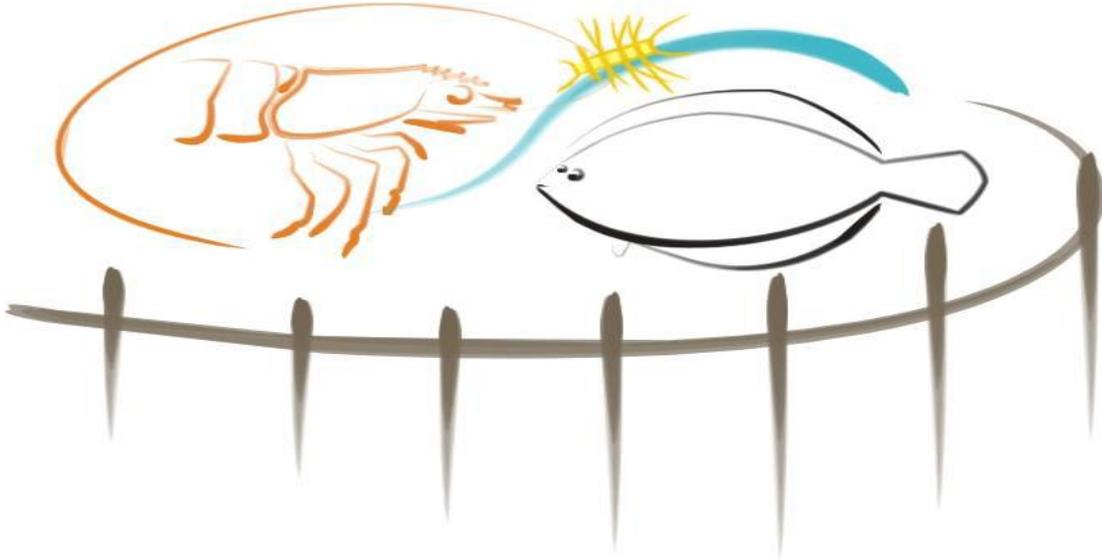




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA – IO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAq



WILSON JOAQUIM BOITRAGO

**EFEITO DA REUTILIZAÇÃO DO MEIO DE PRODUÇÃO NA RECRIA DE
TILÁPIAS *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS 1758), EM SISTEMA
SUPERINTENSIVO COM BIOFLOCOS**

Rio Grande-RS, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA – IO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAq

**EFEITO DA REUTILIZAÇÃO DO MEIO DE PRODUÇÃO NA RECRIA DE
TILÁPIAS *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS 1758), EM SISTEMA
SUPERINTENSIVO COM BIOFLOCOS**

Wilson Joaquim Boitrigo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo

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

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande, RS, abril de 2015

ATA DE APROVAÇÃO

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
ABSTRACT.....	21
1. INTRODUÇÃO.....	22
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1. DESENHO EXPERIMENTAL.....	23
2.2. FORMAÇÃO DO BIOFLOCO.....	24
2.3. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA.....	25
2.4. SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS (SST).....	25
2.5. COMUNIDADE MICROBIANA.....	26
2.6. ANÁLISE DE DESEMPENHO ZOOTÉNICO.....	26
2.7. EFEITO DO AMBIENTE NO BEM-ESTAR DOS PEIXES.....	27
2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
3. RESULTADOS.....	28
3.1. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA.....	28
3.2. PARÂMETROS DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	32
3.3. MICRORGANISMOS.....	34
3.4. ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NAS BRÂNQUIAS.....	37
4. DISCUSSÃO.....	38
4.1. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA.....	38
4.2. PARÂMETROS DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	42
4.3. MICRORGANISMOS.....	42

4.4 Histopatologia das Brânquias.....	43
5. CONCLUSÃO	45
AGRADECIMENTOS.....	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXO I: Laboratório de Piscicultura Barragem do Chasqueiro - UFPel	
ANEXO II: Croqui das unidades experimentais	
ANEXO III: Sala experimental	
ANEXO IV: Análise da Qualidade da água	
ANEXO V: Biometria	
ANEXO VI: Histologia	

As minhas filhas Criskelly e Kelry

A Minha esposa Ana Paula

E toda minha família

Dedico

AGRADECIMENTOS

Às minhas filhas que são os verdadeiros motivos pelos quais busco me superar a cada dia para que tenham um bom exemplo a seguirem;

À minha esposa pelo apoio e compreensão, que mesmo de tão longe conseguia me confortar com suas palavras, nas horas mais difíceis;

À toda minha família pelo apoio e confiança em mim depositados;

Ao Profº Dr. Ricardo Berteaux Robaldo por ter aceitado o desafio de me conduzir neste caminho, mesmo sabendo das dificuldades que iríamos enfrentar;

Ao Profº Dr. Wilson Wasielesky Jr. agradeço pela co-orientação e sugestões para que este trabalho pudesse ser concluído;

À Profª Dra. Cíntia Labussière Nakayama e ao Profº. Dr. Geraldo Kipper Fóes agradeço pelo aceite de participação da banca de defesa;

A todos os professores que contribuíram para essa minha vitória;

Agradeço aos técnicos Diogo, Sandro e Alessandro pelo apoio e suporte nunca negados

Agradeço a todos os amigos e colegas da EMA pelas dicas, conselhos, gargalhadas e momentos que levarei pra sempre na memória;

Aos amigos da Estação de Piscicultura da Barragem do Chasqueiro: Helena (Ling), Nilton, Edilson e Vitor;

Um agradecimento especial, não somente pelos ensinamentos acadêmicos, mas por suas palavras que me trouxeram paz, confiança e me fizeram acreditar que seria possível, por todo apoio sempre a mim despendido, sem o qual, com certeza minha trajetória teria sido muito mais difícil.

*Profº Dr. Paulo Cesar Abreu,
O meu muito obrigado!*

RESUMO

O crescimento da produção aquícola é fundamental para suprir o aumento da demanda mundial por pescado, sendo a tilápia *Oreochromis niloticus* uma das principais espécies de peixes que alavancam esta atividade. Contudo, esta intensificação da aquicultura causa impactos ambientais e agride os princípios da sustentabilidade, sendo necessária a busca por meios de produção mais sustentáveis. Dentre as alternativas, a tecnologia de bioflocos (Bioflocs Technology - BFT) é considerada atualmente uma das mais ambientalmente corretas principalmente por reduzir o uso da água e reciclar os nutrientes inseridos no sistema. Entretanto ainda apresenta alguns problemas com relação ao descarte de efluentes e acúmulo de nutrientes no meio ambiente. Sendo assim a possibilidade de reaproveitamento do meio de produção em ciclos subsequentes torna-se fundamental para aumentar a sustentabilidade da tecnologia de bioflocos. Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes níveis percentuais de reutilização do meio de produção (efluente) na recria de *O. niloticus* em sistema BFT. O experimento teve duração de 40 dias e foi realizado em ambiente fechado em doze tanques de 1000L e volume útil de 400L, com quatro tratamentos em triplicata, sendo um controle sem reutilização (0% - T0) e três níveis percentuais de reutilização do efluente: (25% -T25, 50% - T50 e 100% - T100). Os alevinos ($3,79 \pm 0,12g$) foram estocados a uma densidade de 500 indivíduos/m³. Foram monitorados temperatura, oxigênio dissolvido pH, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, sólidos em suspensão e alcalinidade. O material para avaliação da comunidade microbiana presente no meio de produção foi coletado a cada 3 dias. Foi feita fertilização orgânica utilizando melão como fonte de carbono para manter a relação C/N ideal para desenvolvimento da comunidade microbiana que controlam as alterações das concentrações de amônia no sistema. A cada dez dias foram realizadas biometrias para avaliar o crescimento dos peixes e análises histológicas das brânquias a cada quinze dias. Os parâmetros de qualidade de água mantiveram-se dentro do aceitável para a espécie em todos os tratamentos com reutilização de água, com exceção do tratamento sem reutilização de água (T0) que apresentou maiores concentrações de amônia e nitrito, o que resultou em maiores danos nas brânquias e pior desempenho zootécnico dos animais em relação aos demais tratamentos. Os resultados do presente estudo sugerem que é viável a reutilização de 100% do meio de produção em um ciclo subsequente para tilápia nilótica.

ABSTRACT

The growth of aquaculture is essential to meet the growing global demand for fish and tilapia *Oreochromis niloticus* main species of fish that leverage this activity, however the intensification of aquaculture cause environmental impacts and attacks the principles of sustainability, so the search for more sustainable means of production became constant among researchers. Among the alternatives to bioflocos technology (BFT) is considered one of the most environmentally friendly at reducing the use of water and recycle nutrients entered into the system. However still presents some problems regarding the disposal of waste and the accumulation of nutrients in the environment. Therefore the possibility of reuse of the means of production in subsequent cycles it is essential to increase the sustainability of bioflocos technology.. This study aimed to evaluate different percentage levels of reuse of the production environment (effluent) on the rearing of *O. niloticus* in BFT system. The experiment lasted 40 days and was conducted in a closed environment with twelve 1000L tanks and useful volume of 400L with four treatments: one control without re-use (0% - T0) and three percentage levels of effluent reuse: (25% - T25, 50% - T50 and 100% - T100). The fry with average weight of 3.79 ± 0.12 g were stocked at a density of 500 individuals / m³. Water quality parameters (temperature, pH and dissolved oxygen) were monitored twice a day, with the exception of ammonia and nitrite (monitored daily). Nitrate and phosphate were analyzed weekly. Suspended solids and alkalinity were monitored every three days as well as sampling of material for evaluation of the microbial community present in the midst of production. Organic fertilization was performed using molasses as carbon source to control changes in ammonia concentrations in the system. Every ten days biometrics was performed to assess the growth of fish and, every fifteen days histological analyzes of the gills were performed. Water quality parameters were within the acceptable for the species in all treatments with water reuse, but treatment without water reuse (T0) had higher levels of ammonia and nitrite and, consequently, greater damages in gills, resulting in worse growth performance of fish compared to other treatments. The results of this study suggest that it is possible to reuse the production midst in a subsequent cycle for tilapia.

INTRODUÇÃO GERAL

A descoberta dos benefícios nutricionais do pescado potencializou o aumento do consumo *per capita* de organismos aquáticos para 19,2 kg em 2012 (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2014). Este fato, juntamente com o crescimento da população mundial que chegou a 7,2 bilhões de habitantes (Organização das Nações Unidas – ONU, 2014), fez crescer a demanda global por produtos alimentícios de origem aquática. Segundo a FAO, a pesca e a aquicultura supriram o mundo com 158 milhões de toneladas de pescados em 2012, sendo a aquicultura responsável por 42,15% deste total. No Brasil a produção aquícola teve um incremento de 31,1% em 2011 em relação a 2010 sendo que, 86,6% desse total foram oriundos da aquicultura continental atendendo os mercados interno e externo (MPA, 2011).

Dentre as espécies de água doce, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) é a segunda mais produzida no mundo, sendo superada somente pelas carpas. Segundo a FAO, a produção mundial de tilápia atingiu, em 2011, aproximadamente quatro milhões de toneladas (FAO, 2014). No Brasil, a espécie é produzida em várias regiões, sob diversos sistemas de criação. Em 2011 a produção nacional superou 250 mil toneladas e situou o país na sexta posição entre os maiores produtores de tilápia do mundo (MPA, 2011). Porém, esta produção ainda é baixa se comparada com a China que alcançou 1,3 milhões de toneladas no mesmo ano (FAO 2012).

A tilápia (*O. niloticus*) é uma espécie nativa da África e pertencente à família Ciclidae. A sua alta produtividade deve-se a ampla tolerância à variação de fatores abióticos, densidades de estocagem, manejo alimentar e sistemas de produção (Popma & Lovshin, 1996). Estas características juntamente com rusticidade, rápido crescimento, alta qualidade da carne e ausência de espinhos na forma de “Y” no filé, (Hildorf, 1995; Zimmermann e Fitzsimmons, 2004) elevam esta espécie a uma posição de destaque econômico na aquicultura mundial. A tilápia possui hábito alimentar onívoro e filtrador (Sklan *et al.*, 2004), com grande capacidade de utilização da produção primária dentro das unidades de produção.

A produção massiva de *O. niloticus* ainda apresenta entraves econômicos principalmente na fase de recria devido ao elevado custo de produção, assim, uma alternativa para otimizar o sistema produtivo nesta fase é aumentar a densidade de estocagem.

A segunda alevinagem ou recria é uma importante fase da criação de peixes pois tem como finalidade aumentar o peso dos alevinos tornando-os mais fortes e resistentes e garantindo maior sobrevivência na fase de engorda (CASACA & TOMA ZELLI JR., 2001). Esta fase pode ser conduzida em diversos sistemas de produção tais como convencional em viveiro escavado, intensivo em tanque rede ou “*raceway*” e recirculação (EMBRAPA, 2007) com densidades de estocagem de até 1000 alevinos/m³ (MAEDA *et al.*, 2010). Entretanto, a intensificação da aquicultura exige o uso de altas taxas de alimentação artificial com elevados teores de proteína bruta (PB) (Avnimelech *et al.* 2009).

Já se tem notificado que os peixes absorvem entre 20% e 25% da PB contida na ração, o restante é lançado no ambiente pelas excretas dos animais e sobras de ração não consumida, sob forma de compostos nitrogenados, provocando a deterioração da qualidade da água. Tais compostos residuais são altamente tóxicos para os peixes afetando diretamente a sustentabilidade do sistema produtivo (Azim & Little 2008; Avnimelech *et al.* 2009; Nootong *et al.* 2011; Widanarni *et al.* 2012).

Existe uma grande preocupação mundial em se respeitar os dogmas da sustentabilidade nos sistemas de produção de alimentos, principalmente na aquicultura por envolver o uso da água. No entanto, diversas são as definições para o termo sustentável, em decorrência de sua concepção sobre o grau de importância em relação à economia e meio ambiente. Sob o ponto de vista dos ambientalistas sistemas produtivos sustentáveis são aqueles que não geram mudanças ambientais negativas, sendo assim o conceito de "Aquicultura Sustentável" ou ("Aquicultura Responsável") foi introduzido para designar a forma desejável de se produzir organismos aquáticos, sem degradar o meio ambiente, com lucro e benefícios sociais (Valenti *et al.*, 2002).

Ainda não existem sistemas de produção aquícola totalmente sustentáveis, sendo assim, o que podemos fazer é introduzir processos, sistemas e práticas que sejam menos impactantes do que outros. Para isso é essencial a mensuração da sustentabilidade dos sistemas, estabelecer metas possíveis de serem cumpridas e gerar ações para atingí-las (Kimpura *et al.* 2010). Uma alternativa para intensificar a produção da tilápia, porém de uma forma mais sustentável é em sistema de bioflocos (Bioflocs Technology - BFT), vários estudos tem sido realizados com tilápia em BFT com o intuito de otimizar este sistema produtivo para esta espécie (Avnimelech, 2011; Widanarni *et al.*, 2012; Ekasari *et al.*, 2015).

A tecnologia de bioflocos possibilita a intensificação da aquicultura sem comprometimento da qualidade da água (Avnimelech 2009). Esta tecnologia apresenta como principal característica a produção em sistema fechado com mínima ou nenhuma troca de água tendo como princípio básico a retenção e reciclagem dos nutrientes. Com a manutenção da relação carbono/nitrogênio (C/N) na água na proporção de 20:1, através da adição de uma fonte externa de carbono orgânico estimula-se o crescimento de bactérias heterotróficas no meio (Avnimelech 1999). Utilizando-se destes substratos, as bactérias convertem nitrogênio amoniacal em biomassa bacteriana que servirá como fonte de alimento natural no sistema produtivo contribuindo para a manutenção da qualidade da água e redução dos custos de produção uma vez que esta proteína microbiana estará prontamente disponível no meio de produção (Ebeling *et al.* 2006; Wasielesky *et al.* 2006; Crab *et al.* 2009; Avnimelech 2012).

A utilização do floco como alimento depende tanto do hábito alimentar e fase de desenvolvimento do peixe quanto das características físicas e composição microbiana do biofloco, pois a densidade e o tamanho das partículas influenciam diretamente no consumo (Avnimelech, 2007). Em um dos primeiros trabalhos com tilápia em BFT, Avnimelech *et al.* (1989) atribuíram o melhor desempenho zootécnico dos animais submetidos a um tratamento alimentado com ração contendo 10% de proteína bruta e celulose como fonte de carbono em relação ao tratamento sem celulose, ao consumo do biofloco. A contribuição nutricional dos flocos microbianos pode ser comprovada uma vez que os autores verificaram a presença do marcador do isótopo de ^{13}C presente na celulose e no tecido muscular dos animais mostrando que os mesmos ingeriram o floco que se desenvolveu utilizando a celulose como fonte de carbono. A importância nutricional do biofloco é de grande relevância no sistema produtivo, sendo estes agregados microbianos ricos em proteínas, lipídeos, fibras e cinzas (Burford *et al.*, 2004; Avnimelech, 2007; Azim *et al.* (2008). Entretanto, a composição nutricional do biofloco é pouco influenciada pela qualidade da ração inserida no meio de produção (Azim e Little, 2008; López-Elias, *et al.*, 2015).

Neste sistema de produção com ausência ou mínima renovação de água, ocorre acúmulo de matéria orgânica originada dos dejetos, restos de alimento e organismos mortos, a qual sob forte aeração é mantida em suspensão na coluna da água servindo de substrato para a formação dos bioflocos, que compõem os sólidos suspensos totais (SST) (Avnimelech 1999; Emerenciano *et al.* 2007; Krummenauer *et al.* 2012). Segundo Gaona *et al.* (2011) o excesso de SST pode tornar-se um problema para o

sistema de produção, pois impede a penetração da luz e pode colmatar e/ou lesionar as brânquias dos peixes (Azim & Little 2008 Avnimelech 2011; Hatem, *et al.*, 2013). Por isso o excesso de SST deve ser removido do sistema através de clarificadores, sempre que atingirem concentrações a partir de 500 mg.L⁻¹ (Samocha *et al.* 2007). Entretanto estes sólidos, após retirados ainda não seguem um destino sustentável sendo que várias pesquisas tem sido feitas com o objetivo de inserir a farinha de flocos microbianos em dietas para peixes e camarões sendo que seu uso parece ser uma opção viável e sustentável (Kuhn *et al.* 2010; Bauer *et al.*, 2012).

Dentre as vantagens do sistema BFT está a manutenção de maior estabilidade térmica da água por demandar menores trocas (Crab *et al.* 2009; Crab *et al.* 2012) mantendo a temperatura no meio de produção, apropriada para a espécie mesmo em regiões de temperaturas mais baixas.

Os dois principais processos responsáveis por manter a qualidade da água no sistema BFT são assimilação e nitrificação do nitrogênio orgânico introduzido através da ração (Ebeling *et al.* 2006). Durante esses processos há a formação de amônia e nitrito que entram em contato direto com as brânquias, que são os principais órgãos de trocas gasosas e osmorregulação dos peixes. Os animais ao perceberem os elementos tóxicos desenvolveram adaptações para perceber e enfrentar as alterações ambientais e preservar sua condição homeostática (Montero *et al.* 2001), promovendo alterações histopatológicas nas brânquias tais como fusão das lamelas secundárias e hiperpalsia das células de cloreto (Benli *et al.* 2008).

A tecnologia BFT ainda apresenta alguns entraves para otimizar o sistema produtivo e torná-lo mais sustentável tais como a formação inicial da comunidade microbiana, descarte de efluentes e o acúmulo de nutriente e sólidos na água. O início da formação do biofoco é crucial para os organismos em produção devido à presença de compostos nitrogenados. Segundo McIntosh (2001) o estabelecimento da comunidade microbiana no biofoco que é responsável por reduzir os níveis de amônia e nitrito do sistema, pode levar em torno de seis a oito semanas. Estes compostos têm influência direta na fisiologia dos organismos aquáticos afetando principalmente o consumo de oxigênio, sistema imunológico, crescimento e sobrevivência dos peixes (Azim *et al.* 2008). Sendo assim uma vez estabelecida a comunidade microbiana em um ciclo anterior, a reutilização deste meio de produção em uma nova etapa, torna-se uma alternativa viável para acelerar o processo de formação do biofoco (Krummenauer *et al.* 2014), reduzindo assim, os impactos causados pelos nitrogenados aos animais.

O sistema BFT, como todos os outros geram efluentes principalmente no processo de clarificação (Ray *et al.*, 2010; Gaona *et al.*, 2011) e no momento da despesca (Krummenauer *et al.*, 2012), como características dos sistemas fechados de produção, estes efluentes são ricos em nutrientes, compostos nitrogenados mais precisamente nitrato, e fosfatos. A toxicidade destes compostos é relativamente baixa para os peixes, entretanto quando lançados ao ambiente causam eutrofização das águas do entorno da atividade (Lacerda *et al.* 2006). A água é um recurso caro na produção, pois envolve muitas vezes custos com bombeamento e tratamento e ainda há limitações legais impostas pelos órgãos ambientais que asseguram o controle quantitativo e qualitativo da água outorgada para ser utilizada na aquicultura. Neste sentido, o reuso do meio de produção possibilita a reciclagem dos nutrientes que permanecem na água, atua como uma medida mitigadora à emissão de efluentes no meio ambiente e reduz os custos com bombeamento de água, insumos e tratamento de efluentes nos sistemas de produção aquícolas em BFT.

Em um sistema de produção, o foco é oferecer ao animal o meio próximo ao ideal para seu desenvolvimento em curto tempo e com bom desempenho zootécnico. Deste modo a manutenção da qualidade da água é fundamental para atender este objetivo. Assim sendo, considerando as características do BFT e a aptidão da tilápia ao sistema, cabe avaliar os efeitos causados pela reutilização de diferentes concentrações do meio de produção no desempenho e condição de bem estar da tilápia nilótica na fase de recria em regime intensivo com bioflocos.

Este trabalho está dividido em duas partes, uma introdução geral e um capítulo na forma de artigo científico, escrito segundo as normas da revista “Aquaculture”.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da reutilização da água com bioflocos na produção de tilápia *Oreochromis niloticus* na fase de recria em sistema BFT.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos de diferentes taxas de reutilização do meio de produção com bioflocos na sobrevivência e desempenho zootécnico na fase de recria da tilápia *O. niloticus*;

- Analisar a evolução da comunidade microbiana em diferentes taxas de reutilização do meio com bioflocos, na recria de *O. niloticus*;

- Analisar o efeito da qualidade da água e dos sólidos suspensos nas alterações histopatológicas das brânquias da tilápia *O. niloticus* na fase de recria, nos diferentes tratamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227–235.
- AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264:140-147.
- AVNIMELECH, Y & M KOCHBA. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture*, 287: 163–168.
- Avnimelech, Y. 2011. Tilapia production using biofloc technology saving water, waste recycling improves economics. *Global Aquacult. Advocate*, 166-168.
- AVNIMELECH, Y 2012. Biofloc technology - A practical guide book, 2^d Edition. Baton Rouge, Louisiana, United States. *The World Aquaculture Society*, 272p.
- AVNIMELECH Y., MOKADY S. AND SCHROEDER G.L. (1989) Circulated ponds as efficient bioreactors for single-cell protein production. *Israeli J. Aquaculture Bamidgeh*, 41: 58-66.
- AZIM M.E., LITTLE D.C., BRON J.E., 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource Technology*, 99: 3590-3599.
- AZIM, ME & LITTLE, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283: 29–35.
- BAUER, W., PRENTICE-HERNANDEZ, C., TESSER, M.B., WASIELESKY JR., W., POERSCH, L.H.S. 2012 Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 342–343: 112–116
- BENLI, ACK, G KÖKSAL & Ö AYHAN. 2008. Sub lethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere*, 72: 1355–1358.
- BURFORD, M.A., THOMPSON, P.J., MCINTOSH, R.P., BAUMAN R.H., PEARSON, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture*, 232: 525-537.
- CASACA, J. M.; TOMA ZELLI JR, O. 2001. Produção de alevino II. Florianópolis: Epagri, Boletim Técnico, 115. 29 p
- CIRCULAR TÉCNICA EMBRAPA. 2007. Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Terezina, PI. 12p.

- CRAB, R, M KOCHVA, W VERSTRAETE & Y AVNIMELECH, 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilápia. *Aquacult. Eng.*, 40: 105–112.
- CRAB R., DEFOIRDT T., BOSSIER P. AND VERSTRAETE W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356–357: 351–356.
- EBELING, JM, MB TIMMONS & JJ BISOGNI. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346–358.
- EKASARI, J., RIVANDI, D.R, FIRDAUSI, A.P, SURAWIDJAJA, E.H, ZAIRIN, M.JR., BOSSIER, P., SCHRUYVER, P.D. 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*, 441: 72–77
- EMERENCIANO, MGC, W WASIELESKY JUNIOR, RB SOARES, EC BALLESTER, EM IZEPI & RO CAVALLI. 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. *Acta Sci. Biol. Sci.*, 29: 1-7.
- FAO. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, Italia , Editorial Group. FAO Information Division. 1 -197p.
- FAO. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, Italia , Editorial Group. FAO Information Division. 1 -223p.
- GAONA, CAP, LHD POERSCH, D KRUMMENAUER, GK FOES & W WASIELESKY JUNIOR. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *Int. J. Recir. Aquacult.*, 12: 54–73.
- HATEM, M.H., ABDELHAY Y.B., ALAYAFI A.H., SULOMA A., 2013. Application of new strategies to reduce suspended solids in zero-exchange system: I. Histological alterations in the gills of Nile tilápia. *J. Appl. Sci. Res*, 9(2): 1186-1192.
- HILDSORF, A.W.S. 1995. Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 22(1) : 73-78.
- KIMPARA, J.M., ZADJBAND, A.D., VALENTI, W.C. 2010. Medindo a sustentabilidade na aquicultura. *Boletim Ablimno*, 38(2) : 1-13.
- KRUMMENAUER, D, CA SEIFERT JUNIOR, LH POERSCH, GK FOES, GR LARA & W WASIELESKY JUNIOR. 2012. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. *Atlantica*, 34: 103-111.

- KRUMMENAUER, D., SAMOCHA, T., POERSCH, L., LARA G., WASIELESKY JR. W., 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. *J. of the World Aquaculture Society*, 45 (1) : 3-14.
- KUHN DD, AL LAWRENCE, GD BOARDMAN, S PATNAIK, L MARSH,GJ FLICK. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 303: 28-33.
- LACERDA, LD, AG VAISMAN, LP MAIA, CAR SILVA, EMS CUNHA. 2006. Relative importance of nitrogen and phosphorus emissions from shrimp farming and other anthropogenic sources for six estuaries along the NE Brazilian coast. *Aquaculture*, 253:433-446.
- LÓPEZ-ELÍAS, J.A., MORENO-ARIAS, A. MIRANDA-BAEZA, A., MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R., RIVAS-VEJA, M.E., MÁRQUEZ-RÍOS, E. 2015. Proximate Composition of Bioflocs in Culture Systems Containing Hybrid Red Tilapia Fed Diets with Varying Levels of Vegetable Meal Inclusion. *North American Journal of Aquaculture*, 77(1) : 102-109.
- MAEDA, H, PC SILVA, RPC OLIVEIRA, MS AGUIAR, DMC PADUA, NP MACHADO, V RODRIGUES & RH SILVA. 2010. Densidade de estocagem na alevinagem de tilápia do Nilo em tanque rede. *Cienc. Anim. Bras.*, 11-3:471 - 476
- MCINTOSH, R. P. 2001. Changing paradigms in shrimp farming: V. Establishment of heterotrophic bacterial communities. *Global Aquaculture Alliance*, 2: 53-58.
- MONTERO, D, L TORT, JM VERGARA, MS IZQUIERDO. 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream¹⁹ (*Sparusaurata*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.*, 11: 473–490.
- MPA 2011. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Brasília. 60p.
- NOOTONG, K & P PRASERT. 2011. Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system. *J. World Aquacult. Soc.*, 42: 339–346.
- ONU (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS). Disponível em: <http://www.onu.org.br/a-onu-em-acao/a-onu-em-acao/a-onu-e-a-populacao-mundial>. Acesso em: 05 de janeiro de 2015.

- POPMA, T.J., LOVSHIN L.L. 1996. Worldwide prospects for commercial production of tilapia. *Alabama, International Center for Aquaculture and Aquatic Environments*. 1-42.
- RAY, A.J., LEWIS, B.L., BROWDY, C.L., LEFFLER, J.W. 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture* 299, 89-98.
- SAMOCHA, TM, S PATNAIK, M SPEED, AM ALI, JM BURGER, RV ALMEIDA, Z AYUB, M HARISANTO, A HOROWITZ & DL BROOK. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vanammei*. *Aquacult. Eng.*, 36: 184-191.
- SKLAN, D.; PRAG, T.; LUPATSCH, I. 2004. Structure and function of the small intestine of the tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Aquaculture Research*, 35:350-357.
- VALENTI, W.C. 2002. Aquicultura sustentável. In: Congresso de Zootecnia, 12o, Vila Real, Portugal, Vila Real: *Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos*. Anais.111-118.
- ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS. K. Tilapicultura intensiva. IN: CYRINO, J. E. P., URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI. C. (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: *TecArt*, 2004. 533 p.
- WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, A STOKES & CL BROWDY. 2006. Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396–403.
- WIDANARNI, J EKASARI & S MARYAM. 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. Cultured at Different Stocking Densities. *Hayati J. Biosci.*, 19: 73-80.

ARTIGO CIENTÍFICO

EFEITO DA REUTILIZAÇÃO DO MEIO DE PRODUÇÃO NA RECRIA DE TILÁPIAS *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS 1758), EM SISTEMA SUPERINTENSIVO COM BIOFLOCOS

Boitrigo, W.J., Abreu, P.C., Wasielesky, W.J., Robaldo, R.B.,
Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia – Programa de Pós-
graduação em Aquicultura. C.P. 474, CEP: 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil.
e-mail: wboitrigo@yahoo.com.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes níveis percentuais de reutilização do meio de produção (efluente) na recria de *Oreochromis niloticus* em sistema intensivo com bioflocos (Biofloc Technology - BFT). O experimento teve duração de 40 dias e foi realizado em ambiente fechado com doze tanques de 1000L e volume útil de 400L, com quatro tratamentos sendo um controle sem reutilização (0% - T0) e três níveis percentuais de reutilização do efluente: (25% - T25, 50% - T50 e 100% - T100). Os alevinos ($3,79 \pm 0,12$ g) foram estocados a uma densidade de 500 indivíduos/m³. A temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram monitorados duas vezes ao dia, a amônia e o nitrito diariamente e semanalmente foram analisados os níveis de nitrato e fosfato. Os sólidos em suspensão e alcalinidade foram monitorados a cada três dias assim como coleta de material para avaliação da comunidade microbiana presente no meio de produção. Foi feita fertilização orgânica utilizando melão como fonte de carbono para controlar as alterações das concentrações de amônia no sistema. A cada dez dias foram realizadas biometrias para avaliar o crescimento dos peixes e, a cada quinze dias, foram feitas análises histológicas das brânquias. Os parâmetros de qualidade de água mantiveram-se dentro do aceitável para a espécie em todos os tratamentos com reutilização de água, com exceção do tratamento sem reutilização de água (T0) que apresentou maiores índices de amônia e nitrito e conseqüentemente maiores danos nas brânquias resultando em pior desempenho zootécnico dos peixes em relação aos demais tratamentos. Os resultados do presente estudo sugerem que é viável a reutilização de 100% do meio de produção em um ciclo subsequente de recria para tilápia nilótica com monitoramento dos SST.

Palavras-chave: Tilapia, Sistema heterotrófico, reutilização de água, sustentabilidade

ABSTRACT

This study aimed to evaluate different percentage levels of reuse of the production environment (effluent) on the rearing of *Oreochromis niloticus* in Biofloc Technology (BFT) system. The experiment lasted 40 days and was conducted in a closed environment with twelve 1000L tanks and useful volume of 400L with four treatments: one control without re-use (0% - T0) and three percentage levels of effluent reuse: (25% - T25, 50% - T50 e 100% - T100). The fry with average weight of 3.79 ± 0.12 g were stocked at a density of 500 individuals / m³. Water quality parameters (temperature, pH and dissolved oxygen;) were monitored twice a day, with the exception of ammonia and nitrite (monitored daily). Nitrate and phosphate were analyzed weekly. Suspended solids and alkalinity were monitored every three days as well as sampling of material for evaluation of the microbial community present in the midst of production. Organic fertilization was performed using molasses as carbon source to control changes in ammonia concentrations in the system. Every ten days biometrics was performed to assess the growth of fish and, every fifteen days histological analyzes of the gills were performed. Water quality parameters were within the acceptable for the species in all treatments with water reuse, but treatment without water reuse (T0) had higher levels of ammonia and nitrite and, consequently, greater damages in gills, resulting in worse growth performance of fish compared to other treatments. The results of this study suggest that it is possible to reuse the production midst in a subsequent cycle for tilapia.

Keywords: Tilapia, heterotrophic system, reuse of water, sustainability

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade que consome recursos naturais tais como água, área e energia. Sendo assim a busca por processos produtivos autossustentáveis com racionalização destes recursos, passou a ter relevância mundial. Para atender esta demanda várias iniciativas têm sido tomadas para que a atividade seja sustentável, rentável e tenha responsabilidade social. A adoção de práticas que busquem a redução do uso da água e minimizem a emissão de efluentes no meio ambiente, tornam a atividade mais ambientalmente amigável (McIntosh *et al.*, 2000).

A tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) é o segundo peixe de água doce mais produzido no mundo (FAO, 2014). Sua alta produtividade deve-se a sua ampla tolerância a variação de fatores abióticos, densidades de estocagem, aceite e disponibilidade de ração adequada e ajuste a diferentes sistemas de produção, sendo produzida em diversas regiões do Brasil.

Dentre as alternativas de produção de tilápia destaca-se a criação em sistema superintensivo com bioflocos (“Biofloc Technology” – BFT). Muitos autores consideram a aquicultura em sistema BFT como sendo o método mais sustentável e ambientalmente correto, o qual tem sido aplicado, tanto em laboratório quanto em escala comercial para várias espécies aquícolas, mas preponderantemente com camarões e tilápia (Wasielesky *et al.*, 2006, Avnimelech, 2007; Azim e Little, 2008; Crab *et al.*, 2009).

Na década de 1990, a tecnologia de bioflocos (BFT), foi abordada com base no controle da qualidade da água através da comunidade microbiana presente no meio de produção, com troca zero ou mínima de água (Avnimelech *et al.*, 1994; Avnimelech, 1999). Esta comunidade, preferencialmente heterotrófica, converte os resíduos nitrogenados presentes na água em proteína microbiana. Tal processo é estimulado através da adição de uma fonte de carbono orgânico externa para manter a relação carbono/nitrogênio entre 15 e 20:1 sob aeração constante (Avnimelech, 1999).

O BFT é um sistema de produção que gira em torno do uso mais eficiente do aporte de nutrientes inseridos no meio, uma vez que a biomassa microbiana serve como fonte de alimento aos animais no meio de produção (Widanarni *et al.*, 2012). Este floco é rico em proteína, lipídeos e carboidratos sendo uma fonte nutricional ideal e constantemente à disposição dos organismos produzidos (Crab *et al.*, 2010a; Avnimelech, 2011). Contudo o sistema BFT ainda apresenta algumas limitações tais como o acúmulo de sólidos suspensos, que pode causar danos às brânquias dos animais

reduzindo a capacidade respiratória dos mesmos (Azim & Little, 2008; Hatem, *et al.*, 2013) e liberação do efluente concentrado no meio ambiente ao final do ciclo produtivo, pois como característica dos sistemas fechados de produção há um grande acúmulo de resíduos orgânicos e químicos principalmente compostos nitrogenados e fosfatados (Azim & Little, 2008), que torna esse efluente altamente agressivo ao ambiente. Sendo assim a reutilização desse meio de produção vem sendo vista como alternativa para reduzir os impactos ambientais da atividade.

Outro problema enfrentado pelos produtores em sistema BFT é o tempo de formação da comunidade microbiana que se desenvolve entre a sexta e sétima semana após a estocagem dos animais (Samocha *et al.*, 2012). Nesse período de formação as concentrações de compostos nitrogenados principalmente amônia e nitrito se tornam elevadas podendo causar danos nas brânquias ou serem letais para os organismos em produção (Benli *et al.*, 2005). Neste sentido o reuso do meio de produção (biofoco) tem sido empregado como alternativa para manter os níveis destes compostos baixos durante o período de cultivo de *Litopenaeu vannamei* (Samocha *et al.*, 2010; Krummenauer *et al.*, 2014) Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da reutilização do meio de produção em diferentes níveis percentuais, para produção de tilápia, na fase de recria, em sistema superintensivo com biofocos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. DESENHO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado no período de maio a julho de 2014 com duração de 40 dias, nas instalações da Estação de Piscicultura da Barragem do Chasqueiro da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), localizada no Município Arroio Grande-RS/Brasil (Latitude $-32^{\circ}16'53,3''S$ e Longitude $-53^{\circ}01'38,4''W$). As unidades experimentais (UE) foram instaladas em laboratório, constituídas por 12 tanques circulares de fibra de vidro de 1000L, com volume útil de 400L. A temperatura foi controlada por aquecedor e termostato ($26^{\circ}C$), fotoperíodo de 12 horas. As UEs foram equipadas com sistema de aeração composto por quatro seções de 15 cm de mangueira microperfurada (aerotubos), acoplado em tubulação suprida por ar oriundo de um soprador radial (“blower”) de 2CV. Os alevinos de tilápia machos mono-sexo da linhagem “Supreme” foram adquiridos do laboratório Aquabel[®], após a inversão sexual, com peso médio de 0,5 g. Na chegada à estação os animais foram aclimatados, mantidos em sistema de recirculação (água clara) por 18 dias antes do início do experimento.

Após esta etapa os peixes foram distribuídos na densidade de 500 alevinos por m³, nos tratamentos iniciados com reutilização do bioflocos na proporção de 0% (T0), 25% (T25), 50% (T50) e 100% (T100), proveniente do cultivo experimental prévio de tilápia em bioflocos e o restante do volume completado com água previamente tratada da rede de abastecimento, com três réplicas, considerando-se o tratamento T0 de reutilização do bioflocos como controle. Os alevinos foram alimentados cinco vezes ao dia (7H30, 10H30, 13H30, 16H30 e 19H30) sob taxa de 7% da biomassa, com ração comercial extrusada (45% de PB e diâmetro de 1,0 mm) nos primeiros 25 dias, seguido de ração com 40% PB e 1,7mm de diâmetro até o término do experimento sendo que nesta última etapa a taxa de arraçoamento foi de 5% da biomassa. O ajuste da taxa de alimentação ocorreu a cada três dias de acordo com a biomassa seguindo-se uma planilha de crescimento esperado, e confirmado a cada 10 dias através da biometria de 20 animais de cada unidade experimental que foram coletados aleatoriamente e pesados individualmente em recipiente com água, onde o peso do indivíduo foi determinado através da subtração do peso final pelo peso inicial do recipiente.

2.2. FORMAÇÃO DO BIOFLOCO

No tratamento controle T0 os bioflocos foram formados a partir de água da barragem do Chasqueiro, clorada com hipoclorito de sódio 10ppm e declorada com tiosulfato de sódio a 15 mg.L⁻¹. Durante os três primeiros dias foram adicionados duas fontes de carbono orgânico na proporção de 50 %, melão de cana e farelo de arroz servindo como substrato inicial para crescimento das comunidades bacterianas heterotróficas, mantendo-se a relação (C/N) de 20:1 (Avnimelech, 1999). Considerando para os cálculos a quantidade de nitrogênio inserido no sistema através da ração. Após o terceiro dia a fertilização foi feita apenas com melão de cana, quando o nitrogênio amoniacal total (N-AT) superou a concentração de 1 mg.L⁻¹, assumindo uma relação (C/N) de 6:1 (Ebeling *et al.*, 2006). Os cálculos para estabelecer as quantidades necessárias das fontes de carbono utilizadas para correção foram feitos conforme equação abaixo.

$$\text{Correção (g)} = [\text{NAT}] \times \text{C:N} \times \text{FE} \times \text{Vol. (L)} / 1000$$

Onde: [NAT] = Concentração de nitrogênio amoniacal total (mg.L⁻¹), C:N = relação carbono/nitrogênio e FE = Fator de equivalência (de acordo com a tabela1) Serra *et al.*, 2015.

Tabela 1 – Porcentagem de carbono e fator de equivalência (FE) presentes nas fontes de carbono utilizadas no presente estudo

Fonte de Carbono	(%) de Carbono	Fator de Equivalencia
Melaço de cana	37,46	2,67
Farelo de arroz	43,36	2,31

Adaptado de Serra *et al.*, 2015

Nos demais tratamentos não houve necessidade de fertilização com melaço visto que a N-AT manteve-se sempre abaixo de 1mg.L^{-1} . Os flocos microbianos foram mantidos em suspensão na coluna da água através do sistema de aeração, assim como a manutenção da oxigenação contínua das UEs. O sistema empregado foi estático, apenas ocorrendo reposição com água decolorada, três vezes por semana, para compensar as perdas pelo processo de clarificação e evaporação.

2.3. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA

Os parâmetros de qualidade de água referentes à temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados duas vezes ao dia com Oxímetro AKSO[®]-AK84 ($0,1^{\circ}\text{C}$ $0,01\text{mg.L}^{-1}$), assim como o pH, utilizando pHmetro de bancada Quimis[®]-Q400AS (0,01 unidade). A análise de amônia total ($0,1\text{mg.L}^{-1}$) seguiu a metodologia descrita em UNESCO (1983) e a de nitrito (1mg.L^{-1}) foi realizada pelo método proposto por Bendschneider & Robinson (1952). As análises de nitrato (1mg.L^{-1}) e fosfato ($0,1\text{mg.L}^{-1}$) foram feitas semanalmente seguindo a metodologia proposta por Aminot e Chaussepied (1983). A alcalinidade foi determinada a cada três dias seguindo a metodologia descrita em APHA (1998).

2.4. SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS (SST)

Os sólidos foram monitorados semanalmente para determinar a concentração (mg.L^{-1}) dos sólidos suspensos totais (SST) após filtração de acordo com o método de Strickland & Parsons (1972). Deste modo, amostras de água (50 ml) foram coletadas de cada tanque e filtrada sob pressão de vácuo através de filtro de papel GF/C pré-secos em estufa por 24 horas e pré-pesado em balança analítica. Os filtros contendo os SST foram secos em estufa até atingirem peso constante. As amostras secas foram pesadas em balança (Bioprecisa FA2104N) $0,01\text{mg}$, e o peso do SST foi calculado a partir das diferenças entre os pesos inicial e final dos filtros. Quando os níveis ultrapassaram 500mg.L^{-1} de SST (Samocha *et al.*, 2007) o excesso foi removido por clarificadores conforme metodologia apresentada por Gaona *et al.* (2011).

2.5. COMUNIDADE MICROBIANA

Amostras de água (10mL) foram coletadas de cada unidade experimental a cada três dias para caracterização e quantificação da comunidade microbiana presente no meio. As amostras foram fixadas em formalina 4% e mantidas em tubos Falcon (15mL) protegidos da luz solar para posterior análise no Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microrganismos Marinhos da FURG, sendo que as amostras utilizadas para análise foram nos tempos 10, 20, 30 e 40 dias em função de diferentes observações dos resultados de ganho de peso baseando-se na curva de crescimento dos peixes (Figura 3) para avaliar a possível influência do consumo dos microrganismos no ganho de peso das tilápias. Foram quantificados flagelados, ciliados, amebóides e rotíferos. A quantificação foi feita utilizando microscópio invertido Zeiss Axiovert® com magnificação de 400x, onde alíquotas de 1mL foram colocadas em câmara de sedimentação e 30 campos aleatórios foram contados diferenciando os microrganismos. Os flagelados foram classificados por tamanho [pequenos – Flag. P (< 10µm); médios – Flag.M (>10<20µm) e grandes –Flag.G (>20µm)].

2.6. ANÁLISE DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

No início do experimento foi feita biometria inicial de 90 animais (tempo zero) para determinar o peso médio inicial (3,79 g±0,12g), o comprimento padrão médio inicial (4,6 cm ±0,02) e comprimento total médio inicial (5,8 cm±0,03) seguida de biometrias a cada 10 dias medindo-se 20 animais de cada UE por evento. Para pesagem foi utilizada balança semi-analítica (Bioprecisa FA2104N; 0,01g). O comprimento foi determinado com o auxílio de ictiômetro (0,1cm). Para tal os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína em concentração de 190 mg.L⁻¹ (Okamura *et al.*, 2010), após as biometrias os animais foram devolvidos aos seus respectivos tanques.

Para determinar o efeito dos tratamentos foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho ao final do experimento: BF – biomassa final (g): BF= Prod - Produtividade final (kg.m⁻³) = [(Biomassa final (kg) X 1000)/400]; TS – taxa de sobrevivência = [(n_i - n_f) x100]/ n_i (%); CAA – conversão alimentar aparente (ração fornecida/ganho em biomassa); TEP - taxa de eficiência proteica (ganho em biomassa / quantidade de proteína ingerida); GP - ganho de peso (g); GPD - ganho de peso diário [ganho de peso (g)/duração do experimento (dias)]; TCE - taxa de crescimento específico [(log peso final – log peso inicial / duração em dias da pesquisa)x100]; K -

fator de condição de Fulton = $[\text{peso total}/(\text{comprimento total})^3] \times 100$, sendo o peso em gramas, o comprimento em centímetros e biomassa inicial e final em gramas.

2.7. EFEITO DO AMBIENTE NO BEM-ESTAR DOS PEIXES

Para avaliar possíveis patologias causadas pelos compostos nitrogenados e/ou sólidos em suspensão foram preparados cortes histológicos das brânquias. As brânquias foram fixadas em formol tamponado 20% e conservadas em etanol 70% até processamento por técnica histológica clássica para hematoxilina/eosina (HE).

A avaliação histológica das brânquias foi feita seguindo o protocolo proposto por Bernet *et al.* (1999). Este autor classifica as alterações branquiais em três fatores de importância (w): um (1) importância patológica mínima, o dano é reversível quando acaba a exposição do animal ao elemento tóxico; dois (2) importância patológica moderada, a lesão é reversível, em alguns casos, quando acaba a exposição; e três (3) importância patológica acentuada, a lesão é irreversível e geralmente leva à perda parcial ou completa da função do órgão (Tabela 2).

Tabela 2 – Classificação do nível de alterações histopatológicas e seus fatores de importância encontradas em brânquias de tilápia *Oreochromis niloticus* criadas sob T0, T25, T50 e T100 de reutilização do meio de produção em regime superintensivo com bioflocos.

Padrão de Reação	Alteração	Fator de importância
Alterações circulatórias	Hemorragia/Hiperemia/Aneurisma	1
	Edema intercelular	1
Mudanças regressivas	Descolamento do epitélio respiratório	1
	Ruptura da célula pilar	2
	Telangiectasia	3
	Fusão das lamelas secundárias	3
	Perda de estrutura das lamelas secundárias	3
	Atrofia	2
Mudanças progressivas	Necrose	3
	Hipertrofia	1
	Hiperplasia	2

Adaptado de Bernet *et al.*, 1999

Cada alteração foi avaliada utilizando uma pontuação score (a) que varia de zero a seis, dependendo da extensão e grau de alteração: zero (0) - inalterada; dois (2) -

ocorrência leve; quatro (4) - ocorrência moderada e seis (6) - ocorrência grave. Também foram considerados os valores intermediários (um, três e cinco). O índice geral de lesão branquial (IG) foi calculado usando os fatores de importância (w) e a pontuação escore (a), sendo: $IG = \sum_{rp} \times \sum_{alt} (aw)$, onde: rp = padrão de reação, alt = alteração, a = pontuação e w = fator de importância. Este índice representa o grau de lesão branquial e quanto maior for (IG), maior será o dano, podendo ser utilizado para comparar diferentes indivíduos.

2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Testou-se a normalidade das variáveis e a homocedasticidade das variâncias, quando estes pressupostos não foram atendidos ou os dados eram expressos em percentuais, os mesmos foram transformados ($\log X$) onde x equivale ao valor do dado analisado. Em seguida foi aplicada a análise de variância (ANOVA, $\alpha = 0,05$) para verificar se havia diferença entre os tratamentos. Seguido de um *pos hoc* de Newman-Keuls para comparação múltiplas das médias (Sokal & Rohlf, 1969).

3. RESULTADOS

3.1. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA

Os valores médios para a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}), pH, alcalinidade ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) e quantidade de NaHCO_3 gasto para correção da alcalinidade durante o período experimental nos diferentes tratamentos são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros de qualidade da água na criação de tilápia *Oreochromis niloticus* sob T0, T25, T50 e T100 de reutilização do meio de produção em regime superintensivo com bioflocos (média ± DP)

Parâmetros	T0	T25	T50	T100
Temp.- M (°C)	25,05±0,13 a	25,18±0,14 a	25,10±0,14 a	25,12±0,15 a
Temp.- T (°C)	25,00±0,12 a	25,02±0,13 a	25,03±0,13 a	24,79±0,13 a
O ₂ - M (mg.L ⁻¹)	4,60±0,04a	4,72±0,04b	4,73±0,03b	4,72±0,03b
O ₂ - T (mg.L ⁻¹)	4,57±0,04a	4,71±0,04b	4,74±0,04b	4,74±0,03b
pH – M	7,56±0,02 a	7,53±0,01 a	7,53±0,01 a	7,52±0,01 a
pH – T	7,59±0,02a	7,51±0,01b	7,50±0,01b	7,49±0,01b
Alcal. (mg.L ⁻¹)	111,7±1,7 a	114,2±1,7 a	109,1±1,8 a	107,9±1,9 a
NaHCO ₃ (g)	45,0c	210,0±39,7b	255,0±39,7ab	360,0±45a

Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa entre as médias dos tratamentos (ANOVA; Newman-Keuls ; P<0,05), e asteriscos representam diferença entre as médias de manhã e tarde (t student; P<0,05). Onde: M: Manhã e T: Tarde.

Foram observadas diferenças significativas (p<0,05) para as médias de oxigênio dissolvido na manhã e tarde. O tratamento T0 obteve as maiores médias para pH no período da tarde se diferenciando estatisticamente dos demais tratamentos, para os demais parâmetros de temperatura manhã e tarde, pH (manhã) e alcalinidade, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos (p<0,05), já para o consumo de bicarbonato de sódio (Fig. 1), houve diferença significativa entre os tratamentos, apresentando a menor média para o tratamento T0 seguido pelo tratamento T25 que não se diferenciou do T50 e com maiores médias o tratamento T100 que diferiu do T25, sendo o aumento do consumo diretamente proporcional ao percentual de reuso do meio de produção.

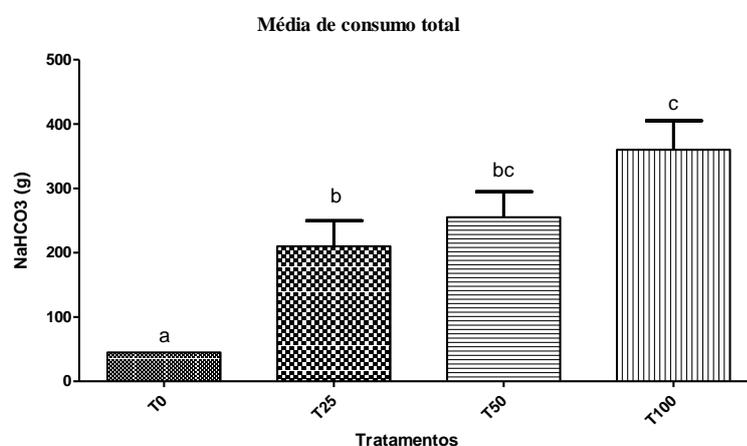


Figura 1. Consumo de bicarbonato de sódio durante criação de tilápia *Oreochromis niloticus* nos tratamentos T0, T25, T50 e T100 com reutilização do meio de produção em regime superintensivo com bioflocos.

Os níveis médios observados para N-AT (mg.L^{-1}), N-NO₂ (mg.L^{-1}), N-NO₃ (mg.L^{-1}), P-PO₄⁻³ (mg.L^{-1}) e SST(mg.L^{-1}) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Concentração de resíduos metabólicos dissolvidos (amônia total- N/AT; nitrito- N/NO₂; nitrato-N/NO₃; ortofosfato-P/PO₄⁻³; sólidos suspensos totais - SST) na criação de tilápia *Oreochromis niloticus* sob T0, T25, T50 e T100 de reutilização do meio de produção em regime superintensivo com bioflocos (média ± DP).

Parâmetros	T0	T25	T50	T100
N-AT (mg.L^{-1})	1,56±0,14 a	0,07±0,015 b	0,0	0,0
N-NO ₂ ⁻ (mg.L^{-1})	26,46±2,42 a	0,88±0,09 b	0,2±0,01 c	0,14±0,01 c
N-NO ₃ ⁻ (mg.L^{-1})	6,76±1,39 c	40,60±5,66 b	55,76±6,68 a	76,13±5,56 a
P-PO ₄ ⁻³ (mg.L^{-1})	2,97±0,60 c	6,06±0,92 b	7,59±1,03 ab	9,25±0,98 a
SST (mg.L^{-1})	172,8±15,6 c	353,9±18,6 b	455,7±12,7 a	512,7±13,0 a

Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa entre médias (ANOVA; Newman-Keuls ; P<0,05).

Os valores médios de nitrogênio amoniacal total (N-AT) foram significativamente maiores ($p<0,05$) no tratamento T0 quando comparado aos demais tratamentos sendo que nos tratamentos T50 e T100 estes compostos não foram detectáveis, ficando abaixo da sensibilidade do método analítico empregado. O nitrito (N-NO₂⁻) também foi mais elevado no tratamento T0, com valor intermediário em T25 e muito reduzido a partir desta concentração de reutilização. O nitrato (N-NO₃⁻) oscilou de maneira diretamente proporcional à concentração de reuso do meio de produção, sem diferir entre as duas maiores médias.

Assim como o nitrato, os níveis de ortofosfato (P-PO₄⁻³) aumentaram progressivamente com o acréscimo de meio. Os valores para sólidos suspensos totais (SST), seguiu o esperado e teve aumento diretamente proporcional ao percentual de reuso da água. Na Fig. 2(a, b, c, d), observa-se a dinâmica do nitrogênio e fosfato, com concentrações de amônia mais elevadas no início do experimento para o tratamento T0, após o 20º dia o aumento das concentrações de nitrito no mesmo tratamento e no final do experimento o aumento das concentrações de nitrato como previsto nos processos normais de nitrificação em ambos os tratamentos, assim como as concentrações de ortofosfato também aumentaram no decorrer do experimento.

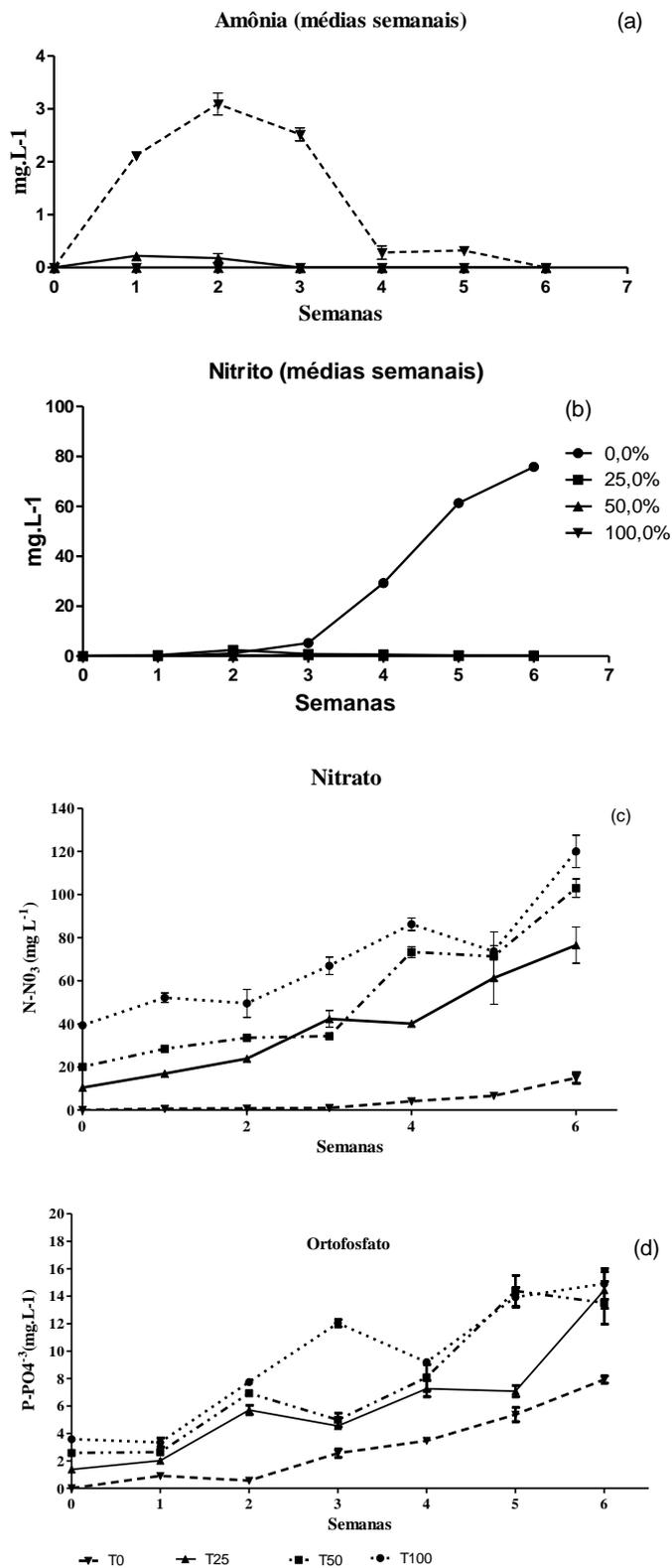


Figura 2. Variação na concentração de (a) amônia total (N-AT), (b) nitrito (N-NO₂⁻) e (c) nitrato (N-NO₃⁻) e (d) ortofosfato (P-PO₄³⁻) durante criação de tilápia *Oreochromis niloticus* sob T0, T25, T50 e T100 com reutilização do meio de produção em regime superintensivo com bioflocos.

3.2. PARÂMETROS DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

As médias de desempenho zootécnico dos animais obtidas para os tratamentos T0, T25, T50 e T100 ao longo do período experimental são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Média \pm DP do desempenho zootécnico dos animais ao longo da produção de tilápia *Oreochromis niloticus* com reutilização de T0, T25, T50 e T100 do meio em regime superintensivo com bioflocos.

Parâmetros	T0	T25	T50	T100
PI (g)	3,790,12 a	3,79 \pm 0,12 a	3,79 \pm 0,12 a	3,79 \pm 0,12 a
PF (g)	24,00 \pm 0,88 a	28,46 \pm 0,74 b	29,33 \pm 0,73 b	28,36 \pm 0,89 b
BI (g)	757,8 \pm 24,0 a	757,8 \pm 24,0 a	757,8 \pm 24,0 a	757,8 \pm 24,0 a
BF (g)	4262,04 \pm 124,7 a	6051,05 \pm 43,5 b	6056,75 \pm 51,7 b	5786,97 \pm 127,8 b
Prod(kg.m ⁻³)	10,65 \pm 0,31 a	15,13 \pm 0,10 b	15,14 \pm 0,13 b	14,47 \pm 0,32 b
Sobr. (%)	72,33 \pm 3,20 a	94,0 \pm 0,76 b	91,83 \pm 0,73 b	89,5 \pm 2,18 b
CAA	1,16 \pm 0,04 b	0,84 \pm 0,007 a	0,84 \pm 0,008 a	0,89 \pm 0,02 a
TEP	2,03 \pm 0,07 a	2,94 \pm 0,02 b	2,94 \pm 0,03 b	2,79 \pm 0,07 b
GPD	0,61 \pm 0,006 a	0,7 \pm 0,007 b	0,72 \pm 0,01 b	0,7 \pm 0,07 b
TCE	2,23 \pm 0,017 a	2,32 \pm 0,01 b	2,35 \pm 0,01 b	2,33,7 \pm 0,01 b
K	2,12 \pm 0,034	2,05 \pm 0,02	2,07 \pm 0,02	2,13 \pm 0,03

Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa. (ANOVA; Newman-Keuls ; P<0,05). Onde: PI: Peso inicial, PF: Peso final, BI: Biomassa inicial, BF: Biomassa final, Prod.: Produtividade, Sobr.: Sobrevivência, CAA: Conversão alimentar aparente, TEP: Taxa de eficiência proteica, GPD: Ganho de peso diário, TCE: Taxa de crescimento específico, K: Fator de condição

O efeito da reutilização do meio de produção no aumento do ganho de peso foi observado a partir do 30º dia de experimento (Fig. 3).

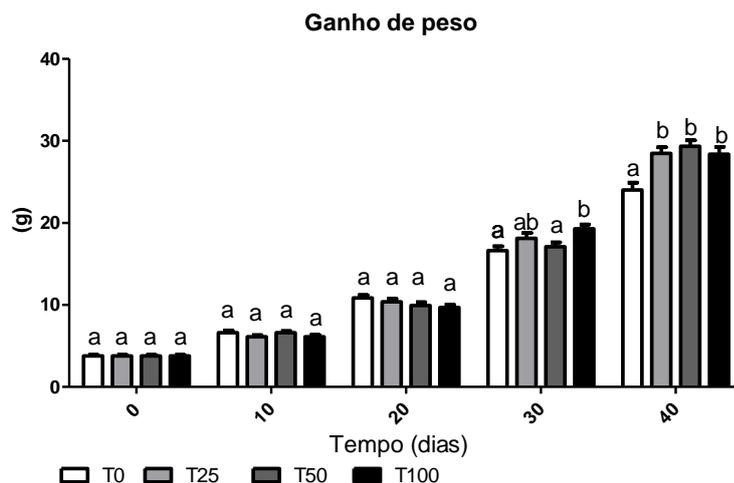


Figura 3. Variação do ganho de peso ao longo do experimento, nos tratamentos T0, T25, T50 e T100, em cultivo super-intensivo de tilápia *Oreochromis niloticus* com bioflocos. As barras verticais representam o desvio padrão(ANOVA; Newman-Keuls ; $P < 0,05$).

Já para o peso final e biomassa final o tratamento T0 apresentou diferenças estatísticas quando comparado com os demais, apresentando menores médias. Nos primeiros 15 dias, o tratamento com total reuso do biofoco reduziu a sobrevivência dos alevinos, entretanto a partir do 30º dia, em T0 observou à redução de aproximadamente 10% da sobrevivência chegando ao final do experimento com uma mortalidade de aproximadamente 30% de mortalidade (Fig. 4). O tratamento T0 apresentou menor taxa de sobrevivência e maiores médias para conversão alimentar aparente, sendo estatisticamente diferente dos demais tratamentos. As médias para a taxa de eficiência proteica, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico foram menores para o tratamento T0 e se diferenciaram estatisticamente ($p < 0,05$), dos demais tratamentos. Já para o fator K não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos.

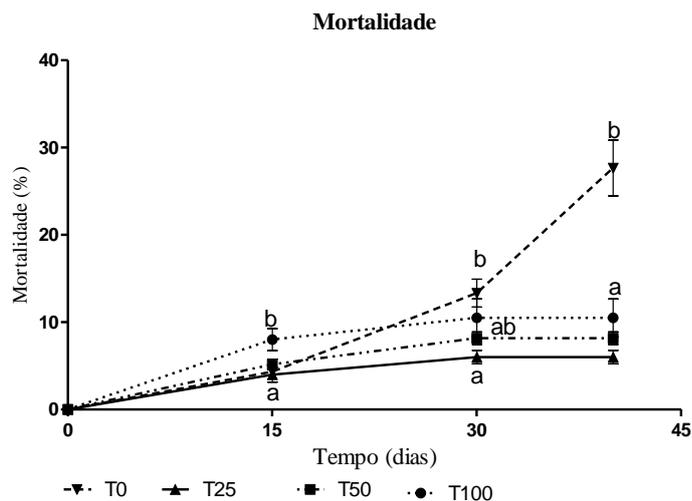


Figura 4 – Sobrevivência de tilápia *Oreochromis niloticus*, ao longo do cultivo o sob diferentes níveis de reutilização do meio em sistema super-intensivo com bioflocos. (Média \pm DP; ANOVA;Newman-Keuls; $P < 0,05$)

O início da criação com reutilização de meio de produção mínima T25 de floco promoveu aumento da sobrevivência, do ganho de peso, da conversão alimentar aparente, da taxa de eficiência proteica, do ganho de peso diário, da taxa de crescimento específico e da produtividade ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$), sem alterar o fator de condição dos peixes.

3.3. MICRORGANISMOS

Os microrganismos observados e avaliados no experimento foram flagelados, ciliados, amebóides e rotíferos Figura 5 (a, b, c, d, e, f). No tratamento T0 foi observado o grupo de ciliado *Suctorina* (Fig. 5d) durante todo o período experimental o que não ocorreu com os outros tratamentos. Para o grupo dos ameboides não houve diferença estatísticas entre os tratamentos e o tempo avaliado.

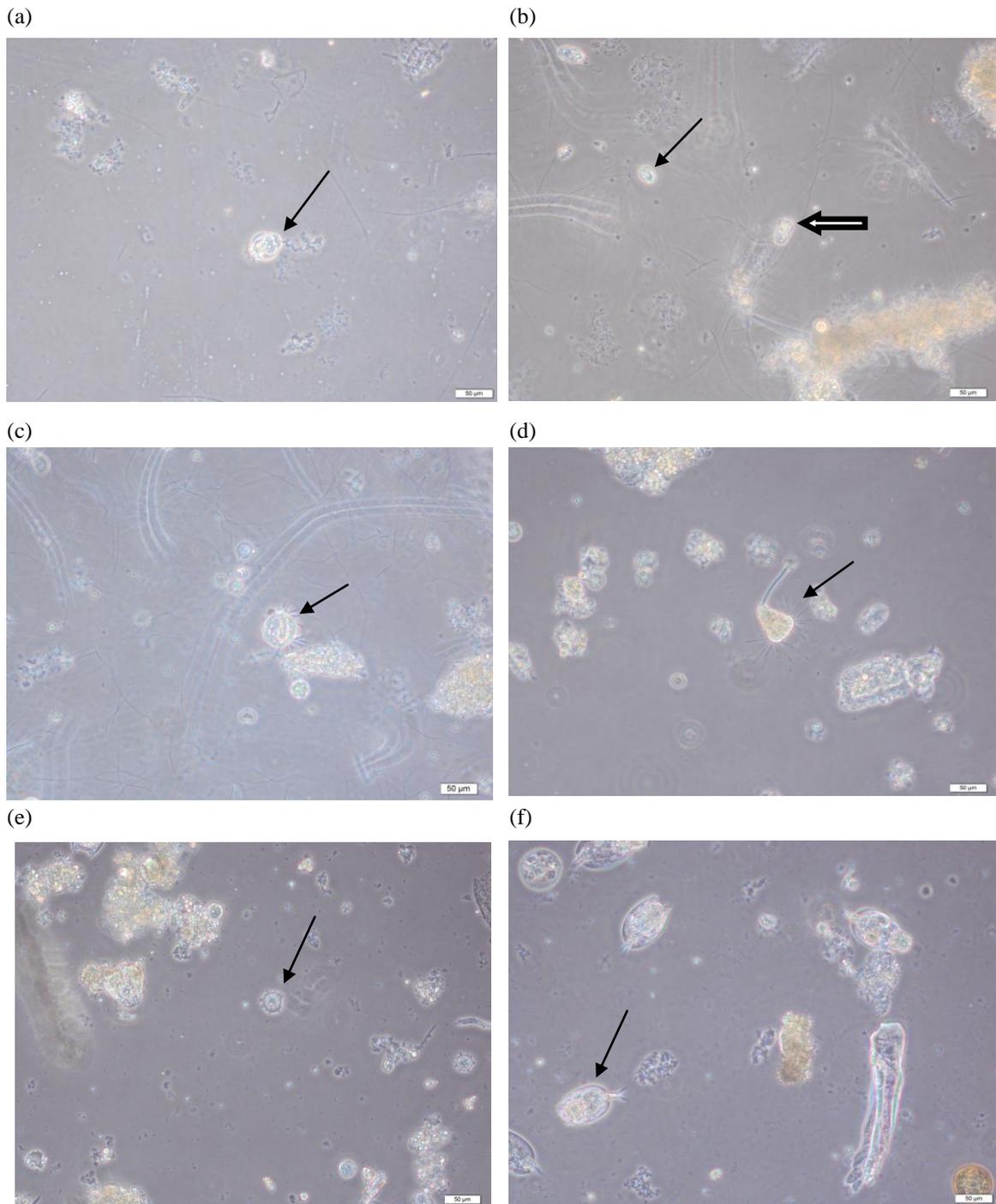


Figura 5: Foto ilustrando (a) Flagelado grande; (b) Flagelado médio(seta grande), flagelado pequeno (seta pequena); (c) Ciliado; (d) Ciliado *Suctorina*; (e) Ameboide e (f) em floco microbiano. Aumento de 400x.

Na figura 6 (a, b, c, d, e) estão demonstradas a concentração dos microrganismos em cada tratamentos durante o experimento.

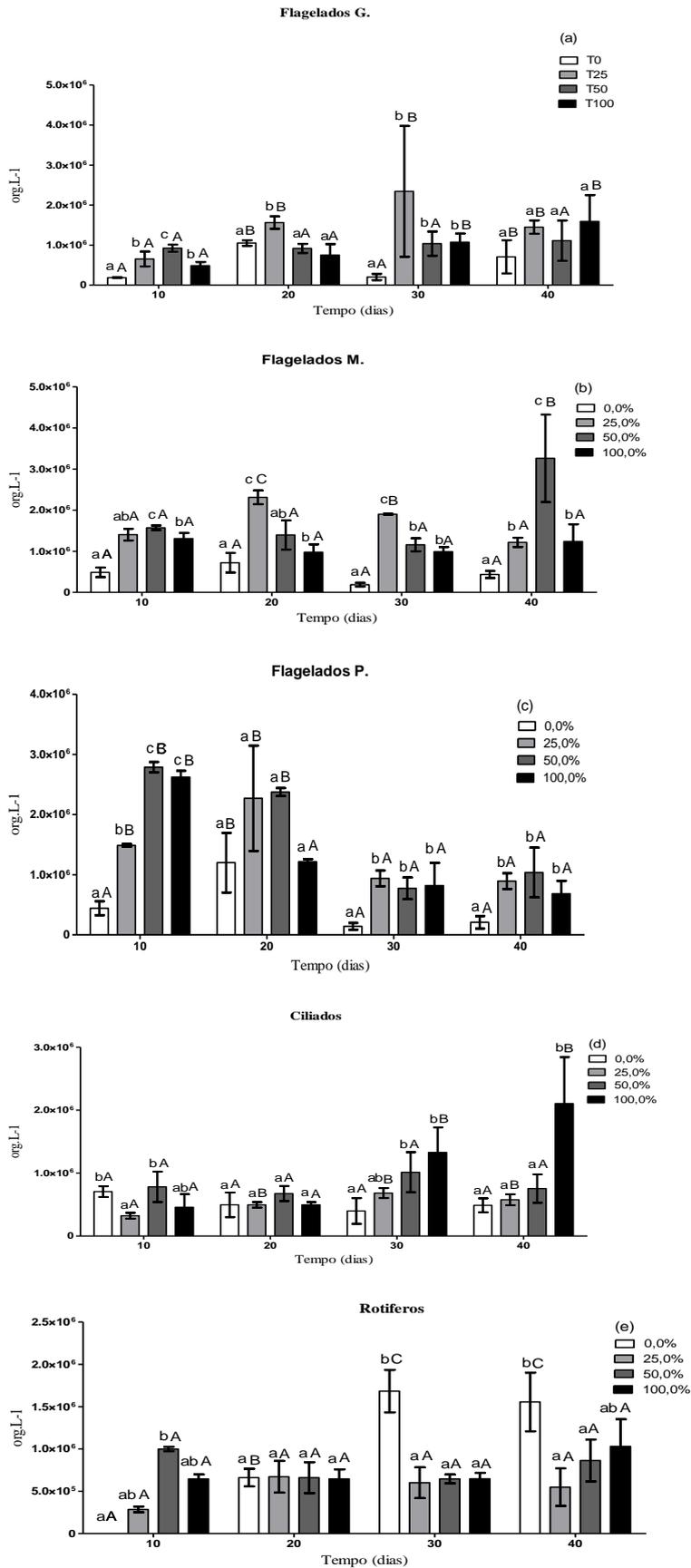


Figura 6: Densidade (org.L⁻¹) de microrganismos: (a) Flagelado grande; (b) Flagelado médio

(c)flagelado pequeno; (d) Ciliado e (e) Rotífero, presentes no biofoco dos tratamentos em estudo, nos tempos 10, 30 e 40 dias. Letras minúsculas diferentes representam entre os tratamentos no mesmo tempo e maiúsculas diferentes representam diferença significativa entre os tratamentos nos diferentes tempos (ANOVA; Newman-Keuls ; P<0,05).

A quantidade de flagelados, independentemente do tamanho, foi menor quando não houve reuso do meio, no entanto os Flagelados P foram mais abundantes no início do experimento enquanto os flagelados G foram mais numerosos a partir de 30 dias. Já os ciliados incrementaram sua densidade, a partir dos 30 dias quando a totalidade do meio foi reutilizada. Os rotíferos foram favorecidos pelo início da recria em água clara, porém foram mais abundantes somente a partir do 30º dia.

3.4. ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NAS BRÂNQUIAS

Na Tabela 6 são apresentas as médias seguidas do desvio padrão dos índices gerais de lesão (IG) nas brânquias dos peixes para os tratamentos T0, T25, T50 e T100 nos tempos 15, 30 e 40 dias.

Tabela 6 – Índices Geral de lesão (IG) apresentado nas brânquias de tilápia *Oreochromis niloticus* para os tratamentos T0, T25, T50 e T100 nos tempos 15, 30 e 40 dias em regime superintensivo com bioflocos (Média ± DP; ANOVA; Newman-Keuls ; P<0,05).

Parâmetros	T0	T25	T50	T100
IG 15 dias	9,8±0,9bA	4,0±0,3aA	3,4±0,2aA	12,2±0,7bA
IG 30 dias	19,5±0,3bB	10,8±0,7aB	10,3±0,4aB	12,0±1,0aA
IG 40 dias	27,5±0,8bC	13,7±0,7aC	14,7±0,7aC	15,2±0,3aB

Letras minúsculas diferentes na mesma linha e maiúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa.

Todos os tratamentos apresentaram algum tipo de alteração, contudo com grau de danificação diferente entre os mesmos, com aumento do grau de lesões ao longo do tempo. As principais lesões observadas e avaliadas neste estudo foram: descolamento do epitélio respiratório, telangiectasia lamelar, fusão de lamelas secundárias, atrofia em lamelas secundárias, hipertrofia do epitélio respiratório e hiperplasia do epitélio interlamelar.

A Fig. 7 (a, b, c, d, e, f) mostra alguns tipos de lesões encontradas nas brânquias dos peixes neste trabalho.

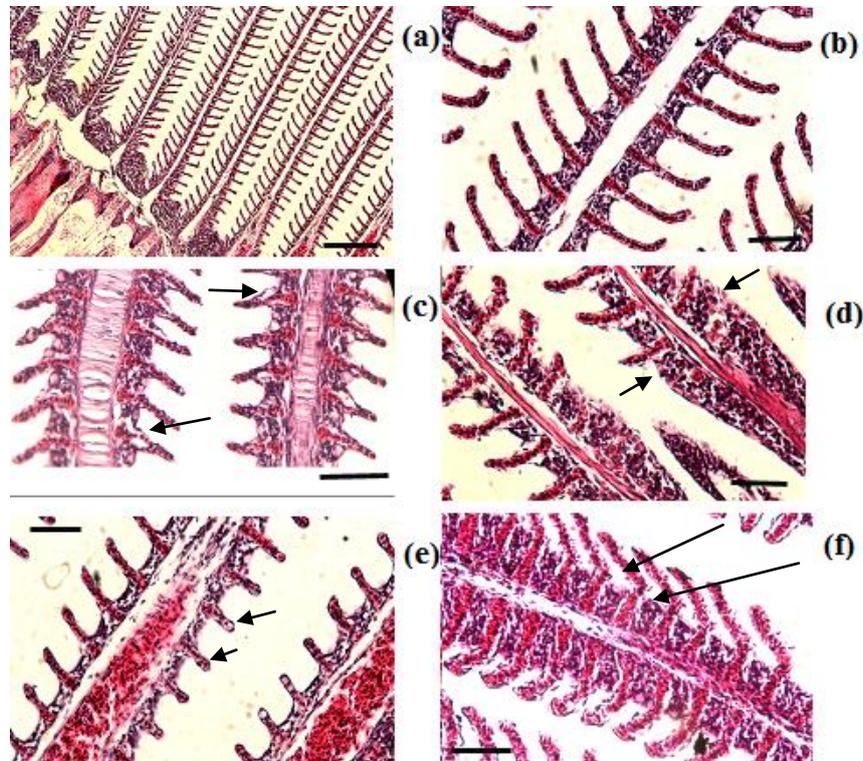


Figura 7: Foto ilustrando cortes histológicos de brânquias de tilápia do Nilo (a) Arco branquial normal T25 no Tempo (30 dias) – (100x); (b) Arco branquial normal T25 no tempo T (30 dias)- (400x); c) Descolamento do epitélio respiratório T0 no tempo (30 dias); (d) Fusão das lamelas secundárias T0 no tempo (30 dias); (e) atrofia de lamelas secundárias T0 no Tempo (30 dias) e (f) Hiperplasia das células intralamelares T0 no tempo (30 dias) em floco microbiano. Barras na fig. 7a = 100µ e 7(b,c,d,e,f) = 20µ

4. DISCUSSÃO

4.1. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA

A temperatura influencia diretamente na quantidade de oxigênio dissolvido na água e no metabolismo, tanto da comunidade microbiana quanto das espécies criadas (Boyd, 1998). No presente estudo as médias da temperatura ficaram em torno de 25°C para todos os tratamentos, estando de acordo com El-Sayed (2006) que determina como adequadas, para reprodução, crescimento e desenvolvimento de *O. niloticus*, temperaturas entre 25°C e 32°C não havendo portanto, evidências de que este parâmetro tenha sido prejudicial ao ganho de peso e a sobrevivência dos animais.

O melhor desempenho de crescimento da tilápia ocorre em níveis de oxigênio dissolvido superiores a $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (Popma & Lovshin, 1996). Neste trabalho as médias ficaram acima da reportada por estes autores em todos os tratamentos. Segundo Avnimelech (2011) o consumo de oxigênio em cultivo de tilápia em sistema BFT é bastante elevado, ocasionado pela respiração da biomassa de peixes, metabolismo dos resíduos orgânicos e pela comunidade microbiana. Acredita-se então, que o aumento na biomassa do sistema foi a causa da redução nas concentrações de OD no final do experimento.

O pH ideal para tilápias está entre de 6 e 8 (Ostrensky e Boeger, 1998). Neste estudo esse parâmetro tanto no período da manhã quanto a tarde ficou em torno de 7,5, portanto dentro da faixa ideal para a espécie. Segundo Ebeling *et al.* (2006) as bactérias heterotróficas, convertem com eficiência, nitrogênio amoniacal em biomassa microbiana. No entanto nos cultivos em sistema BFT esses organismos consomem alcalinidade e liberando dióxido de carbono que se acumula em sistemas sem renovação de água reduzindo os níveis de pH (Furtado *et al.*, 2011). Contudo as correções dessa variável com carbonato de cálcio durante o período experimental mostrou-se eficiente para garantir níveis ideais tanto para a tilápia quanto para a comunidade microbiana.

No presente estudo não houve diferença estatística nos níveis de alcalinidade entre os tratamentos, apresentando médias acima de 100 mg.L^{-1} dentro da faixa (100 mg.L^{-1} a 150 mg.L^{-1}) recomendada por Ebeling *et al.* (2006) para evitar flutuações de pH em sistema BFT. O parâmetro ficou estável no tratamento T0 e variou nos demais tratamentos. Este fato indica que o sistema de bioflocos perde a capacidade tampão sendo necessário a adição frequente de NaHCO_3 (Azim & Little, 2008). Apesar da ação da comunidade heterotrófica ter sido verificada pela dinâmica do nitrogênio nos tratamentos com reutilização do meio de produção, a estabilidade dos níveis de alcalinidade foi mantida através da adição bicarbonato de sódio como indicado por Furtado *et al.* (2011).

A amônia total (N-AT), nitrito (N- NO_2^-) e o nitrato (N- NO_3^-) devem ser monitorados em sistema produtivo de organismos aquáticos, pois em altas concentrações podem reduzir o crescimento e até causar mortalidade dos animais. O aumento das concentrações de compostos nitrogenados ocorreu em todos os tratamentos da pesquisa. O processo de nitrificação indicado pelo acúmulo de nitrato no sistema mostra a imobilização do nitrogênio pelas bactérias (Azim *et al.*, 2008), e foi observada em todos os tratamentos com reuso de água. O tratamento T0 apresentou a dinâmica do

nitrogênio característica do processo de formação do BFT, com elevadas taxas de amônia nas três primeiras semanas, seguido pelo acúmulo de nitrito e finalmente de nitrato ao decorrer do ensaio (Atwood *et al.*, 2001; Ebeling *et al.*, 2006).

O efeito tóxico da amônia varia de acordo com a fase de crescimento dos peixes (Chezhian *et al.*, 2012). Segundo Benli *et al.* (2005) a concentração letal para 50% da população em 48h (CL50_{48h}) em larva (0,0563 ± 0,0083 g) de *O. niloticus* é 1,007±1,01 mg.L⁻¹ e para alevinos (10,114 ± 0,045 g) é de 7,40±0,01 mg.L⁻¹ de amônia não ionizada (NH₃). Nos tratamentos com reusado meio de produção as concentrações de N-AT foram quase nulas, assim como anteriormente reportados por Samocha *et al.* (2010) em cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos. Já Azim e Little (2008), em experimento com *O. niloticus* em BFT com reutilização de 100% de água de cultivo anterior obtiveram resultados para concentração de N-AT acima de 8,0 mg.L⁻¹ contradizendo os resultados deste trabalho. O aumento nas concentrações de N-AT no tratamento T0 se deu devido à ausência de bactérias heterotróficas no início do período experimental. No entanto, o N-AT não atingiu concentrações letais para a espécie. Entretanto, após apontarem a tilápia como uma das espécies de maior tolerância a amônia Benli *et al.* (2008) demonstraram que a exposição às concentrações subletais de amônia total (N-AT) em 2 mg.L⁻¹ promove alterações histopatológicas nas brânquias, tais como fusão das lamelas secundárias, hipertrofia e hiperplasia das células de cloreto. Tais alterações incluindo aneurismas, foram observadas também no tratamento T0 no tempo (15 dias) provavelmente devido às concentrações de amônia atingidas nesse tratamento.

As concentrações médias de nitrito registradas no presente estudo foram inferiores a 5 mg.L⁻¹ para os tratamentos com reutilização de água, durante todo período experimental. Dados semelhantes foram encontrados por Azim & Little, 2008 e Krummenauer *et al.*, 2014 em experimento com reutilização de água no cultivo de *O. niloticus* e *L. vannamei*, respectivamente, em sistema BFT. O tratamento T0, apresentou valores superiores aos demais tratamentos, com médias acima de 25,0 mg.L⁻¹ e máximo de 88,0 mg.L⁻¹, com acúmulo principalmente a partir da terceira semana de experimento. Segundo Atwood *et al.* (2001) a concentração letal média (CL50_{96h}) de nitrito para juvenis de tilápia (4,4 ± 1,5g) é de 81 mg.L⁻¹ o que indica que as concentrações encontradas no tratamento T0 podem ter sido uma das causas do reduzido desempenho zootécnico e maior taxa de mortalidade dos peixes do tratamento sem reutilização de água, no presente estudo.

Quanto ao nitrato, produto final da nitrificação da amônia, este composto parece não ser um grande problema para os organismos aquáticos, porém, torna-se potencialmente tóxico em sistema BFT em que o acúmulo ocorre ao longo do cultivo podendo causar efeitos letais ou sub-letais em diferentes organismos (Poersch *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2011), além disso esse nutriente se lançado ao meio ambiente pode contribuir com a eutrofização das águas adjacentes. Para *O. niloticus* a toxicidade do nitrato pode ocorrer quando os níveis excederem 300 a 400 mg. L⁻¹ em sistemas com reutilização de água (DeLong *et al.*, 2009). As concentrações de nitrato aumentaram gradualmente ao longo do experimento entretanto não atingiram níveis prejudiciais à espécie e indicando a possibilidade de reutilização do efluente.

De acordo com Barak *et al.* (2003) em torno de 80% a 90% do fosfato fornecido através da ração tende a acumular em sistemas de produção fechado sem renovação de água. Uma pequena fração do fósforo que entra no sistema aquático via ração é retido pela biomassa dos peixes (Cyrino *et al.*, 2010), outra parte pela biomassa bacteriana e o restante se acumula no sistema causando deterioração da qualidade da água e prejuízos econômicos. Portanto apesar de não afetar diretamente o desenvolvimento da tilápia, o aumento da concentração deste composto pode causar a eutrofização do ambiente de cultivo. Nesta pesquisa os níveis de ortofosfato aumentaram em função do tempo e da reutilização de água nos tratamentos. Este acúmulo pode ter sido influenciado pela decomposição da matéria orgânica provenientes das sobras de ração e da excreção dos animais resultando na liberação de compostos fosfatados. Tais resultados estão em desacordo com Luo *et al.* (2014) que encontraram concentrações de fosfato inferiores a 5 mg.L⁻¹ ao final de 87 dias de experimento com tilápia em bioflocos demonstrando a possível assimilação do fósforo pela comunidade microbiana, fato que não aconteceu no presente estudo provavelmente em decorrência do tempo de duração do experimento.

Os sólidos em suspensão mostraram-se prejudiciais em T100 no início do experimento, mostrando que alevinos de *O. niloticus* na condição testada sejam sensíveis a elevadas concentrações de SST. Isto sugere que para a reutilização total do efluente para um próximo ciclo de recria o manejo de remoção dos sólidos se faz necessário como indica (Gaona *et al.*, 2011). Para T50 este manejo se fez necessário somente na última semana do experimento. Nos demais tratamentos não houve necessidade de remoção de sólidos, este fato também demonstra a viabilidade do reaproveitamento da água.

4.2. PARÂMETROS DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

A mortalidade e o menor ganho de peso observados no tratamento T0, no final do experimento, provavelmente foi decorrente das altas concentrações de nitrito que se acumulou até o final do experimento fato que não ocorreu nos demais tratamentos.

A alimentação representa a maior parte no custo de produção de juvenis de tilápia (Marengoni, 2006; Ayrosa *et al.*, 2011). O floco microbiano pode ser utilizado como fonte de alimento suplementar diminuindo a taxa de conversão alimentar (Burford *et al.*, 2004; Samocha *et al.*, 2007; Azim & Little, 2008) e conseqüentemente os custos de produção. Neste estudo, a taxa de conversão alimentar apresentada para os tratamentos com reutilização de água pode ser atribuída aos melhores índices de qualidade de água juntamente com o consumo dos flocos microbianos pelas tilápias. Segundo Avnimelech (2009), no sistema BFT, a proteína fornecida na alimentação é ingerida duas vezes pelos peixes, na alimentação e através dos microrganismos presentes no meio. Sendo assim a utilização da proteína aumenta de 15-25% em sistemas convencionais para 45% no BFT devido à reciclagem de proteína através da comunidade microbiana (Avnimelech, 1999). Este mesmo autor, em vários estudos com uso de bioflocos como alimento para tilápias comprovou a eficiência da utilização da proteína microbiana, prontamente disponível no meio de produção (Avnimelech, 2005, 2007, 2011). Este fato provavelmente possibilitou as melhores taxas de eficiência proteica e crescimento diário nos tratamentos com reutilização no presente trabalho.

4.3. MICRORGANISMOS

O uso do biofloco como fonte de alimento prontamente disponível para tilápias pode levar a redução da proteína das rações convencionais, diminuir a quantidade de alimento fornecido e conseqüentemente baixar a taxa de conversão alimentar e o custo de produção (Avnimelech, 2011, Azim & Little, 2008). Os flocos microbianos são compostos principalmente por bactérias, cianobactérias, algas, protozoários, rotíferos, formas larvais de invertebrados, fezes e restos de organismos mortos que podem servir como alimentação complementar.

O grupo mais abundante encontrado nesse estudo foram os protozoários, principalmente flagelados e ciliados e, também rotíferos. Azim & Little (2008) também encontraram estes mesmos microrganismos em prevalência em relação aos demais grupos em experimento com tilápia. Estes microrganismos são importante fonte de

proteínas, vitaminas e lipídios para os organismos aquáticos cultivados (Loureiro *et al.*, 2012). A abundância desses microrganismos nos tratamentos com BFT provavelmente contribuíram para um maior crescimento e uma melhor taxa de conversão alimentar dos animais em relação ao tratamento T0 no presente estudo.

A dinâmica da população de flagelados pequenos

A evolução populacional de rotíferos em T0 mostra que não houve pressão predatória dos peixes sobre esses microrganismos, o que indica que os danos branquiais causados pelos nitrogenados podem ter reduzido a capacidade filtradora dos animais nesse tratamento.

No tratamento T0 ocorreu um grupo de ciliado *Suctorina* que não foi observado nos outros tratamentos. Estes microrganismos possuem tentáculos rígidos que são utilizados para capturar presas sendo considerado um predador que se alimenta inclusive de outros ciliados. Esta classe de ciliados também foi observada em cultivos intensivos de camarões em sistema BFT (Decamp *et al.*, 2007). Provavelmente estes microrganismos entraram no sistema através dos peixes sendo inibidos nos tratamentos com reuso de água pela comunidade microbiana presente no floco.

4.4. HISTOPALOGIA DAS BRÂNQUIAS

A brânquia é o principal órgão respiratório e de osmorregulação da maioria dos animais aquáticos e estão em contato amplo e direto com o meio. Este contato a torna extremamente susceptível a danos causados por contaminantes químicos, físicos ou biológicos presentes no ambiente (Hatem *et al.*, 2013). A intensidade de tais danos depende da concentração de tóxicos presentes na água e geram lesões nas brânquias que podem ser classificadas através de um índice geral de lesão (IG), assim, quanto maior o valor de IG maior será o grau de danos nas brânquias dos peixes analisados (Bernet *et al.* 1999). Dependendo do índice, as lesões nas brânquias podem danificar não somente o órgão inteiro, mas também o sistema ou até mesmo todo o corpo do animal causando menor crescimento e até mortalidade dos animais expostos aos contaminantes.

No presente estudo o IG aumentou progressivamente em todos os tratamentos com maior índice para o tratamento T100 nos primeiros 15 dias do experimento com fusão de algumas lamelas secundárias, pequenos edemas e telangiectasia. Essas lesões ocorreram, provavelmente, devido ao excesso de SST, em relação aos outros tratamentos, o que pode ter sido a causa da maior taxa de mortalidade neste tratamento no referido período.

Dados de Azim & Little (2008) não corroboram com este estudo, pois em experimento com tilápia (80 a 120 g) não encontraram evidências de que as densidades dos sólidos suspensos teriam causado danos potenciais às brânquias dos peixes. Porém Hatem *et al.* (2013), em experimento com tilápia com aproximadamente 33g, encontraram lesões nas brânquias e piores índices zootécnicos para tratamentos com altos volumes de sólidos e recomendam como máximas concentrações de SST entre 220 a 250 mg.L⁻¹. Os níveis excessivos de SST não são favoráveis, uma vez que contribuem para o consumo de oxigênio e em níveis muito elevados pode colmatar as brânquias dos peixes (Crab *et al.*, 2007; Avnimelech, 2011). sugerindo que a fragilidade seja devido ao tamanho dos alevinos no início do nosso experimento (peso médio de 3,79g) indicando que, para peixes mais jovens os efeitos causados pelos danos nas brânquias através do excesso de SST sejam mais severos.

No tratamento com T0 de reutilização foram observadas diversas lesões tais como descolamento do epitélio respiratório, hiperplasia das células no espaço interlamelar, atrofia de lamelas secundárias, fusão nas lamelas secundárias e telangiectasia. Baskar (2014) observou em experimento com *Cirrhinus mrigala* exposto a uma concentração subletal de nitrito, por 28 dias, dados semelhantes que corroboram com as lesões observadas neste estudo. Tais lesões foram encontradas durante todo período experimental com aumento do IG diretamente proporcional ao aumento das concentrações de nitrito no meio experimental. Bernet *et al.* (1999) observaram em suas pesquisas que estas lesões causam redução do espaço entre as lamelas secundárias impedindo o fluxo de água na superfície da brânquia, causando estresse respiratório nos peixes. Já para Velasco-Santamaria & Cruz-Casallas, (2008) as alterações de elevação epitelial, hiperplasia e hipertrofia das células epiteliais, fusão parcial de lamelas secundárias são exemplos de mecanismos de defesa dos peixes contra os agentes agressores encontrados no meio. Frances *et al.*(1998) avaliando o crescimento de *Bidyanus bidyanus* em diferentes concentrações de nitrito não encontrou dados que comprovassem mortalidade nas condições de estudo, mas o crescimento dos peixes foi afetado por efeitos secundários causados por este composto.

O IG elevado encontrado no tratamento T0 nos permite concluir que as concentrações dos resíduos nitrogenados, especialmente a amônia no início do experimento e nitrito no final, tenham sido responsáveis pelas lesões branquiais e maior taxa de mortalidade dos animais neste tratamento, já que as concentrações de sólidos em suspensão neste foram inferiores aos demais tratamentos.

5. CONCLUSÃO

A reutilização do meio de produção de cultivo prévio de tilápia, a partir de 25%, em recria confirmou a eficiência do bioflocos já formado na manutenção de níveis de amônia e nitrito próximos a zero durante o período experimental. Entretanto, o alto índice de sólidos em suspensão presente na água em T100 mostrou-se prejudicial aos animais no início do experimento, sendo assim conclui-se que a reutilização do meio de produção, com o controle dos sólidos suspensos, é altamente viável não só para manter a qualidade da água e reciclar os nutrientes, mas principalmente para reduzir a emissão de efluentes e o consumo de água, uma vez que a reutilização de 100 % do meio de produção, com a ressalva dos sólidos, mostrou eficiência na recria de tilápia nas condições do experimento.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pelo auxílio financeiro durante o mestrado, ao CNPq, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Estação de Piscicultura da Barragem do Chasqueiro (UFPel), ao Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos (FURG), a Estação Marinha de Aquicultura – EMA (FURG).

REFERÊNCIAS

- Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. Manuel des analyses critiques en milieu marine, Brest. C.N.E.X.O. 395p.
- Apha. 1998. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20st edition. Washington, D.C. 1193p.
- Atwood, H.L., Fontenot, Q.C., Tomasso, Jr., Jisely, J., 2001. Toxicity of nitrite to Nile tilapia: effect of fish size and environmental chloride. N. Am. J. Aquacult. 63(1), 49-51.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture. 176, 227-235.
- Avnimelech Y., 2005. Tilapia harvest microbial flocs in active suspension research ond. Global Aquaculture Advocate.
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture. 264,140-147.
- Avnimelech, Y., 2011. Tilapia production using biofloc technology saving water, waste recycling improves economics. Global Aquacult. Advocate. 166-168.
- Avnimelech, Y., Kochva, M., Diab, S., 1994. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. Isr. J. Aquacult./Bamidgeh. 46, 119-131.
- Avnimelech, Y., Kochva, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. Aquaculture, 287, 163–168.
- Ayroza, L. M. S.; Scorvo Filho, J. D.; Romagosa, E.; Ayroza, D. M. M. R.; Sales, F. A. 2011. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-Nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. Revista Brasileira de Zootecnia. 40(2), 231-239.
- Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 283, 29-35.
- Barak, Y., Cytryn, E., Gelfand, I., Krom, M., Van Rijn, J., 2003. Phosphorus removal in a prototype recirculating aquaculture system. Aquaculture, 220, 313-326.
- Baskar, T., 2014. Impact of nitrite toxicity on histopathological profile to freshwater fish, *Cirrhinus Mrigala*. The Int. J. of Engineering and Science (IJES). 3(4), 42-47.

- Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* 11, 87–96.
- Benli, A.C.K., Köksal, G., 2005. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*O. niloticus* L.) larvae and fingerlings. *T. J. Vet. Animal Sci.* 29, 339–344
- Benli, A.C.k., Köksal, G., Ayhan, Ö., 2008. Sub lethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere.* 72, 1355-1358.
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases.* 22, 25-34.
- Boyd, C.E., 1998. Pond water aeration systems. *Aquacult. Eng.* 18, 9-40.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman R.H., Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture.* 232, 525-537.
- Chezian, A., Senthamilselva, D., Kabilan, N., 2012. Histological changes induced by ammonia and pH on the gills of fresh water fish *Cyprinus carpio* var *commisus* (Linnaeus). *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7 (7), 588-596.
- Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A.B., Sado, R.Y., Borghesi, R., Jony Koji Dairiki, J.K., 2010. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *R. Bras. Zootec.* 39, 68-87
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Nitrogen removal in aquaculture towards sustainable production. *Aquaculture.* 270(1-4), 1-14.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., Avnimelech, Y., 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering.* 40, 105-112.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010a. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research.* 41, 559–567.
- Decamp, O.E, Conquest, L., Cody, J., Forster, I., 2007. Effect of shrimp stocking density on size-fractionated phytoplankton and ecological groups of ciliated protozoa within zero-water exchange shrimp culture systems. *J. World Aquac. Soc.,* 38, 395-406.

- DeLong, D.P., Losordo, T.M., Rakocy, J.E., 2009. Tank Culture of Tilapia. SRAC Publication No. 282.
- Eaton, A.D, Cleserci, L.S, Greenberg, A.E., 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 10th edition. Amer. Public. Health
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*. 257, 346-358.
- EL-Sayed, A-F.M., 2006. Tilapia culture, CABI Publishing. Oxfordshire, U.K., 277 pp.
- FAO., 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture, Editorial Group. FAO Information Division. Roma, Italia. 1 -223p
- Frances, J., Geoff, A.L., Nowak, B.F.,1998. The effects of nitrite on the short-term growth of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*. 163, 63-72.
- Furtado, P., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*. 321, 130-135.
- Gaona, C.A.P, Poersch, L.H.D., Krummenauer, D., Foes G.K., Wasielesky Jr., W., 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *Int. J. Recir. Aquacult.* 12, 54-73.
- Hatem, M.H., Abdelhay Y.B., Alayafi A.H., Suloma A., 2013. Application of new strategies to reduce suspended solids in zero-exchange system: I. Histological alterations in the gills of Nile tilapia. *J. Appl. Sci. Res.* 9(2), 1186-1192.
- Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara G., Wasielesky Jr. W., 2014. The reuse of water on the culture of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. *J. of the World Aquaculture Society.* 45 (1), 3-14.
- Loureiro, C. K., Wasielesky, W. Jr, Abreu, P. C., 2012. The use of Protozoan, Rotifers and Nematodes as live food for Shrimp raised In BFT System. *Atlântica, Rio Grande.* 34(1), 5-12.
- Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H., 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 422–423, 1–7.

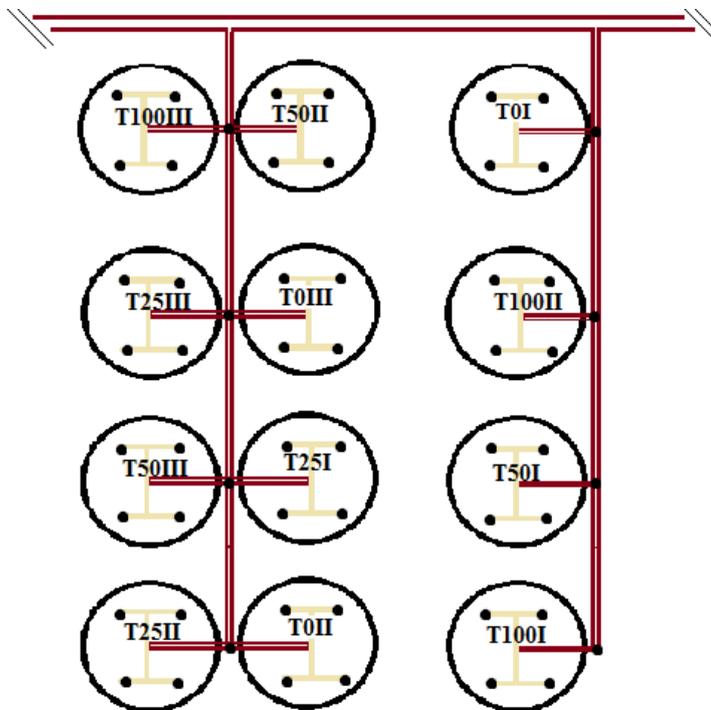
- Marengoni, N. G. 2006. Produção de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archivos de Zootecnia, Córdoba*. 55 (210), 127- 138.
- McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., McKee, D.A., Horowitz, S., Horowitz, A., 2000. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet in outdoor tank system and no water exchange. *Aquacult. Eng.* 21, 215-227.
- Okamura, D., Araújo, F.G., Logato, P.V. R., Freitas, R.T.F., Murgas, L.D.S., César, M.P., 2010. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39, 971-976.
- Ostrensky, A.; Boeger, W., 1998. *Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo*, Guaíba: Agropecuária.
- Poersch, L.H, Santos, M.H.S., Miranda, K.F., Wasielesky, W., 2007. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Bol Inst Pesca Sao Paulo*. 33(2), 247-252.
- Popma, T.J., Lovshin L.L., 1996. Worldwide prospects for commercial production of tilapia. Alabama, International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. 1-42.
- Rodrigues, V.R., Schwarz, M.H., Delbos, B.C., Carvalho, E.L., Romano, L.A., Sampaio, L.A., 2011. Acute exposure of juvenile cobia *Rachycentron canadum* to nitrate induces gill, esophageal and brain damage. *Aquaculture*. 322-323, 223-226.
- Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A.M., Burger, J.M., Almeida, R.V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A., Brook, D.L., 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Eng.* 36, 184-191.
- Samocha, T.M., Wilkenfeld, J.S., Morris, T.C., Correia, E.S., Hanson, T., 2010. Intensive raceways without water exchange analyzed for White shrimp culture. *Glob. Aquac. Advoc.* 13, 22-24.
- Samocha, T.M., Schweitzer, R., Krummenauer, D., Morris, T.C., Woodring, S., 2012. Recent Advances In Super-intensive Raceway Systems for Production of Marketable-Size *Litopenaeus vannamei* Under No Water Exchange. The Practical. *Asian Aquaculture Network, Thailand*. 2(8), 20-23

- Serra, F.P., Gaona, C.A.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr. W., 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Int.* DOI 10.1007/s10499-015-9887-6.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1969. *Biometry. Principle and practices of statistics in biological research.* W. H. Freeman & Co. 776p.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. *A practical handbook of seawater analysis.* Ottawa, Fishery Research Board Canada. 310p.
- UNESCO, 1983. *Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission.* Paris, France.
- Velasco-Santamaria, Y.M., Cruz-Casallas, P.E., 2008. Behavioural and gill histopathological effects of acute exposure to sodium chloride in moneta (*Metynnis orinocensis*). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 25, 365-372.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A, Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero Exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 258, 396-408.
- Widanarni, J., kasari, E., Maryam, S., 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. Cultured at Different Stocking Densities. *Hayati J. Biosci.*, 19, 73-80.

ANEXO I: Laboratório de Piscicultura Barragem do Chasqueiro - UFPel



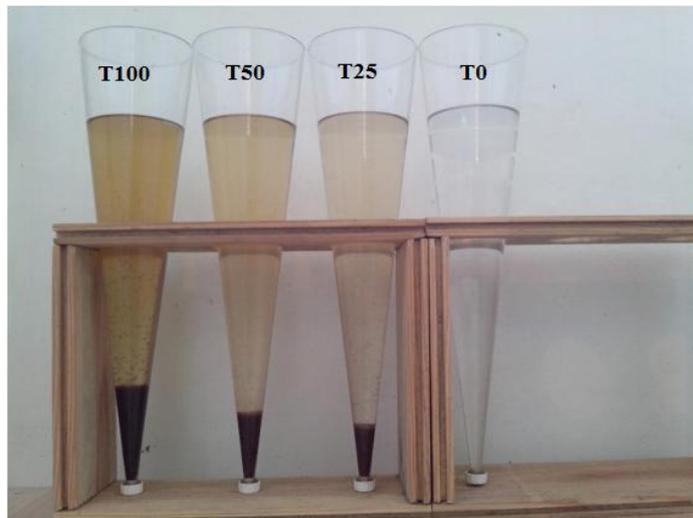
ANEXO II: Croqui das unidades experimentais



ANEXO III: Sala experimental



Aclimação dos alevinos



Meio de produção
Tempo 0 (zero)



ANEXO IV: Análise da Qualidade da água



Oxigênio



pH



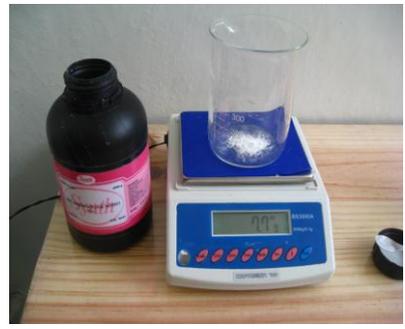
Preparação de reta padrão para amônia



Análise de Amônia e Nitrito



Análises de Alcalinidade



Correção de alcalinidade com bicarbonato de sódio



Análise de nitrato



ANEXO V: Biometria



ANEXO VI: Histologia



Corte da brânquia



Processador



Confecção dos blocos



Blocos



Corte histológico e confecção das lâminas