

**MARCELE TRAJANO DE ARAÚJO**

**Cultivo intensivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* suplementado com  
microalga *Chlorella vulgaris* em sistema de bioflocos**

**Recife,  
Fevereiro/2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA**

**Cultivo intensivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* suplementado com  
microalga *Chlorella vulgaris* em sistema de bioflocos**

**Marcele Trajano de Araújo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

**Prof. Dr. Eudes de Souza Correia**

Orientador

**Prof. Dr. Alfredo Olivera Galvez**

Co-Orientador

**Recife,**  
**Fevereiro/2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A663c Araújo, Marcele Trajano de  
Cultivo intensivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*  
suplementado com microalga *Chlorella vulgaris* em sistema de  
bioflocos / Marcele Trajano de Araújo. – 2018.  
41 f. : il.

Orientador: Eudes de Souza Correia.  
Coorientador: Alfredo Olivera Gálvez.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e  
Aquicultura, Recife, BR-PE, 2018.  
Inclui referências.

1. Alevinagem 2. Sistema de bioflocos 3. Alimento vivo  
4. Fitoplâncton 5. Índices hematológicos I. de Souza Correia,  
Eudes, orient. II. Olivera Gálvez, Alfredo, coorient. III. Título

CDD 639

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA**

**Cultivo intensivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* suplementado com  
microalga *Chlorella vulgaris* em sistema de bioflocos**

**Marcele Trajano de Araújo**

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 26/02/2018 pela seguinte Banca Examinadora.

---

**Prof. Dr. Eudes de Souza Correia - Orientador**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Profa. Dra. Juliana Ferreira dos Santos – Membro Externo**

Unidade Acadêmica de Serra Talhada  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Prof. Dr. Luis Otávio Brito da Silva – Membro Interno**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho aos meus pais: Jarson e Marluce, que com tanto zelo, cuidado e amor me educaram.*

## **Agradecimentos**

Agradeço, em primeiro lugar, ao criador de todas as coisas, dono de toda ciência, sabedoria e poder, que sem Ele, nada do que existe teria sido feito. A Deus toda honra e louvor, sempre.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial ao Departamento de Pesca e Aquicultura e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, em nome de todos os professores, que contribuíram para a minha formação durante esse período, bem como os funcionários, pela alegria, acolhimento e disposição em sempre ajudar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida durante o período de curso e financiamento das pesquisas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eudes de Souza Correia, pela paciência, dedicação e ensinamentos. A Ítalo Braga, pessoa imprescindível para a realização desse estudo, pela paciência, disponibilidade em sempre ajudar e dividir escalas de finais de semana e feriados. À Fabiana Penalva, Felipe Antônio, Gabriela Padilha, Jaqueline Moura e Santiago Vega, que formavam a equipe do Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAQ) pelos momentos de conversas científicas, ajuda nos trabalhos e excelente convivência.

Ao Professor Alfredo Olivera Galvez, Orientador de Graduação e Co-Orientador no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura (PPG-RPAQ) e ao Laboratório de Produção de Alimento Vivo (LAPAVI), especialmente Jéssika Abreu pela colaboração durante o período de trabalho e amizade desde a época da graduação. Às minhas companheiras de turma do Mestrado Bárbara Brandão, Clarissa Vilela, Elizabeth Santos e Renata Farias pela amizade e momentos de confraternização.

À minha família, meu bem mais precioso, em especial a meus pais Jarson Araújo e Marluce Trajano por sempre se fazerem presentes e serem meu porto seguro, por toda dedicação e força dadas a mim, além de todo o esforço que fizeram para me educar. A Diogo Phillip pelo amor, apoio e toda paciência, sempre.

E a todos que, de alguma forma, cooperaram para a realização deste trabalho e que se fizeram presentes durante este período da minha vida.

## Resumo

O sistema de bioflocos tem apresentado avanços em relação a aquicultura tradicional, principalmente, devido à redução na quantidade de água necessária para o cultivo e produção de alimento suplementar rico em proteína, porém deficiente em relação à disponibilidade de lipídeos. Portanto, a adição de outros microrganismos, como a microalga *Chlorella vulgaris*, que é constituída principalmente por lipídeos, proteína e carboidratos, pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade nutricional desta suplementação. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho da tilápia do Nilo, cultivada em bioflocos, na fase de alevinagem, utilizando diferentes densidades de inoculação de *C. vulgaris*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, envolvendo o cultivo em bioflocos (C:N 6:1) e quatro densidades de *C. vulgaris* (0; 2,5; 5 e  $10 \times 10^4$  cel/mL), com quatro repetições. O trabalho teve duração de 63 dias, sendo realizado em caixas de polipropileno (40L de volume útil), com densidade de estocagem de 250 alevinos/m<sup>3</sup> e peso médio inicial de  $1,86 \pm 0,08$ g. A temperatura, pH e oxigênio dissolvido, assim como nitrogênio da amônia total e nitrogênio do nitrito não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), estando dentro da faixa de conforto para o cultivo da espécie. As variáveis de desempenho zootécnico não foram influenciadas pelas diferentes densidades de inoculação da microalga ( $P > 0,05$ ). Os animais apresentaram peso médio final de aproximadamente 21g entre os tratamentos e taxas de sobrevivências superiores a 80%, portanto para estas densidades de inoculação da microalga, em frequência semanal, não houve influência no crescimento dos alevinos ( $P > 0,05$ ). A avaliação do bem-estar animal foi realizada mediante a contagem dos eritrócitos e determinação do volume globular e volume corpuscular médio (VCM), sendo encontradas diferenças significativas entre os tratamentos estudados para os resultados da contagem de eritrócitos e VCM ( $P > 0,05$ ). Os resultados encontrados demonstraram que o tratamento com inoculação da microalga a uma densidade de  $10 \times 10^4$  cel/mL apresentaram-se dentro do padrão estabelecido como saudável, entretanto os demais tratamentos apresentaram-se fora destes níveis. Então, com a inoculação da microalga em maior densidade, apesar de não ter alterado o desempenho zootécnico, os indivíduos apresentaram condição mais saudável.

**Palavras-chave:** Alevinagem; sistema de bioflocos; alimento vivo; fitoplâncton; índices hematológicos.

## Abstract

The biofloc system has shown advances regarding to traditional aquaculture, mainly due to the reduction in the volume of water required for the cultivation and production of supplemental food rich in protein, but deficient in relation to the availability of lipids. Therefore, the addition of other microorganisms, such as the microalgae *Chlorella vulgaris*, which consists mainly of lipids, protein and carbohydrates, may be an alternative to improve the nutritional quality of this supplementation. The objective of this work was to evaluate the performance of Nile tilapia, cultivated in bioflocs, during the rearing phase, using different inoculation densities of *C. vulgaris*. The experimental design was completely randomized, involving the cultivation in bioflocs (C: N 6: 1) and four densities of *C. vulgaris* (0; 2,5; 5 and  $10 \times 10^4$  cel / mL), with four replications. The work had a duration of 63 days and was carried out in polypropylene boxes (40L of useful volume), with storage density of 250 fingerlings / m<sup>3</sup> and initial weight of  $1.86 \pm 0.08$ g. The temperature, pH and dissolved oxygen, as well as nitrogen of total ammonia and nitrogen of the nitrite did not show a significant difference between the treatments ( $P > 0.05$ ), being within the comfort range for the cultivation of the species. The variables of zootechnical performance were not influenced by the different inoculation densities of the microalgae ( $P > 0.05$ ). The animals had a mean final weight of approximately 21g between treatments and survival rates higher than 80%. Therefore, for these microalgae inoculation densities, at weekly frequency, there was no influence on the growth of the fingerlings ( $P > 0.05$ ). The evaluation of animal welfare was performed by counting the erythrocytes and determining the globular volume and mean corpuscular volume (MCV). Significant differences were found between the treatments studied for the erythrocyte count and MCV ( $P > 0.05$ ). The results showed that the treatment with inoculation of the microalgae at a density of  $10 \times 10^4$  cel / mL were within the standard established as healthy, however the other treatments were out of these levels. Therefore, with the inoculation of the microalgae in higher density, although it did not alter the zootechnical performance, the individuals had a healthier condition.

**Key words: Fingerlings growth; biofloc system; living food; phytoplankton; hematological index.**



## Lista de Figuras

	Página
Figura 1. Variação dos compostos nitrogenados (A- nitrogênio da amônia total, B- nitrogênio do nitrito, C- nitrato) e do ortofosfato (D) durante o período de cultivo de <i>O. niloticus</i> em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de <i>Chlorella vulgaris</i> .	8
Figura 2. Variação dos sólidos sedimentáveis (A) e sólidos suspensos totais (B) durante o período de cultivo de <i>O. niloticus</i> em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de <i>Chlorella vulgaris</i> .	9

## Lista de Tabelas

	Página
Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis físico-químicas de qualidade da água do cultivo de <i>O. niloticus</i> em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de <i>Chlorella vulgaris</i> .	9
Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico no cultivo de <i>O. niloticus</i> em bioflocos com diferentes densidades de inoculação da <i>Chlorella vulgaris</i> .	10
Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis hematológicas de <i>O. niloticus</i> cultivada em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de <i>Chlorella vulgaris</i> .	11

## Sumário

	Página
Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	x
1- Introdução	xii
2- Título do Artigo Científico	xvi
3- Considerações finais	xvii
4- Referências	xviii

## 1- Introdução

A aquicultura é uma atividade que tem se desenvolvido fortemente a nível global, devido principalmente à alta necessidade de alimento e proteína de origem animal dada pelo aumento da população e a estabilização da captura dos estoques pesqueiros. No início dessa atividade, em 1950, foi produzido menos de um milhão de toneladas de pescado, entretanto houve um aumento da produção oriunda da aquicultura, atingindo 73,8 milhões de toneladas em 2014. A aquicultura é uma atividade essencial na economia mundial, pois gera empregos e renda, além de promover a subsistência de milhares de pessoas no mundo. Neste cenário aquícola podemos destacar a piscicultura de águas interiores, responsável pela produção de 43,5 milhões de toneladas no ano de 2014 (FAO, 2016).

Em relação a produção de peixes no Brasil, esta é estritamente continental, destacando-se a espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na qual entre os anos 2013 e 2015 obteve o incremento de produção de 29%. Em 2016, atingiu uma produção de aproximadamente 239 mil toneladas, contribuindo assim com 40,3% da produção aquícola nacional e gerando impacto na economia de aproximadamente R\$ 1.335 milhões, representando 29,0% do valor total de produção aquícola (IBGE, 2017).

A forte presença da tilápia do Nilo (*O. niloticus*) na aquicultura nacional está possivelmente relacionada às características que esta espécie apresenta, tais como: ampla resistência à mudança de fatores ambientais (temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido), menor susceptibilidade a doenças, possibilidade de estocagem com altas densidades; rápido crescimento, com ciclo de engorda relativamente curto; e alta taxa de fecundidade, com desovas ao longo de todo ano, sob condições adequadas e precocidade sexual; capacidade de aproveitamento do alimento natural e seu consolidado pacote tecnológico, além de apresentar carne saborosa e saudável, com baixo teor de gordura (cerca de 0,9g/100g de carne) (DEY et al., 2000; EL-SAYED, 2006; LUCHINI, 2006; NOGUEIRA, 2008; COSTA e FRÓES, 2012).

Esta espécie apresenta um hábito alimentar onívoro, ingerindo grande variação de alimentos, além de hábito filtrador, aproveitando-se do fitoplâncton, partículas e detritos em suspensão na coluna de água (DEMPSTER et al., 1995; AZIM et al., 2003). Este, dependendo da sua composição nutricional pode influenciar positivamente no desempenho zootécnico dos peixes (COSTA e FRÓES, 2012). Em virtude de tais particularidades, a tilápia do Nilo demonstra possibilidade de ser produzida em sistema super-intensivo, como a tecnologia de bioflocos, pois

estes sistemas apresentam grandes quantidades de alimento natural (AZIM e LITTLE, 2008; AVNIMELECH, 2009; SAMOCHA et al., 2017).

O sistema de cultivo em bioflocos vem sendo amplamente estudado, devido a seus benefícios em relação ao sistema de cultivo tradicional, principalmente pela possibilidade da reutilização da água do cultivo em diversos ciclos de produção (HARGREAVES, 2013). Nesta conjuntura, este sistema surge como uma alternativa ao problema socioambiental de geração de efluentes, rico em nutrientes orgânicos e inorgânicos que precisariam ser despejados em ambientes naturais adjacentes (PIEDRAHITA, 2003; SAMOCHA et al., 2007; MISHRA et al., 2008).

As vantagens deste sistema de cultivo estão relacionadas à possibilidade de utilização de elevadas densidades de estocagem e a renovação mínima de água durante a produção. Estas mínimas renovações de água ou apenas a reposição das perdas por evaporação, podem conferir maior biossegurança às unidades de cultivo, reduzindo a possível introdução de patógenos e assim o risco com enfermidades aos animais produzidos (SAMOCHA et al., 2007; MISHRA et al., 2008). Além disso o estímulo da formação de uma biota predominantemente aeróbica e heterotrófica, através da fertilização com fontes de carbono orgânico e aeração forte e constante do ambiente de cultivo (WASIELESKY et al., 2006; SAMPAIO et al., 2010; KRUMMENAUER et al., 2012; LOPES et al., 2012, EMERENCIANO et al., 2013) proporciona a presença das bactérias heterotróficas e quimioautotróficas no sistema, as quais são convertidas em proteína microbiana, e melhoram a qualidade da água pela oxidação dos compostos nitrogenados (SAMOCHA et al., 2017; BALLESTER et al., 2017).

As partículas floculadas (bioflocos) formadas neste sistema, são constituídas principalmente por flocos bacterianos juntamente com fitoplâncton, zooplâncton, restos de organismos mortos, protozoários, cianobactérias, pequenos metazoários, excrementos e formas larvais de invertebrados, (WASIELESKY et al., 2006; BALLESTER et al., 2009) que poderão servir de alimentação suplementar aos indivíduos cultivados, reduzindo a quantidade de dieta formulada necessária, visto que esta é a responsável por cerca de metade dos custos de produção em um sistema de aquicultura tradicional (BUFORD et al., 2004; WASIELESKY et al., 2006; DE SCHRYVER et al., 2008; AZIM E LITTLE, 2008; AVNIMELECH, 2009; SAMOCHA et al., 2017). Porém, a qualidade nutricional do biofoco depende das condições de cada sistema de produção, além do tempo que cada floco foi maturado, proporcionando variação em um mesmo ambiente de cultivo (SAMOCHA et al., 2017). E está diretamente relacionada à relação

C:N adotada, ao nível de proteína da dieta que está sendo ofertada e a intensidade luminosa (HARGREAVES, 2013; EKASARI et al., 2014; OGELLO et al., 2014; XU e PAN, 2014). Estes agregados poderão atingir níveis elevados de proteína bruta, entre 35-38%, entretanto possuem percentuais baixos em relação aos lipídeos, cerca de 1-5% e ao teor de ácidos graxos de 3-9% (TACON et al., 2002; AZIM e LITTLE, 2008).

Uma alternativa para melhorar a deficiência nutricional dos flocos é a adição de microorganismos, que naturalmente são compostos por altas concentrações de lipídeos, podendo alcançar 20-50% do seu peso seco (BRENNAN e OWENDE, 2010), além de proteína e carboidratos (LEE e MARINO, 2010). Estes seres microscópicos são conhecidos por suas diferentes utilidades, seja na aquicultura como uma excelente suplementação nutricional devido a sua rica composição (JUAREZ et al., 2010), como alimento vivo para larvas de peixes, crustáceos e moluscos bivalves ou na fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico (YAN e PAN, 2002; LOURENÇO, 2006; AVAGYAN, 2010), além da sua utilização na biorremediação de ambientes aquáticos trazendo melhorias na qualidade de água (LAVENS e SORGELOOS, 1996), visto que possuem alto poder de ciclagem de nutrientes (CRAB et al., 2007).

O gênero *Chlorella* é bastante utilizado na nutrição de organismos aquáticos, principalmente por apresentar rápido crescimento, ser tolerante a várias condições de cultivo (LOURENÇO, 2006) e devido ao seu teor nutricional (MORONTA et al., 2006), além de ter importância comercial sendo aplicado como suplementação humana. Este gênero é representado por apenas oito espécies, que podem ser encontradas em diferentes habitats, tanto em água salina, quanto em água doce. Suas células são de vida livre, tem formato esférico ou elíptico e podem atingir de 2-10 µm de tamanho (BECKER, 1994). Em seu peso seco podem apresentar em torno de 5-40% de lipídios, quando em ótimas condições de cultivo, 42-58% de proteínas, 12-55% de carboidratos, quando em limitação de nitrogênio, e 10% de minerais e vitaminas, porém estes valores podem sofrer alterações a depender das condições do cultivo (KAY, 1991; BRANYIKOVA et al., 2010; SERVAITES et al., 2012).

Desta forma, torna-se necessário o desenvolvimento e aperfeiçoamento da tecnologia de bioflocos com a manipulação de organismos planctônicos no meio de cultivo, a exemplo da alga *Chlorella vulgaris*, possibilitando a disponibilidade de alimento natural com elevado valor nutricional, que poderá contribuir para a nutrição e conseqüentemente melhorar o desempenho zootécnico dos animais cultivados.

## 1.2- Objetivos do trabalho

### **Objetivo geral**

Avaliar o desempenho zootécnico da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada em sistema de bioflocos com adição da microalga *Chlorella vulgaris*.

### **Objetivos específicos**

- Determinar a melhor densidade celular da microalga *Chlorella vulgaris* no cultivo de tilápias em sistemas de bioflocos;
- Monitorar as variáveis físicas, químicas e biológicas da água dos cultivos de tilápias em sistema de bioflocos na fase de alevinagem;
- Analisar a condição de saúde dos animais através de análise hematológica.

## 1.3- Hipótese

A inoculação da microalga *Chlorella vulgaris* resultará em um incremento no desempenho zootécnico de alevinos de tilápia.

## 2- ARTIGO CIENTÍFICO

Parte dos resultados obtidos durante o trabalho experimental desta dissertação está apresentada no artigo intitulado “**Cultivo intensivo da tilápia do Nilo suplementado com microalga *Chlorella vulgaris* em sistema de bioflocos**” (manuscrito), que se encontra anexado.

Artigo científico a ser submetido à Revista: **Boletim do Instituto de Pesca - [www.pesca.sp.gov.br/publicacoes/boletim-do-instituto-de-pesca](http://www.pesca.sp.gov.br/publicacoes/boletim-do-instituto-de-pesca) - ISSN 0046-9939 (versão impressa), 1678-2305 (versão on-line)**

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as normas estabelecidas pela referida revista (em anexo).



1           **CULTIVO INTENSIVO DA TILÁPIA DO NILO SUPLEMENTADO COM**  
2           **MICROALGA *Chlorella vulgaris* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

3  
4   **RESUMO**

5   O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de alevinos de tilápia  
6   do Nilo, cultivada em tecnologia de bioflocos, utilizando diferentes densidades de  
7   inoculação de *Chlorella vulgaris*. O delineamento experimental foi inteiramente  
8   casualizado, envolvendo o cultivo em sistema de bioflocos e quatro densidades de  
9   *Chlorella vulgaris* (0, 2,5, 5 e  $10 \times 10^4$  cel mL<sup>-1</sup>), com quatro repetições cada. O trabalho  
10   teve duração de 63 dias, sendo realizado em caixas com 40L de volume útil, densidade  
11   de estocagem de 10 peixes por unidade experimental e peso médio inicial de  
12   aproximadamente 1,86 g. As variáveis de qualidade de água não apresentaram  
13   diferença significativa entre os tratamentos, principalmente o nitrogênio da amônia  
14   total e do nitrito, que estiveram dentro do nível aceitável para o cultivo da espécie. As  
15   variáveis de desempenho zootécnico não foram afetadas pelas diferentes densidades  
16   de inoculação da microalga, obtendo peso médio final de aproximadamente 21 g para  
17   os tratamentos e taxas de sobrevivência superiores a 80%. Portanto para estas  
18   densidades de inoculação da microalga *Chlorella vulgaris*, com frequência semanal, não  
19   apresentou influência no crescimento de alevinos de tilápia cultivada com bioflocos.

20  
21   **PALAVRAS-CHAVE: Alevinagem; sistema de bioflocos; alimento vivo;**  
22   **fitoplâncton; índices hematológicos.**

24 INTENSIVE CULTURE OF NILE TILAPIA SUPPLEMENTED WITH  
25 MICROALGAE *Chlorella vulgaris* IN BIOFLOC SYSTEM

26 ABSTRACT

27 The present work aimed to evaluate the performance of Nile tilapia fingerlings, reared  
28 with biofloc technology, using different inoculation densities of *Chlorella vulgaris*. The  
29 experimental design was completely randomized, involving the cultivation in a  
30 biofloc system and four densities of *Chlorella vulgaris* (0, 2.5, 5 and  $10 \times 10^4$  cell ml<sup>-1</sup>), with  
31 four replicates each one. The work lasted 63 days and was carried out in boxes with  
32 40L of useful volume, stocking density of 10 fish per experimental unit and initial  
33 average weight of approximately 1.86g. The water quality variables did not present a  
34 significant difference between the treatments and the nitrogen of the total ammonia  
35 as well as nitrite were within the acceptable level for the cultivation of the specie. The  
36 variables of zootechnical performance were not affected by the different inoculation  
37 densities of the microalgae, obtaining a final mean weight of approximately 21g for  
38 treatments and survival rates higher than 80%, therefore for these inoculation  
39 densities of the microalgae *Chlorella vulgaris*, weekly, there was no influence on the  
40 growth of tilapia fingerlings grown in biofloc system.

41 **KEY WORDS:** Fingerlings growth; biofloc system; living food; phytoplankton  
42 hematological index.

## 43 INTRODUÇÃO

44 A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies que vem sendo mais  
45 cultivada no Brasil e no mundo nos últimos anos e sua forte presença na aquicultura  
46 nacional é devido às vantagens e características que esta espécie apresenta, como a  
47 ingestão de grande variação de alimentos, aproveitamento do fitoplâncton, partículas e  
48 detritos em suspensão na coluna de água (DEMPSTER et al., 1995; AZIM et al., 2003).  
49 Em virtude destas particularidades, a espécie demonstra possibilidade de ser produzida  
50 em diferentes sistemas de cultivo, dentre eles o sistema super-intensivo de bioflocos  
51 (AZIM e LITTLE, 2008; AVNIMELECH, 2009; SAMOCHA et al., 2017).

52 O sistema de cultivo em bioflocos vem sendo amplamente estudado, em razão dos  
53 seus benefícios se comparado ao sistema de cultivo tradicional, como a possibilidade do  
54 aumento das densidades de estocagem, além da reutilização da água do cultivo em  
55 diversos ciclos de produção (HARGREAVES, 2013). A possibilidade deste  
56 reaproveitamento é devida principalmente a presença das bactérias quimiotróficas e  
57 heterotróficas, que transformam compostos nitrogenados em proteína microbiana,  
58 proporcionando o controle da qualidade da água em relação a estes compostos  
59 (WASIELESKY et al., 2006; KRUMMENAUER et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2013;  
60 SAMOCHA et al., 2017).

61 As partículas floculadas (bioflocos) formadas neste sistema poderão servir de  
62 alimentação suplementar aos indivíduos que estão sendo cultivados, porém a sua  
63 qualidade nutricional depende das condições de cada sistema de produção (BUFORD et  
64 al., 2004; WASIELESKY et al., 2006; AVNIMELECH, 2009; SAMOCHA et al., 2017). Estes  
65 agregados poderão atingir em seu peso seco, níveis elevados de proteína bruta, entre 35-  
66 38%, entretanto possuem percentuais baixos em relação aos lipídeos, com cerca de 1-5%  
67 (TACON et al., 2002; AZIM e LITTLE, 2008). Como alternativa, pode-se utilizar a adição  
68 de micro-organismos para melhorar a qualidade nutricional dos flocos produzidos, tal  
69 como as microalgas, que naturalmente são compostas por altas concentrações de  
70 lipídeos, podendo alcançar 20-50% do seu peso seco (BRENNAN e OWENDE, 2010),  
71 além de possuírem proteínas e carboidratos em sua composição (LEE e MARINO, 2010).  
72 Estes seres microscópicos são conhecidos por suas diferentes utilidades, porém na  
73 aquicultura a sua principal utilização é como alimento vivo (JUAREZ et al., 2010).

74 O gênero *Chlorella* é bastante utilizado na nutrição de organismos aquáticos,  
75 principalmente por apresentar rápido crescimento, ser tolerante a várias condições de

76 cultivo (LOURENÇO, 2006) e por causa do seu teor nutricional (MORONTA 2006), que  
77 em peso seco pode variar de 5-40% de lipídios, 10% de minerais e vitaminas, quando  
78 em ótimas condições de cultivo, 42-58% de proteínas e 12-55% de carboidratos, quando  
79 em limitação de nitrogênio (KAY, 1991; BECKER, 1994; BRANYIKOVA et al., 2010;  
80 SERVAITES et al., 2012).

81 Entretanto, pesquisas com adição de microalgas no cultivo de alevinos de tilápia  
82 em sistema de bioflocos são incipientes, com isto o objetivo deste trabalho foi avaliar a  
83 influência da microalga *Chlorella vulgaris* sobre as variáveis de desempenho zootécnico  
84 de tilápias cultivadas em bioflocos durante a fase de alevinagem.

## 85 MATERIAL E MÉTODOS

86 O experimento foi realizado no Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola na  
87 Estação de Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde  
88 durante sessenta e três dias foi avaliado o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia  
89 (*O. niloticus*) através de um delineamento experimental inteiramente casualizado com  
90 quatro tratamentos BFT, BFT<sub>2,5</sub>, BFT<sub>5</sub> e BFT<sub>10</sub>, envolvendo o sistema de bioflocos e  
91 diferentes densidades de inoculação de *Chlorella vulgaris* (controle; 2,5x10<sup>4</sup>; 5x10<sup>4</sup> e  
92 10x10<sup>4</sup>cel mL<sup>-1</sup>) com quatro repetições. As unidades experimentais que ficaram  
93 localizadas em ambiente fechado, cobertas com telas para evitar o escape dos peixes e  
94 com aeração constante, foram compostas por tanques retangulares com volume útil de  
95 40 litros (0,2 m<sup>2</sup>), as quais foram abastecidas com 27L (67,5%) de água doce previamente  
96 clorada (10 ppm de cloro ativo) e declorada com aeração constante por 24 horas, e 13L  
97 de bioflocos (32,5%) advindo de uma engorda de tilápia, iniciando o experimento com os  
98 sólidos sedimentáveis em 7 mL L<sup>-1</sup>. Como fonte de carbono orgânico foi utilizado o  
99 melaço de cana de açúcar, sendo calculado para que fosse mantida a relação C:N de 6:1,  
100 e então foi adicionado ao sistema com base na quantidade de nitrogênio da amônia total  
101 (NAT) presente na água. Esta adição foi realizada sempre que os níveis de NAT  
102 estiveram superiores a 0,7 mg L<sup>-1</sup>.

103 A clorófitica *Chlorella vulgaris* foi cultivada no Laboratório de Produção de  
104 Alimento Vivo (LAPAVI), no Departamento de Pesca e Aquicultura, enriquecida em  
105 meio de cultura Provasoli (1975) e vitaminas do complexo B, sendo utilizado 1,0 mL/L  
106 de cada solução. A microalga foi mantida em água doce com pH 7,9, temperatura 23,0 ±  
107 1°C e intensidade luminosa de ~2000 lux, em fotoperíodo de 24h claro e foi inoculada a  
108 cada 7 dias nas unidades experimentais durante a fase exponencial da curva de

109 crescimento para que fossem garantidos que o estado fisiológico das células e alto nível  
110 de qualidade nutricional fossem constantes. Para que fossem inoculadas as densidades  
111 celulares específicas de cada tratamento, foi realizada a contagem da densidade da  
112 microalga, com o auxílio de Câmara de Neubauer e microscópio óptico, e então  
113 calculado o volume a ser adicionado em cada unidade experimental.

#### 114 *Qualidade de água*

115 A qualidade da água foi monitorada através do acompanhamento das variáveis  
116 físico-químicas: temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L<sup>-1</sup>) e pH, as quais foram  
117 mensuradas diariamente (8:00 e 16:00 horas) com a utilização de multiparâmetro YSI 556  
118 MPS (YSI Incorporation, Ohio, USA). Semanalmente foram coletadas amostras de água  
119 de cada tanque para a determinação dos níveis de nitrogênio da amônia total (NAT),  
120 nitrito-N (NO<sub>2</sub>-N) e alcalinidade total, e quinzenalmente, para a análise de nitrato (NO<sub>3</sub>)  
121 e ortofosfato (PO<sub>4</sub>). Com a finalidade de manter a alcalinidade total em torno de 150 mg  
122 L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub> foi utilizado bicarbonato de sódio quando necessário (SAMOCHA, et al.,  
123 2017), totalizando 145,8g para o tratamento BFT, 132,2g para o BFT<sub>2,5</sub>, 139,4 para o BFT<sub>5</sub>  
124 e 129,2g para o BFT<sub>10</sub>. Foram efetuadas mínimas trocas de água, apenas para controle do  
125 volume dos sólidos, além de reposição das perdas por evaporação em frequência  
126 semanal. Os compostos nitrogenados foram mensurados utilizando as versões dos  
127 métodos HACH TNT 830 (método salicilato), 8507 (método de diazotização) e 8539  
128 (redução de cádmio) para NAT, NO<sub>2</sub>-N e NO<sub>3</sub>, respectivamente e a concentração de  
129 ortofosfato foi mensurada com a utilização do método PhosVer®3 8048 (ácido  
130 ascórbico). As amostras foram lidas através de espectrofotômetro digital HACH DR 2800  
131 (Hach Company, Colorado, USA) e a concentração da alcalinidade total foi determinada  
132 por titulação volumétrica (APHA, 1995).

133 Com o objetivo de quantificar o incremento do floco microbiano ao longo do  
134 cultivo, foram analisados os sólidos suspensos totais, a cada duas semanas, de acordo  
135 com APHA (1995) e os sólidos sedimentáveis (mL L<sup>-1</sup>), foram mensurados uma vez por  
136 semana, utilizando-se os cones de Imhoff, sendo coletado 1L de amostra de cada unidade  
137 experimental estimado após período de decantação e repouso de 30 minutos  
138 (AVNIMELECH, 2009). Para que o volume de sólidos sedimentáveis se mantivessem em  
139 15mL L<sup>-1</sup> foram instalados tanques de sedimentação sempre que necessário.

#### 140 *Desempenho zootécnico*

141 Os alevinos de *O. niloticus* foram adquiridos de uma piscicultura comercial e  
142 aclimatados em tanque de concreto, medindo 5x3x0,4 m, mantido com água doce até  
143 atingirem o peso de  $1,87 \pm 0,06g$ , sendo alimentados com ração Guabi (1-2mm), contendo  
144 45% de proteína bruta, 28% carboidrato, 15% material mineral 8% extrato etéreo e 4%  
145 fibra bruta. No período de aclimação foram realizadas renovações diárias de 70% do  
146 volume de água da unidade de cultivo. Posteriormente, os alevinos foram contados,  
147 pesados e estocados nas unidades experimentais em uma densidade de 10 indivíduos  
148 ( $250 \text{ peixes m}^{-3}$ ) por caixa. Os peixes foram alimentados com ração comercial extrusada  
149 Presence (3-4mm), contendo 36% proteína bruta, 37% carboidrato, 14% material mineral  
150 8% extrato etéreo e 5% fibra bruta, quatro vezes ao dia, às 08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas,  
151 até a saciedade aparente dos animais (*ad libitum*). Durante todo o período de  
152 experimento, ao final do dia, a ração não consumida foi pesada para que fosse  
153 determinado o consumo diário.

154 Ao final do período de cultivo, para a avaliação do rendimento, os peixes de cada  
155 unidade experimental foram contabilizados e pesados, sendo assim possível calcular:  
156 ganho de peso ( $GP = P_f - P_i$ ), ganho de peso diário ( $GPD = GP/t(d)$ ), relação de conversão  
157 alimentar (quantidade de ração ofertada/GB), taxa de crescimento específico ( $\ln P_f - \ln$   
158  $P_i$ )\*100/t), ganho de biomassa ( $GB = B_f - B_i$ ), produtividade ( $B_f/\text{volume}$ ) e sobrevivência  
159 ( $(N_i - N_f)*100/N_i$ ).

#### 160 *Análise hematológica*

161 Ao final do período de cultivo, cinco peixes de cada unidade experimental foram  
162 insensibilizados em solução de eugenol (1:1000) para o procedimento de coleta de  
163 sangue, com a finalidade da análise dos parâmetros hematológicos. Foi coletado cerca  
164 de 0,5 mL de sangue de cada peixe por punção caudal, com auxílio de seringa  
165 heparinizada. Cerca de 0,5 mL da amostra, que serviu para a contagem média de  
166 eritrócitos em Câmara de Neubauer ( $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ ), foi acondicionada em tubo com  
167 anticoagulante e logo após diluída em solução salina a 0,65% (AZEVEDO et al., 2006) na  
168 proporção de 1:200. Para determinar o volume globular foi utilizada a técnica do  
169 hematócrito (GOLDENFARB et al., 1971), no qual, o microcapilar foi preenchido com  
170 amostra sanguínea em 2/3 do seu volume total e centrifugado a 12000 rpm durante 30  
171 segundos, sendo posteriormente medido em cartela de aferição. O índice hematimétrico  
172 Volume Corpuscular Médio (VCM), que permite avaliar o volume dos eritrócitos, foi

173 calculado através da fórmula:  $VCM = (\text{Hematócrito} \times 10) / \text{número de Eritrócitos} (\times 10^6 \mu\text{L}^{-1})$   
174 <sup>1)</sup> descrita por WINTROBE (1934).

#### 175 *Análise estatística*

176 Inicialmente foram realizados o teste de normalidade de D'Agostino-Pearson, para  
177 os dados de temperatura, pH e oxigênio dissolvido, e Shapiro-Wilk para as demais  
178 variáveis e o teste de homocedasticidade de Cochran, ao nível de significância de 5%. Os  
179 resultados de sólidos sedimentáveis, alcalinidade e nitrogênio da amônia total foram  
180 transformados respectivamente através de cosseno (Yi), seno (Yi) e Ln (Yi). Constatando-  
181 se a normalidade da amostra e a homogeneidade das variâncias foi aplicada a Análise  
182 de Variância nas variáveis de cultivo. Para as variáveis de qualidade de água, foi  
183 aplicado o teste de Análise de Variância de amostras repetidas ao longo do tempo.  
184 Quando apresentada diferença estatística, foi realizado o teste de comparação de médias  
185 de Tukey, ao nível de significância de 5%. Para os dados de nitrato, temperatura (tarde),  
186 pH e oxigênio dissolvido, por não apresentarem distribuição paramétrica, foi aplicado o  
187 teste Kruskal-Wallis. A análise estatística feita através destes testes foi realizada no  
188 software SysEAPRO, versão 1.0. A correlação entre as diferentes densidades de  
189 inoculação da microalga e variáveis hematológicas foi investigada através de correlação  
190 de Pearson, calculada no software R 3.4.4.

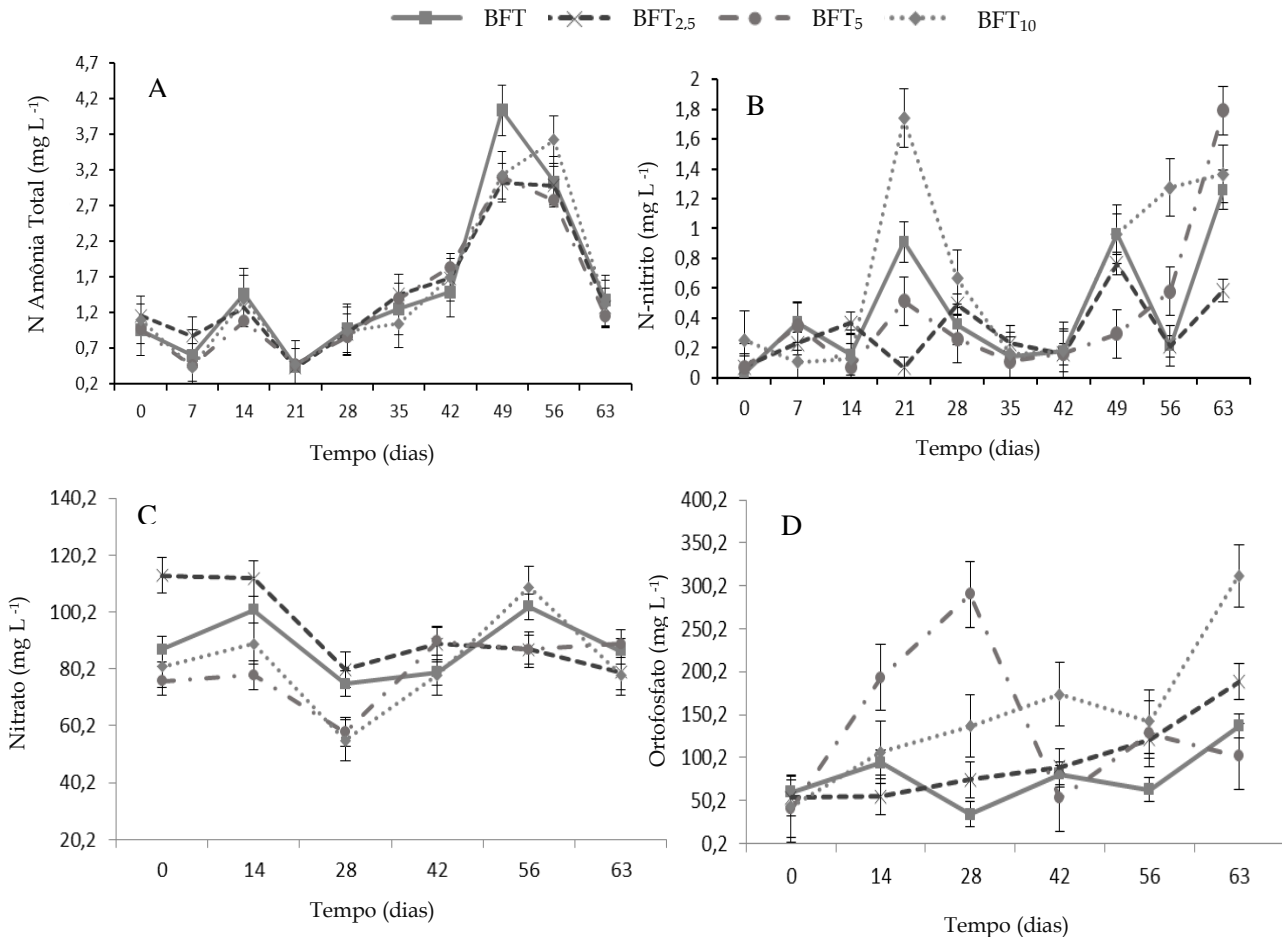
## 191 **RESULTADOS**

### 192 *Qualidade de água*

193 Os valores médios de temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH,  
194 alcalinidade, nitrogênio da amônia total, nitrogênio do nitrito, nitrato, ortofosfato,  
195 sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST) monitorados durante o  
196 período experimental não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos  
197 ( $p < 0,05$ ) e estão apresentados na Tabela 1 e representam o efeito das diferentes  
198 concentrações de *Chlorella vulgaris* inoculada nas unidades experimentais sobre as  
199 variáveis de qualidade da água no cultivo da tilápia (*O. niloticus*) em sistema de bioflocos  
200 durante a fase de alevinagem.

201 Nos valores de temperatura foi possível observar uma variação de 2°C ao longo  
202 do dia, estando aproximadamente entre 26° pela manhã e 28°C à tarde. Em relação ao  
203 oxigênio dissolvido, houve variação de 3,85 a 8,50 mg L<sup>-1</sup>, com médias de 6,49 e 5,89 mg  
204 L<sup>-1</sup>, durante o período da manhã e tarde, respectivamente enquanto que o pH variou

205 entre 8,25, no período da manhã, e 8,14, à tarde. A alcalinidade total variou de 10 a 240  
 206 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, apresentando valores médios de 133,26; 134,17; 131,53 e 133,26 mg de  
 207 CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, para os tratamentos BFT, BFT<sub>2,5</sub>, BFT<sub>5</sub> e BFT<sub>10</sub>, respectivamente. O mínimo  
 208 valor foi obtido no primeiro dia de experimento, sendo corrigido logo em seguida com  
 209 a utilização de bicarbonato de sódio.



210 Figura 1. Variação dos compostos nitrogenados (A- nitrogênio da amônia total, B- nitrogênio do  
 211 nitrito, C- nitrato) e do ortofosfato (D) durante o período de cultivo de *O. niloticus* em bioflocos  
 212 com inoculação de diferentes densidades de *Chlorella vulgaris*.

213

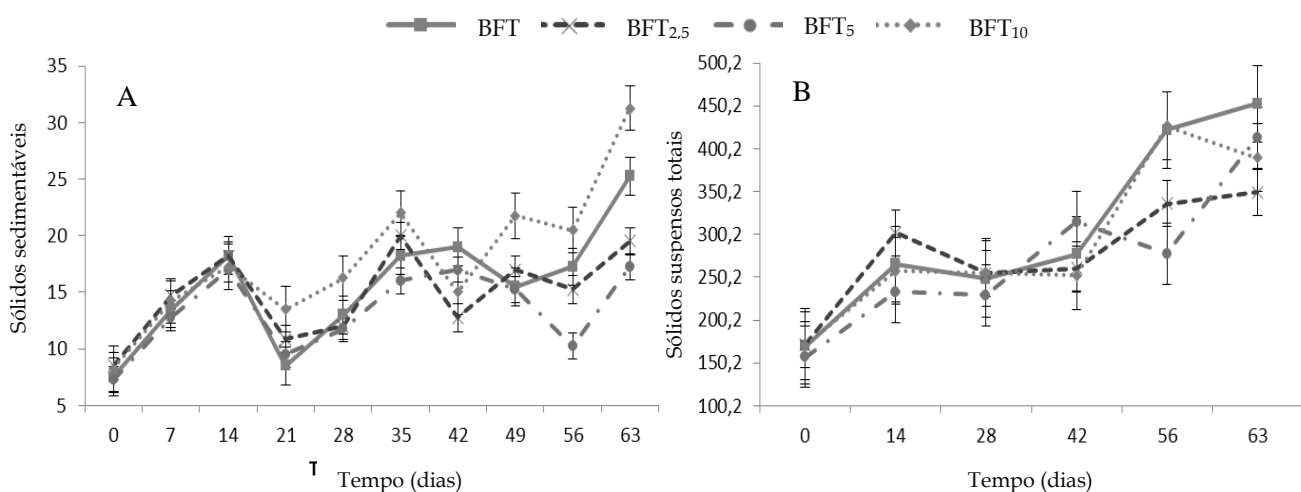
214 O nitrogênio da amônia total (NAT), apresentou médias de 1,66; 1,56; 1,36 e 1,5  
 215 mg L<sup>-1</sup>, nos tratamentos BFT, BFT<sub>2,5</sub>, BFT<sub>5</sub> e BFT<sub>10</sub>, respectivamente. A concentração  
 216 máxima do NAT observada foi de 4,22 mg L<sup>-1</sup>, no tratamento BFT o que corresponde a  
 217 uma concentração de amônia tóxica de 0,42 mg L<sup>-1</sup>. É possível observar que a  
 218 concentração média da amônia (Figura 1A), a partir do 35º dia de cultivo, apresentou  
 219 um acréscimo em todos os tratamentos, tendo seu pico no 49º dia.



220 O nitrito não demonstrou acúmulo durante este experimento (Figura 1B),  
 221 demonstrando, porém, oscilação. A concentração máxima obtida de nitrogênio do nitrito  
 222 foi de 2,85 mg L<sup>-1</sup>, equivalente a 9,36 mg L<sup>-1</sup> de nitrito (NO<sub>2</sub>). No início do cultivo foram  
 223 observados valores elevados de nitrato, visto que o biofloco utilizado neste experimento  
 224 foi proveniente de um cultivo anterior, onde o sistema já estava maturado e em  
 225 equilíbrio. As concentrações médias para este composto não apresentaram a mesma  
 226 tendência nos tratamentos (Figura 1C), sendo a concentração máxima obtida no  
 227 tratamento BFT<sub>2,5</sub> aos 21 dias de cultivo (138 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>), demonstrando declínio e  
 228 oscilação nos dias subsequentes. No presente estudo, os níveis de ortofosfato variaram  
 229 entre 19 e 858 mg L<sup>-1</sup>, apresentando médias de 60,25 e 106,50 nos tratamentos BFT e BFT<sub>10</sub>,  
 230 respectivamente (Figura 1D).

231

232 As concentrações de sólidos sedimentáveis (SS) e sólidos suspensos totais (SST)  
 233 variaram ao longo dos 63 dias de cultivo e atingiram valores máximos de 45 mL L<sup>-1</sup>  
 234 (Figura 2A) e 591,26 mg L<sup>-1</sup> (Figura 2B), respectivamente, não apresentando diferença  
 235 significativa entre as diferentes densidades de inoculação da *Chlorella vulgaris* (P>0,05).



236 Figura 2. Variação dos sólidos sedimentáveis (A) e sólidos suspensos totais (B) durante o período  
 237 de cultivo de *O. niloticus* em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de *Chlorella*  
 238 *vulgaris*.

239

240

241

242

243 Tabela 1. Valores são médias de quatro repetições  $\pm$  desvio padrão (mínimo-máximo) das  
 244 variáveis físico-químicas de qualidade da água do cultivo de *O. niloticus* em bioflocos com  
 245 inoculação de diferentes densidades de *Chlorella vulgaris*.

Variáveis	Tratamentos				
		BFT	BFT <sub>2,5</sub>	BFT <sub>5</sub>	BFT <sub>10</sub>
Temperatura (°C)	Manhã	26,50 $\pm$ 0,60	26,50 $\pm$ 0,50	26,40 $\pm$ 0,50	26,60 $\pm$ 0,60
		(24,90-27,80)	(25,10-27,50)	(25,00-27,40)	(25,10-27,90)
	Tarde	28,20 $\pm$ 0,60	28,20 $\pm$ 0,60	28,30 $\pm$ 0,60	28,30 $\pm$ 0,70
		(26,80-29,80)	(26,80-29,70)	(26,80-29,70)	(26,90-30,10)
Oxigênio dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	Manhã	6,49 $\pm$ 0,43	6,41 $\pm$ 0,43	6,53 $\pm$ 0,43	6,54 $\pm$ 0,45
		(5,20-8,20)	(5,40-8,50)	(5,20-8,30)	(5,30-8,10)
	Tarde	5,89 $\pm$ 0,53	5,86 $\pm$ 0,51	5,90 $\pm$ 0,51	5,90 $\pm$ 0,56
		(3,85-8,00)	(4,40-8,10)	(4,09-7,90)	(4,70-8,20)
pH	Manhã	8,23 $\pm$ 0,42	8,24 $\pm$ 0,42	8,24 $\pm$ 0,41	8,25 $\pm$ 0,40
		(5,93-8,68)	(5,93-8,68)	(5,94-8,68)	(6,04-8,71)
	Tarde	8,14 $\pm$ 0,31	8,15 $\pm$ 0,31	8,14 $\pm$ 0,31	8,15 $\pm$ 0,31
		(6,07-8,67)	(6,05-8,63)	(6,08-8,65)	(6,14-8,84)
Alcalinidade (mgL <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )		133,26 $\pm$ 42,68	134,17 $\pm$ 43,57	131,53 $\pm$ 43,98	133,26 $\pm$ 45,43
		(10-210)	(10-190)	(10-210)	(10-240)
Amônia (mg L <sup>-1</sup> NAT)		1,43 $\pm$ 1,12	1,40 $\pm$ 0,88	1,09 $\pm$ 0,88	1,16 $\pm$ 1,00
		(0,50 - 4,22)	(0,31-3,75)	(0,36-2,90)	(0,36-3,70)
Nitrito (mg L <sup>-1</sup> N-NO <sub>2</sub> )		0,25 $\pm$ 0,61	0,23 $\pm$ 0,31	0,25 $\pm$ 0,72	0,34 $\pm$ 0,74
		(0,03-2,03)	(0,03-1,00)	(0,06-2,85)	(0,07-1,73)
Nitrato (mg L <sup>-1</sup> )		89,00 $\pm$ 15,58	88,00 $\pm$ 20,24	84,00 $\pm$ 18,49	79,00 $\pm$ 17,34
		(60-110)	(60-138)	(42-108)	(42-110)
Ortofosfato (mg L <sup>-1</sup> )		60,25 $\pm$ 91,84	67,50 $\pm$ 129,33	83,50 $\pm$ 129,90	106,50 $\pm$ 215,63
		(19-396)	(24-530)	(24-506)	(32-858)
Sólidos sedimentáveis (mL L <sup>-1</sup> )		16,00 $\pm$ 5,90	15,00 $\pm$ 4,99	14,50 $\pm$ 5,84	17,00 $\pm$ 7,05
		(7-34)	(5,5-25)	(2-25)	(7-45)
Sólidos suspensos totais (mg L <sup>-1</sup> )		276,89 $\pm$ 121,84	281,40 $\pm$ 101,97	263,98 $\pm$ 111,49	261,67 $\pm$ 106,85
		(161,36-580,00)	(83,81-568,27)	(98,91-591,26)	(163,95-552,22)

246

#### 247 Desempenho zootécnico

248 Os valores médios do peso final, ganho de peso e ganho de peso diário, taxa de  
 249 crescimento específico, sobrevivência, relação de conversão alimentar, biomassa final  
 250 e produtividade das tilápias após 63 dias de cultivo estão apresentados na Tabela 2.

251 O peso final médio variou de 20,53 a 23,42g, para os tratamentos estudados,  
 252 enquanto que o ganho de peso diário apresentou média de 0,3g dia<sup>-1</sup>. Os valores da  
 253 taxa de crescimento específico alcançados foram de 3,83 a 4,04% dia<sup>-1</sup> para os  
 254 tratamentos BFT<sub>2,5</sub> e BFT<sub>10</sub> e não foram influenciados pela microalga *Chlorella vulgaris*  
 255 inoculada nas diferentes densidades. A relação de conversão alimentar, variou entre  
 256 1,38 e 1,51, não sendo observadas diferenças significativas entre os tratamentos  
 257 (p<0,05). Em relação à sobrevivência, foram alcançadas taxas superiores a 80% nesta  
 258 fase experimental de alevinagem.

259

260 Tabela 2. Valores são médias de quatro repetições ± desvio padrão das variáveis de desempenho  
 261 zootécnico no cultivo de *O. niloticus* em bioflocos com diferentes densidades de inoculação da  
 262 *Chlorella vulgaris*.

Variáveis	Tratamentos			
	BFT	BFT <sub>2,5</sub>	BFT <sub>5</sub>	BFT <sub>10</sub>
Peso inicial (g)	1,86±0,08	1,85±0,05	1,88±0,05	1,87±0,06
Peso final (g)	22,23±3,03	20,53±2,97	21,31±1,63	23,42±3,65
Ganho de peso (g)	20,37±3,02	18,67±2,98	19,12±1,94	21,55±3,61
Ganho de peso diário (g dia <sup>-1</sup> )	0,32±0,05	0,30±0,05	0,31±0,03	0,34±0,06
Taxa de crescimento específico (% dia <sup>-1</sup> )	3,96±0,21	3,83±0,24	3,88±0,14	4,04±0,25
Sobrevivência (%)	80,00±11,55	82,50±9,57	85,00±17,32	80,00±8,17
Relação de Conversão Alimentar	1,51±0,20	1,47±0,11	1,42±0,13	1,38±0,11
Biomassa Final (g)	179,41±45,50	173,23±28,64	189,63±48,64	186,32±26,13
Produtividade (kg m <sup>-3</sup> )	4,49±1,14	4,33±0,72	4,74±1,22	4,66±0,65

263

#### 264 *Análise hematológica*

265 Os resultados da contagem dos eritrócitos, volume globular (hematócrito) e  
 266 índice hematimétrico volume corpuscular médio (VCM) e as variações referenciais dos  
 267 parâmetros sanguíneos, conforme Tavares-Dias (2015) estão descritos na Tabela 3.

268 O tratamento BFT<sub>5</sub> apresentou maior quantidade de eritócitos (4,05×10<sup>6</sup> µL<sup>-1</sup>)  
 269 demonstrando diferença significativa com relação aos demais tratamentos (p<0,05).  
 270 Entretanto não foram encontradas diferenças significativas em relação à porcentagem de  
 271 hematócrito, estando estes percentuais de acordo com os valores de referência. Em  
 272 relação ao VCM, o maior valor resultante foi para o tratamento BFT<sub>10</sub>, 131,57×10<sup>6</sup>fL.

273 Foram observadas para as variáveis eritrócitos e volume corpuscular médio fraca  
 274 correlação, sendo encontrados coeficientes de correlação (r) respectivamente de -0,31 e  
 275 0,33. Porém, para o percentual de hematócrito, foi encontrada correlação desprezível  
 276 (0,04).

277

278 Tabela 3. Valores são médias de quatro repetições  $\pm$  desvio padrão das variáveis hematológicas  
 279 de *O. niloticus* cultivada em bioflocos com inoculação de diferentes densidades de *Chlorella*  
 280 *vulgaris*.

Tratamentos	Eritrócitos( $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ )	Hematócrito(%)	Volume Corpuscular Médio( $\mu\text{L}$ )
BFT	3,96 $\pm$ 1,37 <sup>ab</sup>	27,00 $\pm$ 7,56 <sup>a</sup>	74,49 $\pm$ 35,01 <sup>b</sup>
BFT <sub>2,5</sub>	3,69 $\pm$ 0,94 <sup>ab</sup>	25,8 $\pm$ 6,01 <sup>a</sup>	73,36 $\pm$ 21,93 <sup>ab</sup>
BFT <sub>5</sub>	4,05 $\pm$ 0,99 <sup>b</sup>	29,93 $\pm$ 7,88 <sup>a</sup>	75,58 $\pm$ 15,46 <sup>ab</sup>
BFT <sub>10</sub>	2,83 $\pm$ 1,49 <sup>a</sup>	27,07 $\pm$ 9,04 <sup>a</sup>	131,57 $\pm$ 120,21 <sup>a</sup>
<b>Valores de referência*</b>	1,50 – 3,88	21 – 44	74,5 – 160

281 Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística significativa.

282 \*TAVARES-DIAS (2015)

283

## 284 DISCUSSÃO

### 285 *Qualidade de água*

286 A temperatura manteve-se dentro da faixa de conforto térmico ideal para o  
 287 crescimento da espécie de acordo com o preconizado por FURUYA et al (2013), que é de  
 288 25 a 31°C. Emerenciano et al. (2017), relataram que a concentração mínima de oxigênio  
 289 dissolvido para tilapicultura em sistema de bioflocos deve ser  $\geq 4\text{mg L}^{-1}$ , sendo assim os  
 290 níveis desta variável estiveram dentro dos padrões recomendados durante todo período  
 291 experimental. O pH apresentou variações médias ideais para o desenvolvimento dos  
 292 peixes, segundo EMERENCIANO et al. (2017), esta variável deve ser mantida entre 6,8  
 293 e 8,0, além disto pode ter favorecido o crescimento e manutenção das bactérias oxidantes  
 294 do nitrito (BON), que requerem valores de pH entre 7,2 e 8,2 (TIMMONS e EBELING,  
 295 2007).

296 Em aquicultura, um dos principais objetivos do controle da qualidade da água é  
 297 o gerenciamento da amônia, a fim de manter os níveis em baixas concentrações (CHOO  
 298 et al., 2015). EL-SHERIF e EL-FEKY (2008) ao avaliarem diferentes concentrações de  
 299 amônia tóxica em relação ao desempenho zootécnico de alevinos de *O. niloticus*

300 encontraram como concentração letal mediana 7,1 mg L<sup>-1</sup> N-NH<sub>3</sub>, valor superior aos  
301 encontrados nos resultados obtidos durante este experimento.

302 O nitrito, assim como a amônia, é tóxico para os organismos aquáticos e sua  
303 principal fonte é através da oxidação da amônia (SILVA, 2013; SAMOCHA et al., 2017).  
304 Não ocorreu o acúmulo deste composto, apesar disto ser comum em sistemas intensivos,  
305 por ser um composto intermediário entre o processo de nitrificação e desnitrificação do  
306 nitrato no ciclo do nitrogênio (AZIM e LITTLE, 2008; KROUPOVA et al., 2005). A  
307 máxima concentração obtida esteve muito abaixo de 28,1 mg L<sup>-1</sup> de nitrito, que é capaz  
308 de causar 50% de mortalidade em alevinos de tilápia após 96 horas de exposição  
309 (YANBO et al., 2006). O nitrato, composto nitrogenado com menor potencial tóxico, é o  
310 produto final da nitrificação (TIMMONS e EBELING, 2007), devido a esse processo, o  
311 nitrato tende a se acumular em sistemas de cultivos intensivos (KUHN et al., 2010). Não  
312 foi observado o acúmulo do nitrito e nitrato durante este período experimental devido,  
313 possivelmente, a utilização de tanques de sedimentação.

314 Para que os níveis da alcalinidade fossem mantidos entre 100 e 150 mg de CaCO<sub>3</sub>  
315 L<sup>-1</sup> e não ocorresse o declínio do pH devido a não compensação da alcalinidade, foi  
316 utilizado bicarbonato de sódio como fonte de carbonatos. A diminuição da alcalinidade  
317 no sistema limita a quantidade de Carbono inorgânico disponível para o processo de  
318 nitrificação bacteriana, portanto se faz importante a manutenção da alcalinidade em  
319 níveis superiores a 100 mg de CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (SAMOCHA et al., 2017).

320 O sistema de cultivo intensivo sem troca de água apresenta como característica o  
321 acúmulo do nutriente ortofosfato (BURFORD et al.; 2003, HOPKINS et al., 1993). A  
322 variação encontrada durante o período experimental pode estar relacionada com a  
323 utilização de tanques de sedimentação, corroborando com o encontrado por RAY et al.  
324 (2010) e SCHVEITZER et al. (2013).

325 As médias encontradas em relação aos sólidos sedimentáveis (SS) estiveram de  
326 acordo com o citado por EMERENCIANO et al. (2017), o qual afirma que estes níveis  
327 devem ser mantidos entre 5 e 20 mL L<sup>-1</sup> no cultivo de alevinos de tilápia do Nilo. Através  
328 da adição de fonte de carbono orgânico, há um incremento na produção de SS, que são  
329 compostos principalmente pelas bactérias heterotróficas e autotróficas (LUO et al., 2012),  
330 que ao aumentarem sua biomassa, aumentam por consequência os sólidos suspensos  
331 totais (SST), além do conteúdo proteico da dieta e taxa de excreção do nitrogênio dos  
332 peixes cultivados (MONROY et al., 2013). A concentração recomendada para SST,

333 segundo EMERENCIANO et al. (2017) é abaixo de 500 mg L<sup>-1</sup>, estando as médias dos  
334 tratamentos dentro do valor recomendado.

335 Na segunda, quinta e sétima semana de cultivo houve a necessidade de  
336 instalação de tanques de sedimentação com a finalidade de reduzir a quantidade dos  
337 sólidos presentes nas unidades experimentais, implicando, por consequência, na  
338 redução do nitrato e ortofosfato (RAY et al., 2010). Entretanto, esta ação pode ter  
339 acarretado o incremento das concentrações de NAT e NO<sub>2</sub>-N, visto que segundo  
340 EBELING et al. (2006) o uso de tanques de sedimentação com o objetivo de remoção dos  
341 sólidos suspensos pode remover também as bactérias nitrificantes do sistema e por  
342 consequência, haver o comprometimento do controle da amônia.

#### 343 *Desempenho zootécnico*

344 MIRANDA-BAEZA et al. (2017) ao inocularem diferentes densidades de  
345 cianobactéria *Oscillatoria* sp em um cultivo de alevinos de tilápia vermelha (*O.*  
346 *mossambicus* x *O. niloticus*) em bioflocos, obtiveram como ganho de peso diário de 0,14  
347 a 0,2 g dia<sup>-1</sup> durante um período experimental de sete semanas. Estes autores iniciaram  
348 o cultivo com os indivíduos pesando 14 g em média, nos quais atingiram peso final de  
349 21 a 24 g, valores estes que estiveram abaixo do que foi alcançado no presente estudo  
350 em relação a estes fatores, demonstrando que a Cianobactéria é prejudicial ao cultivo.  
351 Assim como ABDULJABBAR et al. (2015), que encontraram valores de 0,1 g dia<sup>-1</sup>, ao  
352 testar a influência do biofloco no crescimento de alevinos de tilápia, quando  
353 comparado ao sistema com trocas totais e parciais de água. Estes autores relataram  
354 que o peso inicial dos indivíduos foi entre 3,37 e 3,44g e obtiveram após 120 dias de  
355 experimento, peso médio em torno de 12,16 e 15,65g, respectivamente.

356 Os resultados da taxa de crescimento específico estiveram ligeiramente acima  
357 dos resultados encontrados por ZAPATA et al. (2017), que utilizaram 750 juvenis m<sup>-3</sup>,  
358 e obtiveram taxas com variação entre 3,35 e 3,54% dia<sup>-1</sup> ao testarem diferentes relações  
359 de C:N, assim como superiores aos resultados encontrados por LUO et al. (2014), em  
360 experimento conduzido em sistema de recirculação de água (1,90% dia<sup>-1</sup>) e sistema de  
361 bioflocos (2,13% dia<sup>-1</sup>), utilizando tilápias com peso inicial de 24 g. Silva et al (2002) ao  
362 avaliarem o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo estocadas em  
363 diferentes densidades (180, 240 e 300 peixes m<sup>-3</sup>) e cultivadas em sistema intensivo  
364 obtiveram 2,19 – 2,91 % dia<sup>-1</sup>, resultados menores dos que foram obtidos durante este  
365 período experimental.

366 A relação de conversão alimentar, na qual permite que seja determinada a  
367 relação custo-benefício do alimento em uma atividade aquícola (OGELLO et al., 2014),  
368 foi inferior ao encontrado por ABDEL-TAWWAB et al. (2010), que ao utilizarem ração  
369 comercial com 25, 35 e 45% de conteúdo proteico obteve 1,81, 1,65 e 1,49 para alevinos  
370 de 0,4-0,5g, enquanto que para juvenis entre 17 e 22g obtiveram 2,22, 1,92 e 1,98,  
371 respectivamente. E ao ser testada a influência de troca parcial de água em um cultivo  
372 de alevinos de tilápia (peso inicial 2,63g) em sistema de bioflocos, ABDULJABBAR et  
373 al. (2015) alcançaram valores de relação de conversão alimentar mais elevados aos  
374 encontrados neste estudo, estando entre 1,87 e 1,94, em condições de temperatura de  
375 24°C.

376 Em relação a sobrevivência, BROL et al. (2017) ao testarem diferentes  
377 densidades de estocagem obtiveram 72,9 e 87,5% para 800 e 400 peixes m<sup>-3</sup>,  
378 respectivamente e ABDULJABBAR et al. (2015) encontraram taxas de 98 e 99% ao  
379 cultivarem alevinos de tilápia em sistema de bioflocos, sendo um com renovação de  
380 água e outro com 10% de troca da água das unidades de cultivo, as quais estiveram  
381 acima dos valores obtidos.

#### 382 *Análise hematológica*

383 O tratamento BFT<sub>5</sub> apresentou valores de eritrócitos acima do intervalo que é  
384 considerado padrão. Este aumento pode estar relacionado a uma resposta à condição de  
385 estresse agudo, visto que houve uma maior concentração de NO<sub>2</sub>-N neste tratamento no  
386 último dia de cultivo, quando foi realizada a análise das variáveis hematológicas  
387 (AZEVEDO et al., 2016; ABDULJABBAR et al., 2015; LONG et al., 2015). A ação deste  
388 composto tem como alvo primário o sangue dos indivíduos, partindo do plasma  
389 sanguíneo e se difundindo nas células vermelhas (CAMERON, 1971). Entretanto, para  
390 este tratamento, os valores de hematócrito e VCM estiveram entre o recomendado.

391 O percentual de hematócrito nos tratamentos testados corroborou com o  
392 encontrado por RODRIGUES-SOARES et al. (2018), na qual obteve percentuais entre 27  
393 e 32 ao observar o efeito de suplementação com óleo essencial da erva *Lippia alba*, assim  
394 como a ausência deste.

395 Foram encontrados valores inferiores ao parâmetro preconizado por TAVARES-  
396 DIAS (2015) quanto ao volume corpuscular médio nos tratamentos BFT e BFT<sub>2,5</sub>. Deste  
397 modo, pode-se perceber que o tratamento BFT<sub>10</sub> se manteve entre os padrões normais

398 para a tilápia cultivada em sistema intensivo em relação às variáveis analisadas,  
399 demonstrando assim o estado saudável destes indivíduos.

## 400 CONCLUSÃO

401 A inoculação da microalga *Chlorella vulgaris* em diferentes densidades e em  
402 frequência semanal, não influenciou a qualidade da água durante o período  
403 experimental, assim como os índices de desempenho zootécnico. Entretanto, foi  
404 possível observar que houve melhoria no índice VCM, que indica bem-estar animal no  
405 tratamento com a inoculação da *Chlorella vulgaris* em densidade de  $10 \times 10^4$  cel mL<sup>-1</sup>.

406 Mediante os resultados obtidos, fazem-se necessários estudos complementares  
407 que avaliem diferentes concentrações e frequências de adição dessa microalga, assim  
408 como o uso de outras espécies, principalmente que sejam formadoras de colônias,  
409 visando facilitar a agregação das mesmas aos flocos microbianos. Como também avaliar  
410 se a microalga exerce influência na saúde do animal entre as transferências das fases de  
411 cultivo.

## 412 AGRADECIMENTOS

413 Agradecemos o apoio financeiro fornecido pelo Conselho Nacional de  
414 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

415

## 416 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

417 ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M. H.; KHATTAB, Y. A. E.; SHALABY, A. M. E. 2010  
418 Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth,  
419 feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.  
420 *Aquaculture*, 298(3): 267-274.

421 ABDULJABBAR, A. A.; NOUR, A. M.; SROUR, T.; EL-BERMAWY, N.; FAYED, W. A.;  
422 MANSOUR, A.T. 2015 Intensive Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production under  
423 biofloc technology systems. *Global Journal of Fisheries and Aquaculture Researches*, 2: 64-  
424 80.

425 AVNIMELECH, Y. 2009 *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. Louisiana: The  
426 World Aquaculture Society, 175p.



427 AZEVEDO, T. M. P.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M.; FRANCISCO, C. J. 2006  
428 Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em  
429 piscicultura consorciada com suínos e em pesque pague no Vale do rio Tijucas, Santa  
430 Catarina, Brasil. *Boletim Instituto da Pesca*, 32(1): 41-49.

431 AZEVEDO, T. M. P.; ALBINATI, R. C. B.; GUERRA-SANTOS, B.; PINTO, L. F. B.; LIRA,  
432 A. D.; MEDEIROS, S. D. C. e AYRES, M. C. C. 2016 Valores de referência dos  
433 parâmetros hematológicos de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) cultivados em  
434 tanques-rede em Paulo Afonso, no estado da Bahia, Brasil. *Brazilian Journal of Aquatic  
435 Science and Technology*, 20 (2): 63-74.

436 AZIM, M. E.; VERDEGEM, M. C. J.; MANTINGH, I., VAN DAM, A. A., BEVERIDGE,  
437 M. C. M. 2003 Ingestion and utilization of periphyton grown on artificial substrates by  
438 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, 34: 85-92.

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

442 BECKER, E. W. 1994 *Microalgae: biotechnology and microbiology*. New York: Cambridge  
443 University Press.

444 BRANYIKOVA, I.; MARSALKOVA, B.; DOUCHA, J.; BRANYIK, T.; BISOVA, K.;  
445 ZACHLEDER, V.; VITOVA, M. 2010 Microalgae - novel highly efficient starch  
446 producers. *Biotechnology Bioengineering*, 108: 766-776.

447 BRENNAN, L.; OWENDE, P. 2010 Biofuels from microalgae - A review of technologies  
448 for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and  
449 Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.

450 BROL, J.; PINHO, S. M.; SGNAULIN, T.; PEREIRA, K. R.; THOMAS, M. C.; MELLO, G.  
451 L.; MIRANDA-BAEZA, A.; EMERENCIANO, M. G. C. 2017 Tecnologia de bioflocos  
452 (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de  
453 estocagem. *Archivos de Zootecnia*, 66(254): 229-235.

454 BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON,  
455 D. C. 2003 Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp  
456 ponds in Belize. *Aquaculture*, 219(1-4): 393-411.

457 BURFORD, M. A.; SMITH, D. M.; TABRET, S. J.; COMAN, F. E.; THOMPSON, P. J.;  
458 BARCLAY, M. C.; TOSCAS, P. J. 2004 The effect of dietary protein on the growth and  
459 survival of the shrimp, *Penaeus monodon* in outdoor tanks. *Aquaculture Nutrition*, 10(1):  
460 15-23.

461 CAMERON, J. N. 1971 Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout. *Comparative*  
462 *Biochemistry and Physiology*, 40: 743-749.

463 CHOO, H. X.; CAIPANG, C. M. A. Biofloc technology (BFT) and its application towards  
464 improved production in freshwater tilapia culture. 2015 *Aquaculture, Aquarium,*  
465 *Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 8(3): 362-366.

466 DEMPSTER, P.; BAIRD, D. J.; BEVERIDGE, M. C. M. 1995 Can fish survive by filter-  
467 feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspension. *Journal*  
468 *of Fish Biology*, 47: 7-17.

469 EL-SHERIF, M. S. e EL-FEKY, A. M. 2008 *Effect of ammonia on Nile Tilapia (O. niloticus)*  
470 *performance and some hematological and histological measures*. Disponível em:  
471 <<https://pdfs.semanticscholar.org/5168/9619b7925f21a10f066551324c3df38ab798.pdf>  
472 >Acesso em: 30 nov. 2017.

473 EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. 2006 Engineering analysis of the  
474 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-  
475 nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.

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

479 EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. 2013 *Biofloc Technology (BFT): A Review*  
480 *for Aquaculture Application and Animal Food Industry, Biomass Now – Cultivation and*  
481 *Utilization*. Disponível em: <[https://www.intechopen.com/books/biomass-now-cultivation-and-utilization/biofloc-technology-bft-a-review-for-aquaculture-](https://www.intechopen.com/books/biomass-now-cultivation-and-utilization/biofloc-technology-bft-a-review-for-aquaculture-application-and-animal-food-industry)  
482 [application-and-animal-food-industry](https://www.intechopen.com/books/biomass-now-cultivation-and-utilization/biofloc-technology-bft-a-review-for-aquaculture-application-and-animal-food-industry)> Acesso em: 24 nov. 2017.

484 EMERENCIANO, M. G. C.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. F.; PORCHAS, M. M.; BAEZA,  
485 A. M. 2017 *Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture*.  
486 Disponível em: <[https://www.intechopen.com/books/water-quality/biofloc-](https://www.intechopen.com/books/water-quality/biofloc-technology-bft-a-tool-for-water-quality-management-in-aquaculture)  
487 [technology-bft-a-tool-for-water-quality-management-in-aquaculture](https://www.intechopen.com/books/water-quality/biofloc-technology-bft-a-tool-for-water-quality-management-in-aquaculture)> Acesso em: 06  
488 dez. 2017.

489 FURUYA, W. M.; MICHELATO, M.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V. O.; XAVIER, T. O.;  
490 FURUYA, V. R. B., MOURA, L. B. 2013 Digestible lysine requirement of Nile tilapia from  
491 86 to 227g fed arginine to lysine balanced diets. *Semina: Ciências Agrárias*, 34: 1945-1954.

492 GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E. 1971 Reproducibility in the  
493 hematology laboratory: the micro hematocrit determination. *American Journal of Clinical*  
494 *Pathology*, 56: 35-39.

495 GREEN, B. W. 2006 Tilapia: biology, culture, and nutrition. In: LIM, C.; WEBSTER, C. D.  
496 *Fingerling Production Systems*. New York: Food Products Press. p. 181-202.

497 HARGREAVES, J. A. 2013 Biofloc production systems for aquaculture. *Southern Regional*  
498 *Aquaculture Center Publication*, 4503: 12.

499 HOPKINS, J. S., HAMILTON II, R. D.; SANDIER, P. A.; BROWDY, C. L.; STOKES, A. D.  
500 1993 Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics  
501 and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*,  
502 24 (3): 304-320.

503 JUAREZ, L. M.; MOSS, S. M.; FIGUERAS, E. 2010 The Shrimp Book, *Maturation and larval*  
504 *rearing of the pacific white shrimp, Penaeus vannamei*. Nottingham: Nottingham University  
505 Press. p. 305-352.

506 KAY, R. A. Microalgae as Food and Supplement. 1991 *Critical Reviews in Food Science and*  
507 *Nutrition*, 30 (6): 555-573.

508 KROUPOVA, H.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. 2005 Nitrite influence on fish: a  
509 review. *Veterinarni Medicina – Czech*, 50 (11): 461-471.

510 KRUMMENAUER, D.; SEIFERT JR., C. A.; POERSCH, L. H.; FOES, G. K.; LARA, G. R.;  
511 WASIELESKY JR., W. 2012 Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos:  
512 análise de reutilização da água. *Atlântica*, 34 (2): 103-111.

513 KUHN, D., SMITH, S. A., BOARDMAN, G. D., ANGIER, M. W., MARSH, M., JR FLICK,  
514 G. J. 2010 Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*:  
515 impacts on survival, growth, antenna e length, and pathology. *Aquaculture*, 309 (1-4):  
516 109-114.

517 LEE, T. L. C.; MARINO, G. E. G. 2010 Microalgae for “healthy” foods possibilities and  
518 challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 655-675.

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

522 LOURENÇO, S.O. 2006 *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações*. São Carlos:  
523 Ri Ma. p. 606.

524 LUO, G.; AVNIMELECH, Y.; PAN, Y. F.; TAN, H. X. 2012 Inorganic nitrogen dynamics  
525 in sequencing Batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge.  
526 *Aquacultural Engineerin*, 52: 73-79.

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

531 MIRANDA-BAEZA, A.; MARISCAL-LOPEZ, M. A.; LOPEZ-ELIAS, J. A.; RIVAS-VEJA,  
532 M. E.; EMERENCIANO, M.; SANCHEZ-ROMERO, A. E; ESQUER-MENDEZ, J. L. 2017  
533 Effect of inoculation of the cyanobacteria *Oscillatoria* sp. on tilapia biofloc culture.  
534 *Aquaculture research*, 48: 4725-4734.

535 MONROY, M.; LARA, D.; CASTRO, J.; CASTRO, G.; EMERENCIANO, M. 2013  
536 Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al bioflocenun  
537 cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(3): 511-520.

538 MORONTA, R.; MORA, R.; MORALES, E. 2006 Respuesta de la microalga *Chlorella*  
539 *sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista*  
540 *de la Facultad de Agronomía*, 23(1): 28-43.

541 OGELLO, E. O.; MUSA, S. M.; AURA, C. M.; ABWAO, J. O.; MUNGUTI, J. M. 2014 An  
542 Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A  
543 review. *International Journal of Aquatic Science*, 5(1): 21-39.

544 RAY, A. J.; LEWIS, B. L.; BROWDY, C. L.; LEFFLER, J. W. 2010 Suspended solids removal  
545 to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based  
546 feed in minimal exchange, super intensive culture systems. *Aquaculture*, 299(1-4): 89-98.

547 RODRIGUES-SOARES, J. P.; JESUS, G. F. A.; GONÇALVES, E. L. T.; MORAES, K. N.;  
548 CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; BELO, M. A. A.; JATOBÁ, A.; MOURIÑO, J. L. P.;  
549 MARTINS, M. L. 2018 Induced aerocystitis and hemato-immunological parameters in Nile

550 tilapia fed supplemented diet with essential oil of *Lippia alba*. *Brazilian Journal of Veterinary*  
551 *Research and Animal Science*, 55(1): 1-12.

552 SAMOCHA, T. M.; PRANGNELL, D. I.; HANSON, T. R.; TREECE, G. D.; MORRIS, T.  
553 C.; CASTRO, L. F.; STARESINIC, N. 2017 *Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-*  
554 *Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*-*  
555 *The Texas A&M AgriLife Research Experience*. Louisiana: The World Aquaculture Society.  
556 368p.

557 SILVA, P. C.; KRONKA, S. N.; TAVARES, L. H. S.; SOUZA, V. L. 2002 Desempenho  
558 produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em diferentes densidades e trocas  
559 de água em "raceway". *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 24(4): 935-941.

560 SILVA, M. J. S. 2013 *Efeito agudo da amônia e do nitrito em tilápias *Oreochromis niloticus**  
561 *mantidas em baixa salinidade, Minas Gerais, Brasil*. Belo Horizonte. 48f. (Dissertação de  
562 Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais). Disponível em: <  
563 <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUOS-9LSHK8>> Acesso  
564 em: 20 nov. 2017.

565 SCHVEITZER, R.; COSTÓDIO, P. F. S.; SANTO, C. M. E.; ARANA, L. V.; SEIFFERT, W.  
566 Q.; ANDREATTA, E. R. 2013 Effect of different biofloc levels on microbial activity, water  
567 quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water  
568 exchange. *Aquacultural Engineering*, 56(1): 59-70.

569 SERVAITES, J. C; FAETH, J. L.; SIDHU, S.S. 2012 A dye binding method for  
570 measurement of total protein in microalgae. *Analytical Biochemistry*, 421: 75-80.

571 TACON, A. G. J.; CODY, J. J.; CONQUEST, L. D.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I. P.;  
572 DECAMPP, O. E. 2002 Effect of culture system on the nutrition and growth performance  
573 of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture*  
574 *Nutrition*, 8: 121-137.

575 TAVARES-DIAS, M. 2015 Aquicultura no Brasil novas perspectivas. In: TAVARES-  
576 DIAS, M. e MARIANO, W. S. *Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes*  
577 *cultivados*. Pedro & João editores, São Carlos. p. 11-30.

578 TIMMONS, M. B. e EBELING, J. M. 2007 Recirculating Aquaculture. *Biofiltration*. Ithaca,  
579 Nova Iorque, p. 275-318.

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

583 WINTROBE, M. M. 1934 Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes  
584 in the blood various vertebrates. *Folia Haematologica*, 5: 32-49.

585 YANBO W.; WENJU Z.; WEIFEN L.; ZIRONG X. 2006 Acute toxicity of nitrite on tilapia  
586 (*Oreochromis niloticus*) at different external chloride concentrations. *Fish Physiology and*  
587 *Biochemistry*, 32: 49-54.

588 ZAPATA, K. P.; BRITO, L. O.; LIMA, P. C. M.; VINATEA, L. A.; GALVEZ, A. O.;  
589 CÁRDENAS, J. M. V. 2017 Cultivo de alevines de tilapia en sistema biofloc bajo  
590 diferentes relaciones carbono/nitrógeno. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3): 399-407.

### **3- Considerações finais**

As variáveis de qualidade de água estiveram em quase todos os momentos do período experimental dentro da faixa de conforto para o cultivo da espécie *Oreochromis niloticus*, em todos os tratamentos estudados. A amônia e nitrito que se desenvolveram durante o cultivo não apresentaram toxicidade que pudesse causar danos aos animais. A sobrevivência, assim como o peso final, ganho de peso, biomassa e relação de conversão alimentar, não sofreram influência pelas diferentes densidades de inoculação da microalga *Chlorella vulgaris*.

Em relação aos índices hematológicos, foram encontradas diferenças significativas para a contagem dos eritrócitos e volume corpuscular médio, porém o volume globular (hematócrito) demonstrou igualdade estatística. O tratamento BFT<sub>10</sub> apresentou-se entre a faixa considerada padrão em relação às variáveis hematológicas, entretanto os demais tratamentos demonstraram alterações quanto a contagem de eritrócitos e o volume corpuscular médio.

Assim, tornam-se necessários estudos complementares que avaliem diferentes concentrações e frequências de adição dessa microalga, assim como o uso de outras espécies, principalmente que sejam formadoras de colônias, visando facilitar a agregação das mesmas aos flocos microbianos. Como também avaliar se a microalga exerce influência na saúde do animal entre as transferências das fases de cultivo.

#### 4- Referências

- AVAGYAN, A. B. New design & build biological systems through the use of microalgae addressed to sustainable development. **Journal of Environmental Protection, Scientific Research**, n. 1, p. 183-200, 2010.
- AVNIMELECH, Y. **Biofloc Technology – A practical guide book**. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, 2009, 182p.
- AZIM, M. E.; VERDEGEM, M. C. J.; MANTINGH, I., VAN DAM, A. A., BEVERIDGE, M. C. M. Ingestion and utilization of periphyton grown on artificial substrates by Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, v.34, p. 85–92, 2003.
- AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.283, p.29-35, 2008.
- BALLESTER, E. L. C.; ABREU, P. C.; CAVALLI, R. O.; EMERENCIANO, M.; ABREU, L.; WASIELESKY, W. J. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n.2, p. 163–172, 2009.
- BALLESTER, E. L. C.; MARZAROTTO, S. A.; CASTRO, C. S.; FROZZA, A.; PASTORE, I.; ABREU, P.C. Productive performance of juvenile freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in biofloc system, **Aquaculture Research**, v. 48, p. 4748–4755, 2017.
- BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge, New York: Cambridge University Press; 1994.
- BRANYIKOVA, I.; MARSALKOVA, B.; DOUCHA, J.; BRANYIK, T.; BISOVA, K.; ZACHLEDER, V.; VITTOVA, M. Microalgae – novel highly efficient starch producers. **Biotechnology Bioengineering**, v. 108, p.766–76, 2010.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557–577, 2010.
- BURFORD, M. A.; SMITH, D. M.; TABRET, S. J.; COMAN, F. E.; THOMPSON, P. J.; BARCLAY, M. C.; TOSCAS, P. J. The effect of dietary protein on the growth and survival of the shrimp, *Penaeus monodon* in outdoor tanks, **Aquaculture Nutrition**, v.10(1), p.15–23, 2004.
- COSTA, A.; FRÓES, R. **Produção de tilápias**. Programa Rio Rural. Manual Técnico 31. 52p. 2012.
- CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, p. 1-14, 2007.



- DEMPSTER, P.; BAIRD, D. J.; BEVERIDGE, M. C. M. Can fish survive by filter-feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspension. **Journal of Fish Biology**, v. 47, p. 7–17, 1995.
- DE SCHRYVER, P.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277(3-4), p. 125-137, 2008.
- DEY, M. M.; PARAGUAS, F.J.; BIMBAO, G.B.; REGASPI, P.B. Socioeconomics of disseminating genetically improved Nile tilapia in Asia: an introduction. **Aquaculture Economics & Management**, v. 4, p. 5–11, 2000.
- EL-SAYED, A-F.M. **Tilapia culture**. CABI Publishing, Oxfordshire, U.K., 2006, 277 p.
- EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry, Biomass Now — Cultivation and Utilization. In: MATOVIC, M. D., 2013. p. 301 – 328.
- EKASARI, J.; ANGELA, D.; WALUYO, S. H.; BACHTIAR, T.; SURAWIDJAJA, E. H.; BOSSIER, P.; DE SCHRYVER, P. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. **Aquaculture**, v. 426-427, p.105-111, 2014.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all**. Rome: FAO, 2016. 200 p.
- HARGREAVES, J. A. Biofloc production systems for aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center Publication**, n. 4503, p. 12, 2013.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Sistema IBGE de recuperação automática (SIDRA): banco de dados agregados**. Produção da aquicultura, por tipo de produto. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>>. Acesso: 10/01/2018.
- JUAREZ, L.M.; MOSS, S.M.; FIGUERAS, E. Maturation and larval rearing of the pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* V. Alday-Sanz (Ed.), **The Shrimp Book**, Nottingham University Press, Nottingham, p. 305-352, 2010.
- KAY, R. A. Microalgae as Food and Supplement. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 30(6), p. 555-573, 1991.
- KRUMMENAUER, D.; SEIFERT JR., C. A.; POERSCH, L. H.; FOES, G. K.; LARA, G. R.; WASIELESKY JR., W. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise de reutilização da água. **Atlântica**, v. 34, n. 2, p. 103-111, 2012.
- LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Manual on the production and use of live food for aquaculture. **FAO Fisheries Technical Paper**, n. 361. Rome: FAO, 1996. 295 p.
- LEE, T. L. C.; MARINO, G. E. G. Microalgae for “healthy” foods possibilities and challenges. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 655–675, 2010.

LOPES, D. L. A.; SUITA, S.; BUENO, C.; WASIELESKY, W. J.; POERSCH, L. H. Determinação da densidade de estocagem ótima do camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* produzindo em tecnologia de bioflocos durante a fase de berçário. **Atlântica**, v. 34, n. 2, p. 113-120, 2012.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: Ri Ma, 2006, p. 606.

LUCHINI, L. **Tilapia: su cultivo y sistemas de producción**. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca e Alimentos, Panorama Acuicola, Argentina. 14p. 2006.

MORONTA, R; MORA, R; MORALES, E. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 23(1), p. 28-43, 2006.

MISHRA, J. K.; SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; GANDY, R. L.; ALI, A. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. **Aquacultural Engineering**, v. 38, p. 2-15, 2008.

NOGUEIRA, A. C. **Manual do Piscicultor: Criação de Tilápias em Tanques-Rede**. Disponível em: < <http://www.emater.gov.br>>. Acesso: 10/01/2018.

OCELLO, E. O.; MUS, S. M.; AURA, C. M.; ABWAO, J. O.; MUNGUTI J. M. An appraisal of the feasibility of tilapia production in ponds using biofloc technology: A review. **International Journal of Aquatic Science**, v. 5(1), p. 21-39, 2014.

PIEDRAHITA, R. H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v. 226, p 35-44, 2003.

SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A. M.; BURGER, J. M.; ALMEIDA, R. V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D. L. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, v. 36, n. 2, p. 184-191, 2007.

SAMOCHA, T. M.; PRANGNELL, D. I.; HANSON, T. R.; TREECE, G. D.; MORRIS, T. C.; CASTRO, L. F.; STARESINIC, N. **Design and Operation of Super Intensive, Biofloc-Dominated Systems for Indoor Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*– The Texas A&M AgriLife Research Experience**. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, EUA, 2017. 368p.

SAMPAIO, L. A.; TESSER, M. B.; WASIELESKY, W. J. Avanços da maricultura na primeira década do século XXI: piscicultura e carcinocultura marinha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 102-111, 2010.

SERVAITES, J. C; FAETH, J. L.; SIDHU, S.S. A dye binding method for measurement of total protein in microalgae. **Analytical Biochemistry**, v. 421, p.75–80, 2012.

TACON, A. G. J., CODY, J. J., CONQUEST, L. D., DIVAKARAN, S., FORSTER, I. P., DECAMPP, O. E. Effect of culture system on the nutrition and growth performance

of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p.121–137, 2002.

XU, W. J.; PAN, L. Q. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1842-1851, 2014.

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

YAN, H.; PAN, G. Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgae species. **Chemosphere**, v. 49, p. 471-476, 2002.