concentração de catalase (CAT), (Aebi, 1984); Determinação da atividade da Glutathiona-S-
182 transferase (GST), (Habig et al., 1974); Determinação da Glicose-6-fosfato desidrogenase
183 (G6PDH) (Glock e Mclean, 1953); Determinação da atividade da superóxido dismutase

184 (SOD) (McCord e Fridovich, 1969) e a capacidade antioxidante totas (TAC) (Campos e Lissi,
185 1997).

186

187 2.8 Análise estatística

188

189 Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os resultados
190 que apresentaram distribuição normal foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Os
191 dados que apresentaram diferença pelo teste de anova foram submetidos à análise de
192 regressão, os que apresentaram uma correlação alta são apresentados nas tabelas, e
193 posteriormente os dados que apresentaram diferença ao nível de 5% foram submetidos ao
194 teste Tukey. Para as análises hematológicas não houve distribuição normal, desta forma foram
195 submetidas ao teste de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas com o pacote
196 estatístico R[®].

197

198 **3 Resultados**

199

200 3.1 Parâmetros de crescimento

201

202 Para os parâmetros de crescimento houve diferença para o peso inicial e para a
203 sobrevivência. Para peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico, o nível de 4%
204 de inclusão de farinha de bioflocos (FBFT) apresentou melhores resultados de crescimento
205 quando comparado a inclusão de 16% de FBFT (Tabela 2). Para conversão alimentar aparente
206 (CAA) houve uma piora nos resultados conforme o aumento de inclusão de FBFT, onde na
207 dieta que não houve a inclusão de FBFT a CAA foi de 0,95 e no tratamento com 16% de
208 inclusão de FBFT a CAA foi de 1,25 (Tabela 2).

209

210 3.2 Índices organo-somáticos

211

212 Para os parâmetros organossomáticos não houve diferença para rendimento de carcaça,
213 índice de gordura visceral, índice digestivo-somático, quociente intestinal e fator de condição.
214 Já para o índice hepatossomático houve um aumento deste parâmetro quando comparado a
215 dieta controle (sem inclusão de FBFT) com a dieta contendo 16% de FBFT (Tabela 3).

216

217 3.3 Composição centesimal

218

219 Para as variáveis de gordura, matéria seca e matéria mineral não houve diferença entre
220 os tratamentos testados, já o nível de proteína bruta foi maior no tratamento com 16% de
221 FBFT quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 4).

222

223 3.4 Parâmetros Hematológicos

224

225 Não houve diferença significativa para hematócrito, hemácias, hemoglobina,
226 hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média entre os
227 níveis de FBFT testados. Já para volume corpuscular médio (VCM) houve diferença entre o
228 nível 8 e 16% de inclusão de FBFT onde o maior VCM foi no nível de 8% (Tabela 5).

229

230 3.5 Parâmetros oxidativos

231

232 Para os parâmetros oxidativos houve diferença entre todas as variáveis analisadas, para
233 a TBARS houve uma redução no nível de 16% de inclusão de FBFT, quando comparado aos
234 demais tratamentos, também foi observado efeito quadrático onde o ponto de máxima foi de
235 3,41%. Já para SOD e CAT houve um aumento destas enzimas, quando foi adicionado
236 qualquer nível de FBFT na dieta. Para GST o tratamento com 16% de FBFT foi o que
237 apresentou melhor resultado quando comparado aos demais, para esta variável também foi
238 observado efeito quadrático onde o ponto de máxima foi de 5,67 %. Para G6PDH todos os
239 tratamentos apresentaram um aumento quando comparados a dieta controle sem FBFT,
240 entretanto o nível de 16% apresentou um aumento da G6PDH quando comparado ao
241 tratamento com 4% de FBFT. Para GLUT, ocorreu aumento na atividade desta enzima no
242 tratamento contendo 16% de FBFT, onde também foi observado efeito quadrático com ponto
243 máximo de 3,57%. Para TAC foi observado que todos os níveis de FBFT apresentaram
244 melhores resultados que a dieta controle e não houve diferença entre os níveis testados
245 (Tabela 6).

246

247 **4 Discussão**

248

249 No presente estudo foram encontrados resultados semelhantes ao estudo de
250 Binalshikh-abubkr e Hanafiah, (2022) que avaliaram o efeito de farinha de bioflocos para
251 tilápia híbrida vermelha (*Oreochromis* sp.) onde 4% de bioflocos liofilizados e/ou secos em
252 estufa proporcionou maiores taxas de crescimento semelhantes ao controle (100% de ração
253 comercial), enquanto a proporção de 16% de bioflocos liofilizados e/ou secos em estufa
254 mostraram uma perda na taxa de crescimento para tilápia. Outros estudos também
255 apresentaram melhores resultados para a inclusão de 4 % de FBFT quando avaliado esse
256 ingrediente para a ração de camarão, onde pode-se observar para camarão branco do Pacífico
257 (*Litopenaeus vannamei*) melhores taxas de crescimento com 4% de FBFT (Lee et al., 2017),
258 também para camarão tigre (*Penaeus monodon*) avaliaram níveis de inclusão que variaram de
259 0 a 12% e encontraram melhores taxas de conversão alimentar, melhora nas enzimas
260 digestivas com a utilização de 4% de farinha de bioflocos os mesmos resultado foram
261 encontrados (Anand et al., 2014). Para *Litopenaeus vannamei*, Dantas et al. (2014) e Kuhn et
262 al. (2009, 2010), avaliaram níveis de inclusão de até 30% de FBFT e encontraram bons
263 resultados de desempenho e sobrevivência em todos os níveis testados. Yu et al., (2020c) para
264 *Opsariichthys kaopingensis*, avaliaram níveis de inclusão de 0 a 16%, relatado melhor
265 desempenho, melhor atividade das enzimas digestivas e melhor capacidade antioxidante dos
266 peixes alimentados com 12% de farinha de bioflocos.

267 Alguns trabalhos justificam a menor taxa de crescimento, quando os animais são
268 alimentados com maiores taxas de inclusão de FBFT ao excesso de nutriente na água
269 (Binalshikh-abubkr e Hanafiah, 2022). Esse excesso de nutriente pode ocorrer principalmente
270 do elevado teor de matéria mineral presente neste ingrediente, o que foi observado no presente
271 estudo, onde FBFT continha $30,83 \pm 0,21$ de matéria mineral. Resultado semelhante a outros
272 estudos que mostram valores de matéria mineral na FBFT que variam de 13,4 a 41,5 (Durigon
273 et al., 2020; Emerenciano et al., 2013a, 2012; Ju et al., 2008; Kuhn et al., 2010; Sgnaulin et
274 al., 2020; Tacon et al., 2002).

275 Entretanto a composição nutricional da farinha de bioflocos pode ser influenciada por
276 diversos fatores, como a condição ambiental, o nível de sólidos suspensos totais, a intensidade
277 da luz (Emerenciano et al., 2013b), fonte de carbono utilizada (Crab et al., 2010; Li et al.,
278 2018; Liu et al., 2019), relação C:N (Mirzakhani et al., 2019), composição de micro-
279 organismos do sistema, salinidade da água (Ekasari et al., 2010) e a composição lipídica da
280 dieta (Toledo et al., 2016) visto que os micro-organismos podem além de fazer a síntese de
281 novos ácidos graxos, fazer a incorporação de novos ácidos graxos nas estruturas lipídicas,

282 fazendo assim o alongamento da cadeia lipídica (Ekasari et al., 2010). O tempo de cultivo do
283 sistema de BFT, também pode ser um fator que altere sua composição, pois quanto maior o
284 período do cultivo, há uma tendência de maior aparecimento de dinoflagelados (Durigon et
285 al., 2020), estes que são os principais responsáveis pela presença de ácidos graxos no
286 bioflocos.

287 A presença de compostos na FBFT, pode desencadear um desequilíbrio na dieta,
288 resultando assim em um aumento da atividade metabólica envolvendo a quebra e absorção de
289 nutrientes, principalmente de proteínas (Baldisserotto, 2013). O aumento do IHS nos níveis
290 com maior inclusão de FBFT, pode ser devido aos aminoácidos livres presentes na FBFT (Ju
291 et al., 2008). Além disso essa farinha pode ter até 36% de carboidratos o que também pode
292 acabar sobrecarregando o fígado (Kuhn et al., 2009). Outro fator que pode estar relacionado a
293 este aumento do fígado é a maior digestibilidade da FBFT, o que resulta em maior teor de
294 energia digestível disponível para o peixe provocando um maior acúmulo de gordura no
295 fígado (Kanmani et al., 2018).

296 A presença de aminoácidos essenciais na FBFT, pode explicar o maior nível de
297 proteína nos peixes alimentados com dietas contendo 16% de FBFT, pois este ingrediente
298 pode contribuir com treonina, arginina, valina, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina, além
299 de aminoácidos não essenciais, incluindo asparagina, glutamina, serina, glicina, alanina e
300 prolina, mas deficientes em tirosina (Robles-Porchas et al., 2020). Para tilápia, inúmeros
301 trabalhos já tem evidenciado que esta espécie consegue reter o N do bioflocos e sendo
302 possível reduzir a proteína da dieta desta espécie, (Ekasari et al., 2014; Mansour; Esteban,
303 2017; Silva et al., 2018; Green et al., 2019; Hisano et al., 2019; Durigon et al., 2020).

304 Outro fator que pode contribuir para esse aumento da proteína na carcaça dos animais
305 pode estar relacionado ao aumento da atividade da proteinase digestiva no trato intestinal
306 como resultado da contribuição de ambas as enzimas digestivas exógenas provenientes das
307 bactérias no bioflocos e a produção de enzimas digestivas endógenas estimuladas pela FBFT
308 (Xu and Pan, 2012).

309 Os parâmetros hematológicos são considerados importantes indicadores do estado de
310 saúde de diferentes espécies de peixes, e podem ser usados como indicadores biológicos no
311 monitoramento do bem estar, sendo ferramenta para o diagnóstico de estresse animal (Silva;
312 et al., 2012). Também podem ser usada como uma ferramenta para monitorar a condição
313 biológica dos peixes em resposta às mudanças relacionadas à nutrição, qualidade da água e
314 doença (Delbon e Paiva, 2012).

315 Em situações de estresse, pode ocorrer modificações fisiometabólicas, observadas por
316 meio do aumento do número de eritrócitos e da queda no VCM (da Silva et al., 2012). Nesse
317 estudo observou-se queda no VCM com a inclusão de 16% de FBFT, o que pode demonstrar
318 um estresse nutricional provocado pela falta ou excesso de algum nutriente. Os demais
319 parâmetros hematológicos foram semelhantes aos encontrados em outros trabalhos e estão
320 dentro do recomendado para a espécie (Durigon et al., 2019; Jerônimo et al., 2011; Vicente et
321 al., 2020).

322 O estresse oxidativo é particularmente relevante na aquicultura, uma vez que o dano
323 oxidativo aos tecidos de peixes está diretamente associado ao bem-estar animal e à qualidade
324 do produto final (Liu et al., 2016). O desequilíbrio do meio aquático pode induzir a produção
325 de espécies reativas ao oxigênio (EROs) no organismo dos animais, sendo assim, a produção
326 aumentada tende a atacar as células, como os ácidos graxos insaturados nas membranas, e
327 iniciar a lipoperoxidação. Dessa forma, condições de desequilíbrio no balanço oxidativo do
328 organismo celular não apenas advém de um fator, mas de uma interação, como por exemplo,
329 de uma alta densidade de estocagem ou até mesmo do período de produção (Andrade et al.,
330 2015).

331 A redução do estresse oxidativo já vem sendo demonstrada em peixes cultivados em
332 sistema de bioflocos pois os compostos presentes no sistema podem auxiliar na síntese de
333 óxido nítrico, este que desempenha importante papel na redução do estresse oxidativo e no
334 aumento da resposta imune (Battisti et al., 2020; Cardona et al., 2016; Zhao et al., 2012).

335 No presente estudo houve diminuição da TBARS na maior inclusão (16% de FBFT),
336 ou seja, uma diminuição do malondialdeído (MDA). A quantificação do MDA tem sido
337 utilizada para avaliar a extensão do dano oxidativo. Esta quantificação pode ser feita pela
338 reação de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBA), a qual tem sido usada
339 como uma medida de lipoperoxidação, mais conhecido comumente como TBARS (Ohkawa et
340 al., 1979).

341 Para neutralizar o ataque das espécies reativas ao oxigênio (EROs), células vivas têm
342 um sistema de defesa biológico composto de antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. O
343 sistema de defesa enzimático, representado principalmente pelas enzimas superóxido
344 dismutase (SOD), catalase (CAT) e Glutathione S-transferase (GST), que minimizam os danos
345 causados pelo estresse oxidativo. Neste trabalho ficou evidente um aumento das enzimas
346 antioxidantes, entre elas a SOD, CAT e GST, fato este que pode estar relacionado a presença
347 de vários compostos bioativos, incluindo carotenóides, clorofilas, polissacarídeos, fitoesteróis,

348 taurina e vitaminas lipossolúveis (Yu et al., 2020c, 2020b). Estes compostos presentes no
349 sistema podem atuar como varredores de radicais livres, quelantes de minerais e bloqueadores
350 de espécies reativas de oxigênio. Em resumo, o excesso de EROs no organismo é combatido
351 por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta (Barreiros et al., 2006).

352

353 **Conclusão**

354

355 Recomenda-se a utilização de 4% de FBFT na dieta sem perda em crescimento, sem
356 prejuízos nos parâmetros hematológicos e uma melhora na resposta oxidativa do animal. No
357 entanto a dificuldade em encontrar FBFT padrões para as formulações de ração pode
358 dificultar a sua utilização. Em baixas dosagens a utilização deste ingrediente como aditivo
359 alimentar devem ser mais estudado.

360

361 **Agradecimentos**

362

363 Esse estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
364 de Nível Superior – Brasil (CAPES).

365

366 **Referências**

367

368 Aebi, H., 1984. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121–126.

369 [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)

370 Anand, P.S.S., Kohli, M.P.S., Kumar, S., Sundaray, J.K., Roy, S.D., Venkateshwarlu, G.,

371 Sinha, A., Pailan, G.H., 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth

372 performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 418–

373 419, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.051>

374 Andrade, T., Afonso, A., Pérez-Jiménez, A., Oliva-Teles, A., de las Heras, V., Mancera, J.M.,

375 Serradeiro, R., Costas, B., 2015. Evaluation of different stocking densities in a

376 Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: Implications for growth, humoral immune

377 parameters and oxidative status. *Aquaculture* 438, 6–11.

378 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.034>

379 AOAC, 1999. AOAC International, Official methods of analysis, 16th edn. ed. Washington.

380 Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality,

381 biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
382 Aquaculture 283, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>

383 Baldisserotto, B., 2013. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, 3a edition. ed. Santa
384 Maria.

385 Barreiros, A.L.B.S., David, J.P., David, J.P., 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração
386 de espécies reativas e defesa do organismo. Quim. Nova 29, 113–123.

387 Battisti, E.K., Rabaioli, A., Uczay, J., Sutili, F.J., Lazzari, R., 2020. Effect of stocking density
388 on growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant status of silver
389 catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system. Aquaculture 524, 735213.
390 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735213>

391 Binalshikh-abubkr, T., Hanafiah, M.M., 2022. Effect of Supplementation of Dried Bioflocs
392 Produced by Freeze-Drying and Oven-Drying Methods on Water Quality , Growth
393 Performance and Proximate Composition of Red Hybrid Tilapia. J. Mar. Sci. Eng. Artic.
394 10, 1–16. <https://doi.org/10.3390/jmse10010061>

395 Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification, in:
396 Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.

397 Brol, J., Pinho, S, M., Sgnaulin, T., Pereira, K. da R., Thomas, M.C., Mello, G.L. de,
398 Miranda-Baeza, A., Emerenciano, M.G.C., 2017. Tecnologia de bioflocos (BFT) no
399 desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. Arch.
400 Zootec. 66, 229–235. <https://doi.org/10.21071/az.v66i254.2326>

401 Campos, A.M., Lissi, E.A., 1997. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis 3-
402 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. Int. J.
403 Chem. Kinet. 29, 219–224. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-
404 4601\(1997\)29:3<219::AID-KIN9>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4601(1997)29:3<219::AID-KIN9>3.0.CO;2-X)

405 Cardona, E., Lorgeoux, B., Chim, L., Goguenheim, J., Le Delliou, H., Cahu, C., 2016. Biofloc
406 contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance
407 of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of
408 eggs and larvae. Aquaculture 452, 252–262.
409 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.003>

410 Collier, H.B., 1944. Standardization of Blood Haemoglobin Determinations. Can. Med.
411 Assoc. J. 50, 550–552.

412 Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different
413 carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium*

414 *rosenbergii* postlarvae. Aquac. Res. 41, 559–567. <https://doi.org/10.1111/j.1365->
415 2109.2009.02353.x

416 da Silva, R.D., Rocha, L.O., Fortes, B.D.A., Vieira, D., Fioravanti, M.C.S., 2012. Parâmetros
417 hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse
418 por exposição ao ar. Pesqui. Vet. Bras. 32, 99–107. <https://doi.org/10.1590/S0100->
419 736X2012001300017

420 Dantas, E.M., Valle, B.C.S., Brito, C.M.S., Calazans, N.K.F., Peixoto, S.R.M., Soares, R.B.,
421 2016. Partial replacement of fishmeal with biofloc meal in the diet of postlarvae of the
422 Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Nutr. 22, 335–342.
423 <https://doi.org/10.1111/anu.12249>

424 Delbon, M.C., Paiva, M.J.T.R., 2012. Eugenol em juvenis de tilápia do Nilo: concentrações e
425 administrações sucessivas. Bol. Inst. da pesca 38, 43–52.

426 Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Lopes, D.L. de A., Jerônimo, G.T., Sgnaulin, T.,
427 Emerenciano, M.G.C., 2019. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of
428 digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in
429 brackish water. Aquac. Fish. 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>

430 Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Lopesa, D.L. de A., Jerônimo, G.T., Sgnaulin, T.,
431 Emerenciano, M.G.C., 2020. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of
432 digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in
433 brackish water. Aquac. Fish. 5, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>

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

438 Ekasari, J., Crab, R., Verstraete, W., 2010. Primary Nutritional Content of Bio-Flocs Cultured
439 with Different Organic Carbon Sources and Salinity. HAYATI J. Biosci. 17, 125–130.
440 <https://doi.org/10.4308/hjb.17.3.125>

441 El-Sayed, E.M., 2006. Tilapia culture., CABI publi. ed. Massachusetts, USA.

442 Emerenciano, M., Cuzon, G., Arévalo, M., Mascaró Miquelajauregui, M., Gaxiola, G., 2013a.
443 Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance,
444 biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared
445 under biofloc conditions. Aquac. Int. 21, 987–1007. <https://doi.org/10.1007/s10499-012->
446 9607-4

447 Emerenciano, M., Cuzon, G., Goguenheim, J., Gaxiola, G., 2012. Floc contribution on
448 spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquac. Res.* 44, 75–85.
449 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03012.x>

450 Emerenciano, M., Gaxiola, G., Cuzon, G., 2013b. Biofloc Technology (BFT): A Review for
451 Aquaculture Application and Animal Food Industry, in: Intech.
452 <https://doi.org/10.5772/53902>

453 FAO, 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura.

454 Gaona, C.A.P., Almeida, M.S. de, Viau, V., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2015. Effect of
455 different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT
456 culture system during biofloc formation. *Aquac. Res.* 1–10.
457 <https://doi.org/10.1111/are.12949>

458 Ghiraidelli, L., Martins, M.L., Yamashita, M.M., Jeronimo, G.T., 2006. Haematology of
459 *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) and *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) maintained in
460 different conditions of handling and feeding from the State of Santa Catarina, Brazil.
461 *Acta Sci. Biol. Sci.* 28, 319–325. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v28i4.162>

462 Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Milzani, A., Fanti, P., Rossi, R., 2013. Analysis of GSH and
463 GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. *Nat. Protoc.* 8, 1660–1669.
464 <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.095>

465 Glock, B.G.E., Mclean, P., 1953. Further studies on the properties and assay of Glucose 6-
466 phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem*
467 *J.* 55, 400–408.

468 Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the
469 hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.* 56, 35–
470 39.

471 Green, B.W., Rawles, S.D., Schrader, K.K., Gaylord, T.G., McEntire, M.E., 2019. Effects of
472 dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*)
473 performance, common microbial off-flavor compounds, and water quality dynamics in
474 an outdoor biofloc technology production system. *Aquaculture* 503, 571–582.
475 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.034>

476 Habig, W.H., Pabt, M.J., Jakoby, W.B., 1974. The first enzymatic step in marcapturic acid
477 formation. *J. Biol. chemistry* 249, 7130–7140.

478 Hermes-Lima, M., Willmore, W.G., Storey, K.B., 1995. Quantification of lipid peroxidation
479 in tissue extracts based on Fe(III)xylene orange complex formation. *Free Radic. Biol.*

480 Med. 19, 271–280. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00020-X](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00020-X)

481 Hisano, H., Parisi, J., Cardoso, I.L., Ferri, G.H., Ferreira, P.M.F., 2019. Dietary protein
482 reduction for Nile tilapia fingerlings reared in biofloc technology. *J. World Aquac. Soc.*
483 1–11. <https://doi.org/10.1111/jwas.12670>

484 Jerônimo, G., Laffitte, L., Speck, G., Martins, M., 2011. Seasonal influence on the
485 hematological parameters in cultured Nile tilapia from southern Brazil. *Brazilian J. Biol.*
486 71, 719–725. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000400017>

487 Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C., David Horgen, F., 2008.
488 Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers
489 and analysis of floc amino acid profiles. *Aquac. Res.* 39, 118–133.
490 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x>

491 Kanmani, N., Romano, N., Ebrahimi, M., Nurul Amin, S.M., Kamarudin, M.S., Karami, A.,
492 Kumar, V., 2018. Improvement of feed pellet characteristics by dietary pre-gelatinized
493 starch and their subsequent effects on growth and physiology in tilapia. *Food Chem.* 239,
494 1037–1046. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.061>

495 Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Lawrence, A.L., Marsh, L., Flick, G.J., 2009. Microbial floc
496 meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed.
497 *Aquaculture* 296, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.07.025>

498 Kuhn, D.D., Lawrence, A.L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L., Flick, G.J., 2010.
499 Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as
500 feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303, 28–
501 33. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.001>

502 Kumar, V., Makkar, H.P.S., Amselgruber, W., Becker, K., 2017. Physiological ,
503 haematological and histopathological responses in common carp (*Cyprinus carpio L.*)
504 fingerlings fed with differently detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. *Food Chem.*
505 *Toxicol.* 48, 2063–2072. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.007>

506 Lee, C., Kim, S., Lim, S.J., Lee, K.J., 2017. Supplemental effects of biofloc powder on
507 growth performance, innate immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp
508 *Litopenaeus vannamei*. *Fish. Aquat. Sci.* 20, 1–7. [https://doi.org/10.1186/s41240-017-](https://doi.org/10.1186/s41240-017-0059-7)
509 [0059-7](https://doi.org/10.1186/s41240-017-0059-7)

510 Li, J., Liu, G., Li, C., Deng, Y., Tadda, M.A., Lan, L., Zhu, S., Liu, D., 2018. Effects of
511 different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of
512 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. *Aquaculture* 495, 919–931.

513 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>

514 Liu, B., Jia, R., Han, C., Huang, B., Lei, J.L., 2016. Effects of stocking density on antioxidant
515 status, metabolism and immune response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*).
516 Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol. 190, 1–8.
517 <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.07.007>

518 Liu, G., Deng, Y., Verdegem, M., Ye, Z., Zhu, S., 2019. Using poly(β -hydroxybutyrate- β -
519 hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of
520 *Oreochromis niloticus* gut microbiota. Sci. Total Environ. 694, 133664.
521 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133664>

522 Mansour, A.T., Esteban, M.Á., 2017. Effects of carbon sources and plant protein levels in a
523 biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile
524 tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Shellfish Immunol. 64, 202–209.
525 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>

526 Martins, G.B., Tarouco, F., Rosa, C.E., Robaldo, R.B., 2017. The utilization of sodium
527 bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth
528 performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture
529 468, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>

530 McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). J.
531 Biol. Chemistry 244.

532 Mirzakhani, N., Ebrahimi, E., Jalali, S.A.H., Ekasari, J., 2019. Growth performance, intestinal
533 morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)
534 fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C:N ratios.
535 Aquaculture 512, 734235. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734235>

536 Monroy-Dosta, M. del C., de Lara, R.A., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., Coelho-
537 Emerenciano, M.G., 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas
538 asociados al biofloc en un cultivo de tilapia. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 48, 511–520.
539 <https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000300009>

540 Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by
541 thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 95, 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
542 [2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

543 Ranzani-paiva, M.J.T., Pádua, S.B. de, Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para
544 análise hematológica em peixes. 1a Ed., 1a Ed., Ed. ed. Maringá.

545 Robles-Porchas, G.R., Gollas-Galván, T., Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova, L.R.,

546 Miranda-Baeza, A., Vargas-Albores, F., 2020. The nitrification process for nitrogen
547 removal in biofloc system aquaculture. *Rev. Aquac.* 12, 2228–2249.
548 <https://doi.org/10.1111/raq.12431>

549 Sgnaulin, T., Durigon, E.G., Mello, S., Tomas, G., Catarina, S., Emerenciano M.G.C., 2020.
550 Nutrition of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) in biofloc technology system :
551 Optimization of digestible protein and digestible energy levels during nursery phase.
552 *Aquaculture* 521, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734998>

553 Silva, A.S.E. da, Lima, J.T.A.X. de, Blanco, B.S., 2012. Hematologia em peixes. *Rev.*
554 *Centauro* 3, 24–32.

555 Silva, M.A., de Alvarenga, É.R., de O Alves, G.F., Manduca, L.G., Turra, E.M., de Brito,
556 T.S., de Sales, S.C.M., da Silva Junior, A.F., Borges, W.J.M., Teixeira, E.A., 2018.
557 Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis*
558 *niloticus*) in a biofloc system. *Aquac. Res.* 49, 1–11. <https://doi.org/10.1111/are.13730>

559 Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002.
560 Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp
561 *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquac. Nutr.* 8, 121–137.
562 <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x>

563 Toledo, T.M., Silva, B.C., do Nascimento Vieira, F. do N., Mouriño, J.L.P., Seiffert, W.Q.,
564 2016. Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of
565 white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: Water quality,
566 biofloc composition, growth and health. *Aquac. Res.* 47, 1841–1851.
567 <https://doi.org/10.1111/are.12642>

568 Vicente, L.R.M., Owatari, M.S., Mouriño, J.L.P., Silva, B.C. da, Vieira, F.D.N., 2020. Nile
569 tilapia nursery in a biofloc system: Evaluation of different stocking densities. *Bol. do*
570 *Inst. Pesca* 46, 1–9. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2020.46.2.573>

571 Xu, W., Pan, L., 2012. Effects of bioflocs on growth performance , digestive enzyme activity
572 and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks
573 manipulating C / N ratio in feed. *Aquaculture* 356–357, 147–152.
574 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.022>

575 Xu, W.J., Pan, L.Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme
576 activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange
577 tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356–357, 147–152.
578 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.022>

579 Yu, Z., Li, L., Li, M., Wu, L.F., 2020a. Dietary supplementation of microbial floc heightens
580 growth and improves digestive, immune, antioxidant enzymes activity and ammonia
581 resistance in *Opsariichthys kaopingensis*. *Aquac. Res.* 51, 4054–4064.
582 <https://doi.org/10.1111/are.14748>

583 Yu, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Duan, J., Wang, J., Liu, Y., 2020b. Monitoring of growth,
584 digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of Golden
585 crucian carp (*Carassius auratus*) in zero- water exchange tanks of biofloc systems.
586 *Aquac. Reports* 16, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100283>

587 Yu, Z., Zheng, Y., Du, H., Li, H., Wu, L., 2020c. Bioflocs protects copper-induced
588 inflammatory response and oxidative stress in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski
589 through inhibiting NF- κ B and Nrf2 signaling pathways. *Fish Shellfish Immunol.* 98,
590 466–476. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.048>

591 Zhao, Y., Zhang, W., Xu, W., Mai, K., Zhang, Y., Liufu, Z., 2012. Effects of potential
592 probiotic *Bacillus subtilis* T13 on growth , immunity and disease resistance against
593 *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fish*
594 *Shellfish Immunol.* 32, 750–755. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.027>

595
596

597 Tabela 1. Formulação das dietas com o aminograma e a composição aminoácídica baseada
 598 nos ingredientes utilizados

| Ingredientes | Níveis de inclusão de Farinha de Biofloco (FBFT) | | | | | FBFT |
|-----------------------------|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0% | 4% | 8% | 12% | 16% | |
| Farelo de soja | 28,50 | 27,50 | 26,50 | 25,50 | 24,50 | |
| FBFT | 0,00 | 4,00 | 8,00 | 12,00 | 16,00 | |
| Farinha de peixe | 28,50 | 27,90 | 27,30 | 26,70 | 26,10 | |
| Farelo de trigo | 13,90 | 12,47 | 10,95 | 9,43 | 7,91 | |
| Milho | 24,10 | 23,10 | 22,20 | 21,30 | 20,40 | |
| Óleo de soja | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| Premix | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| Fosf.bicálcico | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | |
| Sal | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | |
| L-Lisina HCL | 0,00 | 0,02 | 0,04 | 0,05 | 0,07 | |
| DL-Metionina | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | |
| Composição AAE - % na dieta | | | | | | |
| Lisina | 2,17 | 2,17 | 2,17 | 2,17 | 2,17 | 1,24 |
| Metionina | 0,63 | 0,63 | 0,63 | 0,63 | 0,63 | 0,32 |
| Cistina | 0,30 | 0,32 | 0,33 | 0,35 | 0,36 | 0,36 |
| Treonina | 0,70 | 0,77 | 0,85 | 0,92 | 1,00 | 1,45 |
| Valina | 0,76 | 0,82 | 0,88 | 0,95 | 1,01 | 1,71 |
| Isoleucina | 0,73 | 0,78 | 0,83 | 0,88 | 0,93 | 0,94 |
| Leucina | 1,36 | 1,44 | 1,53 | 1,62 | 1,71 | 2,21 |
| Fenilalanina | 0,91 | 0,96 | 1,01 | 1,07 | 1,12 | 1,44 |
| Histidina | 0,43 | 0,45 | 0,47 | 0,50 | 0,52 | 0,72 |
| Arginina | 1,22 | 1,35 | 1,48 | 1,61 | 1,73 | 1,32 |
| Composição bromatológica | | | | | | |
| Matéria seca | 93,66 ± 0,08 | 94,08 ± 0,51 | 91,99 ± 0,12 | 93,98 ± 0,25 | 94,05 ± 0,24 | 90,44 ± 0,08 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Mat. mineral | 10,93 ± 0,21 | 12,08 ± 0,17 | 12,81 ± 0,31 | 14,31 ± 0,25 | 15,18 ± 0,43 | 30,83 ± 0,21 |
| Proteína bruta | 37,52 ± 0,71 | 37,92 ± 0,59 | 36,01 ± 0,91 | 35,45 ± 0,90 | 36,82 ± 0,23 | 31,85 ± 0,52 |
| Lípidios | 6,28 ± 0,09 | 6,45 ± 0,64 | 6,17 ± 0,40 | 5,90 ± 0,33 | 5,76 ± 0,09 | 2,67 ± 0,14 |

600 Tabela 2. Parâmetros de crescimento de tilápia alimentadas por 49 dias com rações contendo
 601 diferentes níveis de farinha de bioflocos

| Variáveis | Níveis | | | | | P |
|------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 16 | |
| Peso Inicial (g) | 4,17±0,10 | 4,18±0,06 | 4,09±0,01 | 4,13±0,08 | 4,18±0,10 | NS |
| Peso Final (g) | 35,03±3,33 ^{AB} | 37,44±2,82 ^A | 31,12±2,86 ^{AB} | 32,02±3,84 ^{AB} | 29,24±2,64 ^B | 0,016 |
| GP (g) | 30,86±1,62 ^{AB} | 33,26±2,78 ^A | 27,02±2,86 ^{AB} | 27,89±3,84 ^{AB} | 25,6±2,64 ^B | 0,015 |
| TCE (%/dia) | 5,05±0,18 ^{AB} | 5,21±0,16 ^A | 4,82±0,21 ^{AB} | 4,86±0,27 ^{AB} | 4,62±0,22 ^B | 0,014 |
| CAA | 0,95±0,01 ^A | 1,02±0,03 ^B | 1,13±0,03 ^C | 1,18±0,02 ^D | 1,25±0,03 ^D | < 0,001 |
| Sobrev. (%) | 98,33±3,33 | 96,66±3,85 | 93,33±5,44 | 93,33±5,44 | 94,98±3,33 | NS |

602 Valores expressos como média ± desvio padrão. Médias com letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente
 603 pelo teste de Tukey (P<0,05). GP: Ganho de peso; TCE: Taxa de crescimento específico; CAA: Conversão
 604 alimentar aparente, efeito linear, $y = 0,0187x + 0,9590$ $r^2 = 0,93$ $p < 0,001$; Sobrev.: Sobrevivência.

605 Tabela 3. Índices organo-somáticos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo
 606 diferentes níveis de farinha de bioflocos

| Variáveis | Níveis | | | | | P |
|-----------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 16 | |
| RC | 86,33±1,01 | 86,11±0,59 | 86,07±1,47 | 83,92±4,71 | 85,84±0,76 | NS |
| IHS | 1,84±0,33 ^B | 1,95±0,20 ^{AB} | 2,10±0,28 ^{AB} | 2,32±0,55 ^{AB} | 2,39±0,31 ^A | 0,018 |
| IGV | 0,30±0,18 | 0,56±0,19 | 0,58±0,37 | 0,31±0,25 | 0,49±0,13 | NS |
| IDS | 7,46±0,72 | 7,47±0,19 | 7,20±1,70 | 7,02±0,97 | 6,87±0,91 | NS |
| QI | 656,26±55,96 | 674,30±64,76 | 622,68±65,20 | 634,37±79,08 | 635,10±57,64 | NS |
| FC | 1,77±0,14 | 1,91±0,09 | 1,89±0,13 | 1,93± | 1,86± | NS |

607 Valores expressos como média ± desvio padrão. Médias com letras diferentes, na mesma linha, diferem
 608 estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05). NS: não significativo. Variáveis: RC: Rendimento de carcaça;
 609 IHS: Índice hepato-somático; IGV: Índice de gordura visceral; IDS: Índice digestivo-somático; QI: Quociente
 610 intestinal; FC: Fator de condição.

611 Tabela 4. Composição centesimal de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo
 612 diferentes níveis de farinha de bioflocos

| Variáveis | Níveis | | | | | P |
|-----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 16 | |
| PB | 13,98±0,05 ^B | 14,16±0,67 ^B | 14,47±0,39 ^B | 14,41±0,26 ^B | 15,50±0,55 ^A | 0,002 |
| GOR | 4,20±0,27 | 4,20±0,27 | 4,19±0,14 | 4,30±0,18 | 3,93±0,18 | NS |
| MS | 23,57±0,59 | 23,40±0,28 | 23,68±0,10 | 23,22±0,41 | 23,93±0,34 | NS |
| MM | 4,19±0,42 | 4,00±0,39 | 4,23±0,14 | 3,87±0,14 | 4,18±0,25 | NS |

613 Valores expressos como média ± desvio padrão. (teste de Tukey P<0,05). Variáveis: PB: proteína bruta; GOR:
 614 gordura; MS: matéria seca; MM: matéria mineral.

615 Tabela 5. Parâmetros Hematológicos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo
 616 diferentes níveis de farinha de bioflocos

| Variáveis | Níveis | | | | | P |
|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 16 | |
| Hematócrito (%) | 29,00±4,15 | 31,18±4,19 | 31,62±3,02 | 31,37±2,82 | 28,50±3,62 | NS |
| Hemácias (mm ³) | 0,71±0,20 | 0,77±0,18 | 0,72±0,27 | 0,89±0,35 | 1,00±0,26 | NS |
| Hemoglobina (g/dL) | 5,96±0,68 | 5,99±0,84 | 6,21±0,95 | 5,90±0,90 | 6,09±0,94 | NS |
| VCM (fL) | 433,06±130,46 ^{AB} | 418,19±91,90 ^{AB} | 491,61±175,69 ^A | 381,12±100,33 ^{AB} | 299,41±85,37 ^B | 0,044 |
| HCM (pg) | 88,55±23,38 | 81,03±20,98 | 94,86±29,37 | 72,19±22,24 | 63,32±15,40 | NS |
| CHCM (g/dL) | 20,81±2,70 | 19,33±2,22 | 19,60±2,07 | 18,92±2,93 | 21,38±2,31 | NS |

617 Valores expressos como média ± desvio padrão. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem
 618 estatisticamente pelo teste de teste de Kruskal-Wallis (P<0,05). Parâmetros: VCM: volume corpuscular médio;
 619 HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

620 Tabela 6. Parâmetros oxidativos de tilápias alimentadas por 49 dias com rações contendo
 621 diferentes níveis de farinha de bioflocos

| Variáveis | Níveis | | | | | P |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 16 | |
| TBARS | 0,22±0,05 ^A | 0,21±0,07 ^A | 0,20±0,06 ^A | 0,21±0,06 ^A | 0,06±0,03 ^B | < 0,001 |
| SOD | 9,42±1,46 ^B | 12,15±1,51 ^A | 12,00±1,63 ^A | 13,38±1,90 ^A | 14,06±1,47 ^A | 0,002 |
| CAT | 0,17±0,06 ^B | 0,36±0,07 ^A | 0,36±0,07 ^A | 0,37±0,07 ^A | 0,39±0,07 ^A | < 0,001 |
| GST | 0,73±0,06 ^B | 0,73±0,08 ^B | 0,75±0,08 ^B | 0,85±0,09 ^B | 1,04±0,06 ^A | < 0,001 |
| G6PDH | 1,06±0,24 ^C | 1,90±0,22 ^B | 2,18±0,29 ^{AB} | 2,13±0,27 ^{AB} | 2,51±0,23 ^A | < 0,001 |
| GLUT | 60,91±5,68 ^B | 67,43±6,60 ^B | 68,03±5,64 ^B | 67,00±6,71 ^B | 94,00±8,35 ^A | < 0,001 |
| TAC | 278,42±51,66 ^B | 345,14±24,58 ^A | 337,14±26,03 ^A | 346,00±29,43 ^A | 391,28±45,20 ^A | < 0,001 |

622 Médias com letras diferentes, na mesma linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).
 623 Variáveis: TBARS: Substâncias Reativas as Ácido Tiobarbitúrico - (nmol/g tecido), efeito quadrático, $y =$
 624 $0,0012x^2 + 0,0082x + 0,2551$, $r^2 = 0,71$ $p = 0,002$, SOD: Superóxido Dismutase - (USOD/tecido), CAT -
 625 Catalase (nmol/g tecido), GST: Glutathiona S-transferase - (nmol/min/g tecido), efeito quadrático, $y = 0,0029x^2 -$
 626 $0,0329x + 0,809$, $r^2 = 0,88$ $p < 0,001$, G6PDH: Glicose-6-fosfato desidrogenase - (umol/min/g tecido), GLUT -
 627 glutathiona total (umol/g tecido), efeito quadrático, $y = 0,1921x^2 - 1,3724x + 66,7700$, $r^2 = 0,79$ $p < 0,001$, TAC:
 628 capacidade antioxidante total - (umol/g tecido).

629

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema de bioflocos tem se mostrado uma excelente alternativa para a produção de tilápias, podemos observar no manuscrito 1, que apesar deste sistema conter ácidos graxos de excelente valor nutricional, isso parece não ter efeito direto na deposição de ácidos graxos no filé de tilápia, pois não houve diferença entre as tilápias criadas em sistema de BFT e em tanques de terra, entretanto pode haver outras vantagens que não conseguiram ser avaliadas neste trabalho como o consumo de proteína oriunda dos flocos. A criação de tilápias até a fase final no sistema de BFT, não é uma realidade no atual cenário da piscicultura nacional, devido a diversos fatores entre eles alto custo da energia, exigência de um manejo mais cuidadoso com a qualidade de água.

Entretanto cada vez mais estão aparecendo fazendas investindo nessa tecnologia para as fases iniciais de cultivo, visto que com este sistema se tem um maior controle na alimentação, e manejo. Em muitos casos também é possível ter temperaturas de água melhores para o cultivo, quando comparados aos tanques escavados, melhorando assim o consumo de alimento e o crescimento. Outra grande vantagem é a possibilidade de povoar os viveiros externos com um peixe maior, com aproximadamente 50g, o que diminui muito o ataque por pássaros tendo assim uma precisão muito maior na hora da despesca.

Outro fator importante que podemos observar neste trabalho é que tanto as tilápias criadas 30 dias em sistema de bioflocos (Manuscrito 2) e as tilápias alimentadas com farinha de bioflocos (Manuscrito 3) mostram uma melhora no sistema de defesa antioxidante, no qual apesar disso, não garante que os peixes estarão imunes a doenças após a transferência, mas parece deixar o peixe mais protegido.

Por fim é importante ser observado no manuscrito 2 a questão do crescimento compensatório que as tilápias podem demonstrar após cultivadas um período em sistema de BFT, evidente que ainda são necessários mais estudos para conclusões mais precisas, no entanto isso é um fator que deve ser levado em consideração em um cultivo em BFT pois as vantagens podem ir muito além dos aspectos nutricionais, biossegurança, e produtividade que este sistema já tem demonstrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-TAWWAB, M. et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v. 298, n. 3–4, p. 267–274, 2010.
- ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R. J. Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. **Fish and Fisheries**, v. 4, n. 2, p. 147–190, 2003.
- ALVARENGA, R. DE et al. Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. **Aquaculture Research**, p. 1–8, 2018.
- ANAND, P. S. S. et al. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 418–419, n. January 2014, p. 108–115, 2014.
- ARNOLD, S. J. et al. Response of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three-dimensional artificial substrate. **Aquaculture**, v. 246, n. 1–4, p. 231–238, 2005.
- ASASE, A. et al. Lake-based nursery rearing of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in nylon hapas: effects of stocking density on growth, survival and profitability. **Agricultural Sciences**, v. 7, p. 660–669, 2016.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1–4, p. 140–147, 2007.
- AVNIMELECH, Y.; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15 N tracing. **Aquaculture**, v. 287, n. 1–2, p. 163–168, 2009.
- AYROZA, L. M. DA S. et al. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 2, p. 231–239, 2011.
- AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, n. 1–4, p. 29–35, 2008.
- BARAK, Y. et al. Phosphorus removal in a marine prototype, recirculating aquaculture system. **Aquaculture**, v. 220, n. 1–4, p. 313–326, 2003.
- BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 3, p. 517–525, 2002.
- BOYD, C. E.; CLAY, J. W. Shrimp Aquaculture and the Environment. **Scientific American**, v. 278, n. 6, p. 58–65, 1998.
- BROL, J. et al. Tecnologia de bioflocos (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 229–235, 2017.

CARDONA, E. et al. Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of eggs and larvae. **Aquaculture**, v. 452, p. 252–262, 2016.

COSTA, A. P. et al. Influence of stocking density on growth performance and welfare of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 69, n. 1, p. 243–251, 2017.

CRAB, R. et al. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 559–567, 2010.

CRAB, R. et al. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, v. 356–357, p. 351–356, 2012.

DA SILVA, E. T. L. et al. Larval culture of Nile tilapia lineages at different storage densities. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 709–715, 2016.

DANTAS, E. M. et al. Partial replacement of fishmeal with biofloc meal in the diet of postlarvae of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 335–342, 2016.

DE OLIVEIRA ALVES, G. F. et al. Effect of the transfer at different moments of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to the biofloc system in formation. **Aquaculture**, v. 479, n. August 2016, p. 564–570, 2017.

DURIGON, E. G. et al. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. **Aquaculture and Fisheries**, v. 5, n. July, p. 42–51, 2020.

EKASARI, J. et al. 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.; CRAB, R.; VERSTRAETE, W. Primary Nutritional Content of Bio-Flocs Cultured with Different Organic Carbon Sources and Salinity. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 17, n. 3, p. 125–130, 2010.

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 June**, v. 19, n. 2, p. 73–80, 2012.

EMERENCIANO, M. et al. Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 1, p. 75–85, 2012.

EMERENCIANO, M. et al. Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance, biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared under biofloc conditions. **Aquaculture International**, v. 21, n. 5, p. 987–1007, 2013.

EMERENCIANO, M. G. C. et al. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture. In: **Intech**. 2013. p. 92–109.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. In: **Intech**. 2017.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**. 2018.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome: 2020.

FIESP. **Outlook Fiesp Projeções para o agronegócio brasileiro 2028**. São Paulo: 2018

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

FÜLBER, V. M. et al. Desempenho comparativo de três linhagens de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* em diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 31, n. 2, p. 177–182, 2009.

GALLARDO-COLLÍ, A. et al. Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, L. subjected to cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 5, p. 1813–1823, 2020.

GAONA, C. A. P. et al. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. **Aquaculture Research**, p. 1–10, 2015.

GARCIA, F. et al. Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. **Aquaculture**, v. 410–411, p. 51–56, 2013.

GERALD KWIKIRIZA, A BAREKYE, R MUHEREZE, K. M. AND P. T. Growth performance of Monosex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles at different stocking densities in cages at Lake Bunyonyi in South Western Highland Agro-Ecological Zones (SWHAEZs). **International Journal of Fisheries and Aquatic studies**, v. 4, n. 6, p. 42–48, 2016.

GIBTAN, A.; GETAHUN, A.; MENGISTOU, S. Effect of stocking density on the growth performance and yield of Nile tilapia [*Oreochromis niloticus* (L., 1758)] in a cage culture system in Lake Kuriftu, Ethiopia. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 13, p. 1450–1460, 2008.

GREEN, B. W. et al. Effects of dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*) performance, common microbial off-flavor compounds, and water quality dynamics in an outdoor biofloc technology production system. **Aquaculture**, v. 503, n. January, p. 571–582, 2019.

HARIDAS, H. et al. Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. **Aquaculture Rese**, p. 1–10, 2017.

HISANO, H. et al. Dietary protein reduction for Nile tilapia fingerlings reared in biofloc technology. **Jornal of the World aquaculture society**, p. 1–11, 2019.

HONG, H. A.; DUC, L. H.; CUTTING, S. M. The use of bacterial spore formers as probiotics. **Microbiology Reviews**, v. 29, p. 813–835, 2005.

IVAN, A. et al. Effect of stocking density on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) under cage culture in Lake Albert, Uganda. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 26–35, 2020.

IZQUIERDO, M. et al. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 192–202, 2006.

JU, Z. Y. et al. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 2, p. 118–133, 2008.

KRUMMENAUER, D. et al. Viabilidade do cultivo do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Crustácea, Decapoda) em gaiolas sob diferentes densidades durante o outono no sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 252–257, 2006.

KUHN, D. D. et al. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, v. 296, n. 1–2, p. 51–57, 2009.

KUHN, D. D. et al. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 303, n. 1–4, p. 28–33, 2010.

LEMOS, C. H. DA P. et al. Effects of interaction between pH and stocking density on the growth, haematological and biochemical responses of Nile tilapia juveniles. **Aquaculture**, v. 495, n. December 2017, p. 62–67, 2018.

LI, J. et al. Effects of different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. **Aquaculture**, v. 495, n. March, p. 919–931, 2018.

LIMA, E. C. R. DE et al. Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim**, v. 16, n. 4, p. 948–957, 2015a.

LIMA, E. C. R. DE et al. Culture of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in biofloc system with different stocking densities. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim**, v. 16, n. 4, p. 948–957, 2015b.

LIMA, P. C. M. et al. Nile tilapia fingerling cultivated in a low-salinity biofloc system at different stocking densities. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 4, 2018.

LIN, Y. et al. Crowding of white shrimp *Litopenaeus vananmei* depresses their immunity to and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 45, n. 1, p. 104–111, 2015.

LIU, G. et al. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 81, n. July, p. 416–422, 2018.

LIU, G. et al. Using poly(β -hydroxybutyrate- β -hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of *Oreochromis niloticus* gut microbiota. **Science of the Total Environment**, v. 694, p. 133664, 2019.

LONG, L. et al. 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.

LUO, G. et al. 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.

MACIEL, J. C.; FRANCISCO, C. J.; MIRANDA-FILHO, K. C. Compensatory growth and feed restriction in marine shrimp production, with emphasis on biofloc technology. **Aquaculture International**, v. 26, n. 1, p. 203–212, 2018.

MANDUCA, L. G. et al. Effects of a zero exchange biofloc system on the growth performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. **Aquaculture**, v. 521, n. December 2019, p. 735064, 2020.

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

MELO, F. P. D. E. et al. Cultivo do camarão marinho com bioflocos sob diferentes níveis de proteína com e sem probiótico. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 202–210, 2015.

MIRZAKHANI, N. et al. Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C:N ratios. **Aquaculture**, v. 512, n. June, p. 734235, 2019.

MONIRUZZAMAN, M. et al. Effects of stocking density on growth, body composition, yield and economic returns of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus* l.) under cage culture system in Kaptai lake of Bangladesh. **Jornal Aquaculture Research & Development**, v. 6, n. 8, p. 1–7, 2016.

MONROY-DOSTA, M. DEL C. et al. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociados al biofloc en un cultivo de tilapia. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 48, n. 3, p. 511–520, 2013.

MONROY, C. M. et al. Importance and function of microbial communities in aquaculture systems with no Original article Importance and function of microbial communities in aquaculture systems with no water exchange. **Journal of Animal Science**, v. 4, n. 9, p. 103–110, 2015.

PEIXE BR. **Anuário 2020 Peixe BR da Piscicultura.**

PEIXE BR. **Anuário 2022 Peixe BR da Piscicultura.**

POLI, M. A. et al. Pacific white shrimp and Nile tilapia integrated in a biofloc system under different fish-stocking densities. **Aquaculture**, v. 498, n. August 2018, p. 83–89, 2019.

RANSANGAN, J.; LAL, T. M.; AL-HARBI, A. H. Characterization and experimental infection of *Vibrio harveyi* isolated from diseased Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 104–115, 2012.

ROBLES-PORCHAS, G. R. et al. The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 2228–2249, 2020.

ROCHA, J. V. et al. Compensatory growth and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding restriction in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 50,

n. 12, p. 3653–3662, 2019.

SECOMBES, C. J. The non-specific immune system: cellular defenses. In: PRESS, A. (Ed.). . **The Fish Immune System: Organism, Pathogens and Environment**. San Diego: [s.n.]. p. 63–103.

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

SGNAULIN, T. et al. Nutrition of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) in biofloc technology system : Optimization of digestible protein and digestible energy levels during nursery phase. **Aquaculture**, v. 521, n. January, p. 1–9, 2020.

SHOKO, A. P. et al. Effect of stocking density on growth , production and economic benefits of mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) in polyculture and monoculture. **Aquaculture Research**, p. 1–15, 2014.

SILVA, M. A. et al. Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 8, p. 1–11, 2018.

SILVA, P. C. et al. Desempenho produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L .) em diferentes densidades e trocas de água em “ raceway ”. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 4, p. 935–941, 2002.

SOUZA, R. L. DE et al. The culture of Nile tilapia at different salinities using a biofloc system. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 2, p. 267–275, 2019.

TACHIBANA, L. et al. Densidade de estocagem de pós-larvas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão sexual. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 483–488, 2008.

TACON, A. G. J. et al. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, n. 2, p. 121–137, 2002.

TETTEH-DOKU MENSAH, E.; KLENAM ATTIPOE, F.; ASHUN-JOHNSON, M. Effect of different stocking densities on growth performance and profitability of *Oreochromis niloticus* fry reared in hapa-in-pond system. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 5, n. 8, p. 204–209, 2013.

TOLEDO, T. M. et al. Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: Water quality, biofloc composition, growth and health. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 6, p. 1841–1851, 2016.

VICENTE, L. R. M. et al. Nile tilapia nursery in a biofloc system: Evaluation of different stocking densities. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 46, n. 2, p. 1–9, 2020.

WANG, Y. et al. Growth, digestive enzymes activities, serum biochemical parameters and antioxidant status of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at different stocking densities in in-pond raceway recirculating culture system. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 4, p. 1338–1347, 2019.

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. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in bio floc-based culture tanks manipulating high C / N ratio of feed input. **Aquaculture**, v. 412–413, p. 117–124, 2013.

YIN, Z.; LAM, T. J.; SIM, Y. M. The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy carp (*Cyprinus carpio* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 5, p. 519–529, 1995.

YU, Z. et al. Dietary supplementation of microbial floc heightens growth and improves digestive, immune, antioxidant enzymes activity and ammonia resistance in *Opsariichthys kaopingensis*. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4054–4064, 2020a.

YU, Z. et al. Bioflocs protects copper-induced inflammatory response and oxidative stress in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski through inhibiting NF- κ B and Nrf2 signaling pathways. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 98, n. December 2019, p. 466–476, 2020b.

YU, Z. et al. Monitoring of growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of Golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero- water exchange tanks of biofloc systems. **Aquaculture Reports**, v. 16, n. December 2019, p. 1–10, 2020c.

ZAKI, M. A. A. et al. The impact of stocking density and dietary carbon sources on the growth, oxidative status and stress markers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under biofloc conditions. **Aquaculture Reports**, v. 16, n. November 2019, p. 100282, 2020.

ZHAO, Y. et al. Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* T13 on growth , immunity and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 32, n. 5, p. 750–755, 2012.