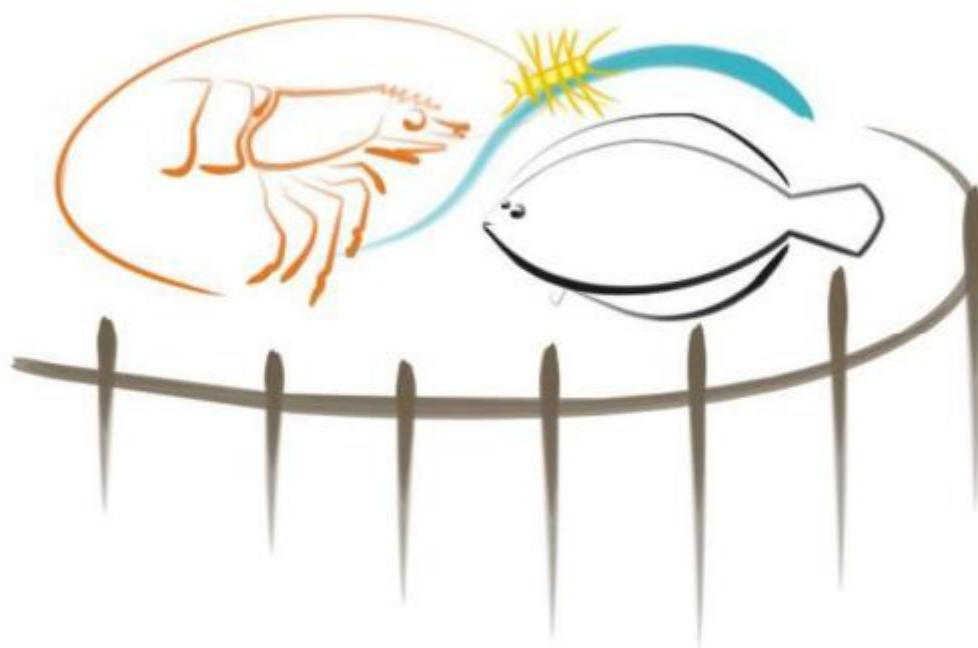


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



CULTIVO MULTITRÓFICO INTEGRADO (IMTA) EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS (BFT) COM DIFERENTES ABORDAGENS:
QUIMIAUTOTRÓFICO E HETEROTRÓFICO

JORGE RENATO TAGLIAFERRO DOS SANTOS JUNIOR

RIO GRANDE, RS

2023

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

CULTIVO MULTITROFICO INTEGRADO (IMTA) EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS (BFT) COM DIFERENTES ABORDAGENS:
QUIMIAUTOTRÓFICO E HETEROTRÓFICO

JORGE RENA O TAGLIAFERRO DOS SANTOS JUNIOR

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIS HENRIQUE DA SILVA POERSCH
CO-ORIENTADOR(a): PROF. DR(a). MARIANA HOLANDA

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do grau
de Mestre em Aquicultura pelo
Programa de Pós-Graduação em
Aquicultura da Universidade Federal
do Rio Grande.

RIO GRANDE, RS
JULHO DE 2023

DE DEFESA DA 226ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia dezenove de julho de dois mil e vinte e três, às dez horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, do **JORGE RENATO TAGLIAFERRO DOS SANTOS JUNIOR**, orientado pelo Prof. Dr. Luis Henrique Poersch composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Luis Henrique Poersch (orientador – IO/FURG), Prof.^a Dr.^a Mariana Holanda Paes Barboza (coorientadora - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - Chile), Prof. Dr. Dariano Krummenauer (IO/FURG) e o Prof. Dr. Davi Peñaranda (Universidad Politecnica de Valencia - Espanha). Título da dissertação: **“CULTIVO MULTITRÓFICO INTEGRADO (IMTA) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS (BFT) COM DIFERENTES ABORDAGENS: QUIMIAUTOTRÓFICO E HETEROTRÓFICO.”** Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Luis Henrique Poersch, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. O candidato **JORGE RENATO TAGLIAFERRO DOS SANTOS JUNIOR** foi considerado **APROVADO**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

PROF. DR. LUIS HENRIQUE POERSCH (ORIENTADOR – IO/FURG)

DR.^a MARIANA HOLANDA PAES BARBOZA (COORIENTADORA – PUCV - Chile)

PROF. DR. DARIANO KRUMMENAUER (IO/FURG)

PROF. DR. DAVI PEÑARANDA (UPV - Espanha)

JORGE RENATO TAGLIAFERRO DOS SANTOS JUNIOR

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

Ficha Catalográfica

S237c Santos Junior, Jorge Renato Tagliaferro dos.

Cultivo multitrófico integrado (IMTA) em sistema de bioflocos (BFT) com diferentes abordagens : quimiautotrófico e heterotrófico / Jorge Renato Tagliaferro dos Santos Junior. – 2023.
35 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2023.

Orientador: Dr. Luis Henrique da Silva Poersch.

Coorientadora: Dra. Mariana Holanda.

1. IMTA 2. Bioflocos 3. Nutrientes 4. Sólidos suspensos totais 5. Camarão 6. Tilápia 7. Fertilizações I. Poersch, Luis Henrique da Silva II. Holanda, Mariana III. Título.

CDU 639.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecária Vanessa Ceiglinski Nunes CRB 10/2174

61 **Índice**

62	Agradecimento.....	vi
63	Lista de Tabelas.....	vii
64	Lista de Figuras.....	viii
65	Resumo	ix
66	Abstract.....	x
67	1 Introdução Geral.....	1
68	2 Objetivos	8
69	2.1 Objetivo Geral.....	8
70	2.2 Objetivos Específicos	8
71	3 Material e Métodos	9
72	3.1 Ética animal.....	9
73	3.2 Local.....	9
74	3.3 Procedência dos animais e aclimação	9
75	3.4 Sistemas de cultivo e delineamento experimental.....	9
76	3.5 Manejo Alimentar.....	10
77	3.6 Qualidade da Água	11
78	3.7 Desempenho de Crescimento	11
79	3.8 Análise Estatística	12
80	4 Resultados	12
81	4.1 Qualidade da Água	12
82	4.2 Insumos	17
83	4.3 Desempenho de crescimento	18
84	5 Discussão	20
85	6 Conclusão	25
86	7 Referências Bibliográficas	26

88 **Agradecimento**

89 Agradeço a minha esposa Luana por sempre estar do meu lado, me ajudando, me
90 apoiando e por ser presente em mais um momento importante na minha vida, minha maior
91 incentivadora durante este mestrado, te amo.

92 Agradeço a toda minha família, mesmo de longe eu sei que estão torcendo por mim,
93 em especial a minha mãe, que sempre me incentivou aos estudos e nunca duvidou da
94 minha capacidade, obrigado por tudo.

95 Agradeço a todos os professores, em especial para os meus professores da pós
96 graduação em Aquicultura da FURG, mas também aqueles que foram meus professores
97 na escola e na graduação, obrigado por todo conhecimento repassado, gratidão.

98 Agradeço a meu orientador Dr. Luis Henrique da Silva Poersch e a minha Co-
99 orientadora Dr(a). Mariana Holanda, muito obrigado pela oportunidade e confiança.

100 Agradeço a equipe da GH4, obrigado Andrezza por sempre me ajudar durante todo
101 este trabalho, obrigado pelas ajudas nas análises e na construção desta dissertação,
102 obrigado Mayra por dividir as rotinas na ema e pelas ideias trocadas.

103 Agradeço também aos pós doutorandos, técnicos de laboratórios e aos terceirizados,
104 sem vocês todos os trabalhos que ocorrem na EMA não seria possível.

105 A todos meus colegas, muito obrigado pela ajuda, pelas conversas e troca de
106 conhecimentos nos corredores da EMA.

107 Por ultimo, mas não menos importante dos demais, meu muito obrigado a todos
108 financiadores do Programa: Capes, CNPq, FAPERGS, Finep e Astral, assim como todos
109 os apoiadores: Projeto Camarão, all-aqua, Aquatec, Guabi, Inve e Trevisan.

110

111

112

113

114

115

116

117 **Lista de Tabelas**

118	Tabela 1: Parâmetros de qualidade da água nos tratamentos TQ (quimioautotrófico) e	
119	TH (heterotrófico) ao longo de 86 dias experimentais.	13
120	Tabela 2: Relação das quantidades de insumos utilizados nos tratamentos TQ	
121	(quimioautotrófico) e TH (heterotrófico) ao longo de 86 dias experimentais.....	18
122	Tabela 3: Resultados de desempenho de crescimento e sobrevivência do camarão (<i>L.</i>	
123	<i>vannamei</i>) e tilápia (<i>O. niloticus</i>) produzidos em sistema multitrófico e bioflocos	
124	quimioautotrófico e heterotrófico por 86 dias.	19
125		
126		
127		
128		
129		
130		
131		
132		
133		
134		
135		
136		
137		
138		
139		
140		
141		
142		
143		

144 **Lista de Figuras**

145	Figura 1: Modelo demonstrativo de um sistema IMTA (Fonte: Google Imagens)	3
146	Figura 2: Exemplar de camarão branco do Pacífico <i>L. vannamei</i> e tilápia do Nilo <i>O.</i>	
147	<i>niloticus</i>	4
148	Figura 3: Modelo do sistema IMTA utilizado.	10
149	Figura 4: Níveis médios de nitrogênio amoniacal total nos tratamentos quimioautotrófico	
150	(TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença	
151	significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após teste t de Student	14
152	Figura 5: Níveis médios de nitrito nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e	
153	heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa	
154	entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student	15
155	Figura 6: Níveis médios de nitrato nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e	
156	heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa	
157	entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student.	15
158	Figura 7: Níveis médios de fosfato nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e	
159	heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa	
160	entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student.	16
161	Figura 8: Níveis médios de sólidos suspensos totais (SST) nos tratamentos	
162	quimioautotrófico (TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica	
163	diferença significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student	17
164		
165		
166		
167		
168		
169		
170		
171		
172		

173 **Resumo**

174 O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho do camarão *Litopenaeus*
175 *vannamei* e da tilápia *Oreochromis niloticus* em sistema multitrófico integrado (IMTA)
176 juntamente com a tecnologia de bioflocos (BFT) com diferentes predominâncias
177 bacterianas: quimioautotrófico e heterotrófico. Para a realização do trabalho foram
178 desenvolvidos dois tratamentos (em triplicata): TQ (quimioautotrófico) e TH
179 (heterotrófico). O tratamento TQ foi iniciado 46 dias antes da estocagem dos animais,
180 com fertilização inorgânica, utilizando sais de cloreto de amônia e nitrito de sódio. Já no
181 tratamento TH foi realizada fertilização orgânica após a estocagem dos animais, com
182 melaço de cana de açúcar assim que a amônia total (NAT) atingiu 1 mg L⁻¹. Foram
183 utilizados 400 camarões m⁻² (0,98 ± 0,04 g) e 45 alevinos de tilápia m⁻³ (25 ± 0,50 g),
184 mantidos durante 86 dias em tanques com 16 m³ e 4 m³ de volume útil, respectivamente.
185 Ocorrendo a recirculação contínua da água entre os tanques. Os parâmetros de qualidade
186 da água como temperatura, oxigênio e pH foram monitorados diariamente. Amônia total,
187 nitrito, nitrato, fosfato, sólidos suspensos totais e sólidos sedimentáveis eram monitorados
188 duas vezes na semana. Foram realizadas biometrias semanais dos camarões, e quinzenais
189 dos peixes para acompanhar o desempenho de crescimento dos animais. Com os dados
190 obtidos nestes procedimentos foram realizados os seguintes cálculos: peso médio final,
191 ganho de peso semanal, taxa de conversão alimentar, sobrevivência, ganho de biomassa
192 e produtividade. Os resultados demonstraram que a fertilização prévia no tratamento
193 quimioautotrófico (TQ) evitou altas concentrações dos compostos nitrogenados por um
194 longo período de tempo, devido ao estabelecimento previo das bactérias no sistema,
195 comparado ao tratamento heterotrófico (TH). O aumento dos compostos nitrogenados no
196 tratamento heterotrófico ocasionou em um maior uso de água, redução da ração e
197 consequentemente menor desempenho de crescimento do camarão comparado ao sistema
198 quimioautotrófico. O desempenho de crescimento do peixe não foi afetado pelos
199 tratamentos. Portanto, o uso de fertilizações prévias no tratamento quimioautotrófico
200 (TQ) possibilitou maior peso final e produtividade de camarão no sistema integrado, além
201 de maior sustentabilidade ambiental com zero renovação de água.

202

203 **Palavras-chaves:** IMTA, bioflocos, nutrientes, sólidos suspensos totais, camarão, tilápia,
204 fertilizações.

205 **Abstract**

206 The aim of the present work was to evaluate the performance of the shrimp
207 *Litopenaeus vannamei* and the tilapia *Oreochromis niloticus* in integrated multitrophic
208 system (IMTA) together with biofloc technology (BFT) with different bacterial
209 predominance: chemoautotrophic and heterotrophic. Two treatments were developed (in
210 triplicate): TQ (Chemoautotrophic) and TH (Heterotrophic). The TQ treatment initiated
211 46 days before stocking the animals, with inorganic fertilization, using ammonium
212 chloride and sodium nitrite salts. In the TH treatment, organic fertilization was performed
213 after stocking the animals, with sugar cane molasses as soon as total ammonia (TAN)
214 reached 1 mg L⁻¹. We used 400 shrimp m⁻² (0.98 ± 0.04 g) and 45 tilapia fingerlings m⁻³
215 (25 ± 0.50 g), kept for 86 days in tanks with 16 m³ and 4 m³ of usable volume,
216 respectively. Continuous recirculation of water between tanks occurred. Water quality
217 parameters such as temperature, oxygen, and pH were monitored daily. Total ammonia,
218 nitrite, nitrate, phosphate, total suspended solids, and settleable solids were monitored
219 twice a week. Weekly biometry of shrimp and biometry of fish were performed to follow
220 the growth performance of the animals. With the data obtained in these procedures the
221 following calculations were performed: average final weight, weekly weight gain, feed
222 conversion rate, survival, biomass gain, and productivity. The results showed that pre
223 fertilization in the chemoautotrophic treatment (TQ) avoided high concentrations of
224 nitrogen compounds for a longer period of time, due to the previous establishment of
225 bacteria in the system, compared to the heterotrophic treatment (TH). The increased
226 nitrogenous compounds in the heterotrophic treatment resulted in higher water use,
227 reduction of feed and consequently lower growth performance of the shrimp compared to
228 the chemoautotrophic system. The growth performance of fish was not affected by the
229 treatments. Therefore, the use of pre fertilization in the chemoautotrophic (TQ) treatment
230 provided higher final weight and productivity of shrimp in the integrated system, as well
231 as improved environmental sustainability with zero water renewal.

232

233 **Key words:** IMTA, biofloc, nutrients, total suspended solids, shrimp, tilapia, fertilization.

234 1 Introdução Geral

235 A intensificação da atividade aquícola favoreceu o surgimento e/ou agravamento de
236 diversos problemas, como por exemplo o descarte de efluentes sem o devido tratamento
237 (Naylor *et al.*, 2009). Os efluentes oriundos da produção aquícola, geralmente ricos em
238 compostos nitrogenados e matéria orgânica, quando liberado em corpos de água
239 receptores, podem se tornar uma fonte causadora de danos ao meio ambiente, podendo
240 ocasionar modificação da paisagem e possíveis mudanças no ecossistema local, além de
241 aumentar a disseminação de doenças, fator que exerce grande influência na produção
242 aquícola atual (Li *et al.*, 2019).

243 Para amenizar tais problemas, tem-se empregado novos sistemas de produção, como
244 a tecnologia de bioflocos - *Biofloc Technology* (BFT) (Wasielesky *et al.*, 2006). Este é
245 caracterizado pela mínima ou nenhuma troca de água, reduzindo a entrada de possíveis
246 organismos patogênicos, além de atuar no controle dos compostos nitrogenados, realizado
247 pela comunidade bacteriana presente no meio, podendo proporcionar maiores produções
248 em menor espaço e com melhor biossegurança (García-Ríos *et al.*, 2019; Robles-Porchas
249 *et al.*, 2020).

250 O sistema BFT caracteriza-se por possuir aglomerados de microrganismos, formados
251 por bactérias, fungos, protozoários e microalgas, bem como detritos (fezes,
252 exoesqueletos de animais mortos e restos de ração), denominados também de floco
253 microbiano ou bioflocos (Wasielesky *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2013). É considerado
254 fonte de ácidos graxos, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais e imunoestimulante
255 (Martínez-Córdova *et al.*, 2016; Moreno-Arias *et al.*, 2018). Em vista disso, pode ser
256 utilizado pelos organismos cultivados como alimento suplementar, reduzindo os gastos
257 com a dieta (García-Ríos *et al.*, 2019).

258 Um sistema BFT ainda pode ser categorizado em relação à predominância bacteriana
259 presente no mesmo, diante disso podemos destacar duas principais classificações: (i)
260 sistema BFT heterotrófico, com predominância de bactérias heterotróficas, que
261 apresentam alta capacidade de reduzir a amônia do sistema, primeiro componente do ciclo
262 do nitrogênio, que é altamente tóxico para organismos aquáticos de cultivo e transforma-
263 la em biomassa bacteriana e (ii) sistema BFT quimioautotrófico no qual tem a

predominância de dois grupos bacterianos, que são as, AOB (baterias amônia-oxidantes) e as NOB (bactérias nitrito-oxidantes).

No primeiro sistema, as bactérias heterotróficas surgem e se proliferam rapidamente devido a adição e manipulação de uma fonte de carbono orgânico como o melaço da cana de açúcar, glicose, farelo de trigo, celulose e o nitrogênio, que serve como energia para realização de seus processos metabólicos, (García-Ríos *et al.*, 2019; Khanjani *et al.*, 2016). Porém este rápido crescimento pode gerar um aumento dos sólidos suspenso totais (SST) (Ferreira *et al.*, 2020), uma vez que a atividade metabólica deste grupo bacteriano produz cerca de 8,07g de biomassa bacteriana e 9,65g de dióxido de carbono ao consumir 4,71g de oxigênio dissolvido, 3,75g de alcalinidade e 15,17g de carboidratos (Ebeling *et al.*, 2006).

Quando os níveis de SST forem superiores a 300 mg L⁻¹, é fundamental a remoção periódica desse conteúdo através de clarificadores, o que acaba gerando um aumento no custo da produção (Gaona *et al.*, 2016); entretanto, se os níveis de SST forem muito baixos podem ocorrer problemas com a nitrificação ou com as taxas de assimilação do nitrogênio (Fleckenstein *et al.*, 2020). Sendo assim, é indicado que os níveis de SST permaneçam entre 100 e 300 mg L⁻¹ para que o sistema apresente funcionamento adequado e os organismos possam atingir seu máximo desenvolvimento (Gaona *et al.*, 2015).

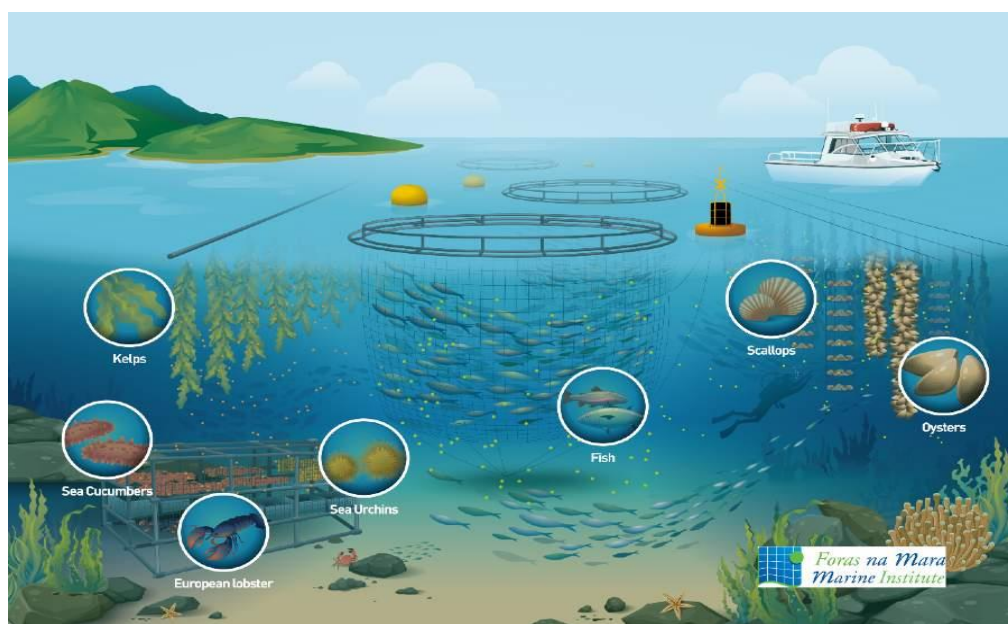
Já no sistema quimioautotrófico, a predominância bacteriana é subdividida em dois grupos, sendo o primeiro grupo responsável por reduzir a amônia para nitrito, constituído pelos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio*, dentre os quais o gênero *Nitrosomonas* é o mais conhecido, e o segundo grupo bacteriano formado pelos gêneros *Nitrobacter* (gênero mais conhecido), *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina*, irão converter o nitrito para nitrato, produto final do processo de nitrificação de menor toxicidade (Ebeling., 2006; Madigan *et al.*, 2016).

Ao contrário das bactérias heterotróficas, o grupo quimioautotrófico apresenta uma taxa de crescimento lento, consome 4,18g de oxigênio dissolvido e 7,0g de alcalinidade para sua manutenção metabólica, ocasionando uma produção de 0,20g de biomassa bacteriana e 5,85g de dióxido de carbono (Ebeling., 2006), 40x menos biomassa que as bactérias heterotróficas, o que reduz o acúmulo de SST no sistema. No entanto, o consumo elevado de carbono inorgânico (carbonatos) provoca uma redução do pH e

296 alcalinidade da água de produção, podendo afetar diretamente o desenvolvimento dos
297 animais exigindo então a correção desses parâmetros quando os níveis não forem
298 adequados para a espécie (Furtado *et al.*, 2014).

299 Além disto, como a troca de água neste sistema é mínima ou nula, substâncias como
300 nitrato (composto nitrogenado de menor toxicidade) e fosfato (nutriente oriundo da
301 lixiviação da dieta dos organismos produzidos) acumulam-se gradualmente durante os
302 ciclos produtivos (Da Silva *et al.*, 2013). O acúmulo destes elementos residuais e do SST
303 pode provocar problemas como incrustações de brânquias, altas taxas de consumo do
304 oxigênio, infecções bacterianas e o desbalanço nos parâmetros físicos e químicos da água
305 (Schveitzer *et al.*, 2013).

306 Para minimizar estes problemas, alguns autores (Khanjani *et al.*, 2022; Holanda *et al.*,
307 2022) têm buscado soluções através da associação da tecnologia BFT e do sistema
308 *Integrated Multitrophic Aquaculture* (IMTA). O sistema IMTA visa o melhor
309 aproveitamento dos resíduos orgânicos e inorgânicos (Chopin, 2015), já que nele são
310 cultivadas espécies de diferentes níveis tróficos em conjunto (Figura 1), com funções
311 complementares no ecossistema, que inclui espécies alimentadas, como peixes e/ou
312 camarões, espécies filtradoras, como moluscos e peixes onívoros, além de consumidores
313 inorgânicos como macroalgas ou microalgas e halófitas (Ekasari *et al.*, 2014; David *et*
314 *al.*, 2017).



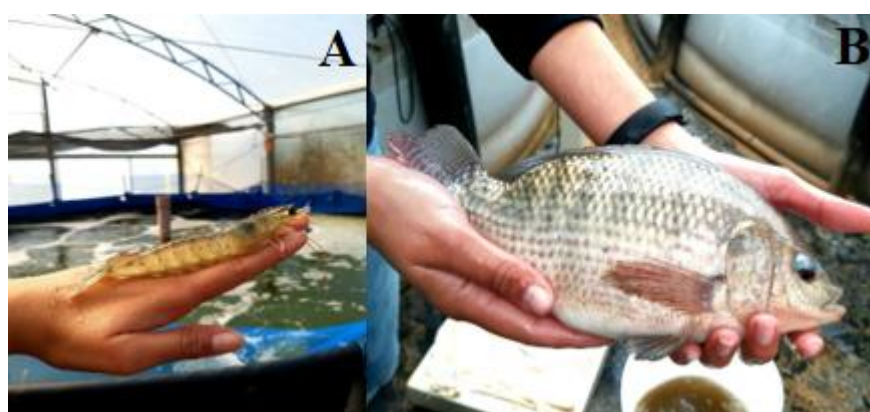
315
316 **Figura 1:** Modelo demonstrativo de um sistema IMTA (Fonte: Pauline O'Donohoe – Marine Institute -
317 Irlanda).

318 Este sistema propõe uma gestão equilibrada do ecossistema com foco na
319 sustentabilidade da atividade aquícola e maior aceitação social, a diversificação de
320 produtos, além de redução de riscos. É definido como “uma prática em que os
321 subprodutos de uma espécie são reciclados e se tornam insumos para outra espécie”,
322 apresentando uma abordagem mais ecológica para a atividade aquícola (Kleitou *et al.*,
323 2018; Rosa *et al.*, 2019).

324 No IMTA, as espécies extrativistas orgânicas e inorgânicas desempenham um
325 importante papel, pois reduzem os resíduos gerados pelos peixes e/ou camarões e também
326 os resíduos de nutrientes provenientes da nitrificação que se acumulam durante a
327 produção. Portanto, o que antes era tratado como efluente e um problema ambiental,
328 torna-se matéria prima a ser utilizada para nutrir organismos de níveis tróficos inferiores
329 e, ao mesmo tempo, agregar valor ao cultivo (Chopin, 2015; Poli *et al.*, 2019).

330 Contudo, para que o sistema funcione, é necessário que a escolha das espécies a serem
331 produzidas seja realizada de forma criteriosa, uma vez que cada espécie irá desempenhar
332 funções importantes e fundamentais para o devido funcionamento do sistema (Reid *et al.*,
333 2018; Chopin., 2018). Neste contexto, espécies como o *L. vannamei* (Figura 2A) e a
334 tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Figura 2B) são alternativas a serem consideradas,
335 uma vez que além de apresentarem rusticidade e boa adaptabilidade a diversos tipos de
336 sistemas de produção têm grande aceitação pelo mercado consumidor.

337



338

339 **Figura 2:** Exemplos de (A) camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* e (B) tilápia do Nilo
340 *Oreochromis niloticus* (Fonte: Andrezza Carvalho).

341

342 A produção do *L. vannamei* destaca-se no cenário da aquicultura mundial, ocupando
343 o primeiro lugar com 51,7% da produção dentre as espécies de crustáceos produzidas pela
344 atividade (FAO, 2022). Seu sucesso se deve a características desejáveis para integrar uma
345 produção, visto que pode ser produzido sob variações de temperatura de 23 a 30 °C,
346 salinidade de 25 a 30 ppm e uma ampla exigência proteica na dieta variando de 20 a 40%
347 sem afetar seu rápido crescimento (Gao *et al.*, 2016; Araneda *et al.*, 2020).

348 Já a tilápia, uma das espécies de peixe mais produzida no Brasil (Roriz *et al.*, 2017),
349 também apresenta grande resistência a variações de temperatura e salinidade (FAO, 2018)
350 e devido a seu hábito alimentar onívoro é capaz de se alimentar dos detritos orgânicos
351 presentes no meio (Ekasari *et al.*, 2015), o que a torna uma alternativa para compor o
352 sistema IMTA + BFT.

353 Neste contexto, alguns autores têm avaliado o cultivo integrado entre o camarão *L.*
354 *vannamei* e diversas espécies de peixes, bivalves e macroalgas em sistemas BFT. Holanda
355 *et al.* (2020) e Poli *et al.* (2019) observaram uma redução do SST no sistema ao avaliarem
356 o cultivo integrado do camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) com tainha (*M. liza*) e
357 tilápia do nilo (*O. niloticus*), respectivamente. Em ambos os trabalhos, os autores
358 constataram o consumo dos flocos microbianos pelas espécies de peixe, o que gerou uma
359 redução nos custos, uma vez que o SST normalmente é removido mecanicamente por
360 clarificadores que encarecem a produção (Gaona *et al.*, 2016).

361 Já Costa *et al.* (2021), ao analisarem o cultivo integrado da ostra (*Crassostrea gasar*)
362 e do camarão (*L. vannamei*) em sistema BFT notaram uma preferência dos bivalves por
363 um grupo específico de microrganismos flagelados; apesar disso, os autores constataram
364 que não houve redução significativa do SST no sistema, porém afirmam que a espécie
365 pode agregar valor ao cultivo. Tal afirmação abre novas possibilidades de estudos com
366 outras espécies de ostras com caráter econômico, como a vieira (*Pantinopecten*
367 *yessoensis*) e a *Crassostrea gigas* (Rosa *et al.*, 2020).

368 Neste sistema também é possível produzir espécies consumidoras inorgânicas -
369 macroalgas e halófitas - que têm como objetivo reduzir os nutrientes (nitrato e fosfato)
370 dissolvidos na água, uma vez que durante o ciclo de cultivo o acúmulo destes compostos
371 é inevitável (Du *et al.*, 2013). Brito *et al.* (2013) avaliaram a produção, em sistema BFT,
372 com a macroalga *Ulva lactuca* de forma integrada com o *L. vannamei* e obtiveram
373 resultados positivos com redução do nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito e fosfato

em 25,9%, 72,8% e 24,6%, respectivamente; ademais, os autores relataram maior ganho de peso total dos camarões.

Resultados semelhantes foram observados por Poli *et al.* (2019) ao analisarem a produção de *Sacocornia ambigua* e *L. vannamei* em sistema IMTA + BF, no qual observaram uma redução significativa do nitrato no sistema devido a presença da halófito. Já Brito *et al.* (2014) observaram que ao incluírem duas espécies de algas marinhas *Gracilaria birdiae* e *G. domingensis* em sistema BFT integrado com *L. vannamei*, expostos ao vírus da síndrome da mancha branca (WSSV), os parâmetros como sobrevivência, peso final, ganho de peso e crescimento semanal dos camarões foram melhores nos tratamentos com a presença das algas; além disso, nos mesmos tratamentos, os autores relataram uma pequena redução do nitrato.

Em trabalho recente, Carvalho *et al.* (2023) também verificaram menores concentrações de compostos nitrogenados no cultivo integrado da macroalga *U. lactuca* e *L. vannamei* em sistema BFT. Os mesmos autores relataram que nos tratamentos com a presença da macroalga houve redução de SST, reduzindo o tempo necessário para o processo de clarificação. No entanto, tais resultados foram devido a maior deposição das partículas sobre a *U. lactuca*, resultando em redução da biomassa final deste organismo, uma vez que esta deposição de sólidos pode se caracterizar como fator estressante ao impedir a absorção de luz e a realização da fotossíntese.

Além da utilização de organismos consumidores de floco, como por exemplo a tilápia (Oliveira *et al.*, 2021), uma alternativa para o controle dos sólidos seria a realização da produção em sistema BFT quimioautotrófico, que apresenta menor carga orgânica, devido a lenta proliferação da comunidade bacteriana. Tal problema demonstra a necessidade do desenvolvimento de sistemas BFT com reduzidas quantidades de SST, principal proposta do biofloco quimioautotrófico.

Devido a combinação dos sistemas (IMTA + BFT) ser algo relativamente novo, o custo de implementação e o pouco conhecimento complexo entre as interações das espécies pode ser um entrave para o início de uma produção de tamanho comercial, porém a associação de ambos os sistemas pode proporcionar inúmeras vantagens para a atividade aquícola, uma vez que o IMTA agiria como “biorremediador” minimizando os principais problemas do BFT convencional como o acúmulo de SST, nitrato e fosfato, além de gerar uma biomassa alternativa na produção, tornando o sistema mais seguro e lucrativo

406 (Gamito *et al.*, 2020). Ainda, a combinação entre tais sistemas de produção com as
407 diferentes predomionâncias bacterianas (heterotrófica e quimioautotrófica) do sistema
408 BFT pode fornecer resultados positivos em relação a redução de efluentes (Khanjani *et*
409 *al.*, 2022).

410 Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a produção do camarão (*L. vannamei*)
411 e tilápia (*O. niloticus*), produzidos em sistemas IMTA com tecnologia BFT com
412 diferentes fertilizações na formação do biofloco, quimioautotrófico e heterotrófico, além
413 da possível redução dos efluentes gerados.

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436 2 Objetivos

437 2.1 Objetivo Geral

438 Avaliar a produção do camarão (*L. vannamei*) e da tilápia do Nilo (*O. niloticus*)
439 em cultivo multitrófico integrado (IMTA) com sistema de bioflocos (BFT) dominados
440 por bactérias quimioautotróficas e heterotróficas.

441

442 2.2 Objetivos Específicos

443 - Avaliar a eficiência do uso de sais de cloreto de amônia e nitrito de sódio para formação
444 do sistema de bioflocos dominados por bactérias quimioautotróficas;

445 - Avaliar a eficiência da adição de carbono orgânico (melaço de cana de açúcar) para a
446 formação do sistema de bioflocos predominantemente heterotrófico.

447 - Determinar os parâmetros de qualidade da água da produção integrada de camarão e
448 tilápia em sistema BFT com duas abordagens (quimioautotrófica e heterotrófica);

449 - Avaliar o desempenho zootécnico do camarão e da tilápia, produzidos de forma
450 integrada em sistema BFT com duas abordagens (quimioautotrófica e heterotrófica);

451

452 **3 Material e Métodos**

453 **3.1 Ética animal**

454 O protocolo experimental para o desenvolvimento deste trabalho foi submetido e
455 aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do
456 Rio Grande – FURG; protocolo nº 23116.005895/2016-42.

458 **3.2 Local**

459 O experimento foi conduzido na Estação Marinha de Aquacultura (EMA), Instituto
460 de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

462 **3.3 Procedência dos animais e aclimação**

463 As pós-larvas de camarão (*L. vannamei*) foram adquiridas de um laboratório
464 comercial (Aquatec®, Canguaretama, Rio Grande do Norte, Brasil) e transportadas até a
465 EMA, onde foram mantidas em um tanque *raceway* em estufa agrícola com BFT até o
466 início do experimento. Os alevinos de tilápia (*O. niloticus*) foram obtidos de uma
467 piscicultura comercial (Camaquã, Rio grande do Sul) e mantidos em uma estufa em dois
468 tanques de 4 m³ de volume útil com água clara e aeração constante. Previamente ao início
469 do experimento, durante 10 dias, os alevinos foram aclimatados para a salinidade de 20
470 ppm. Para isso, 10% da água doce era substituída por água do mar a cada dois dias.

472 **3.4 Sistemas de cultivo e delineamento experimental**

473 O experimento teve duração de 86 dias após a estocagem dos animais e foi conduzido
474 em estufa agrícola. Cada sistema de produção era composto por um tanque de 20m² de
475 área e 16m³ de volume útil, onde foram estocados 400 camarões/m² (8.000 camarões) e
476 um tanque de 4m³ de volume útil, no qual foram estocados 45 alevinos de tilápia/m³ (180
477 peixes). Todos os tanques apresentavam aeração constante individual por mangueiras de
478 difusão (Aero Tube®) acopladas a um soprador de ar de 4 HP.

479 A água dos tanques era recirculada com o auxílio de uma bomba submersa BOYU
480 (4.000 L/h), instalada no tanque dos camarões que bombeava para o tanque das tilápias,
481 e, por gravidade, retornava para o tanque dos camarões (Figura 3). Todos os tratamentos
482 foram expostos a um fotoperíodo natural.

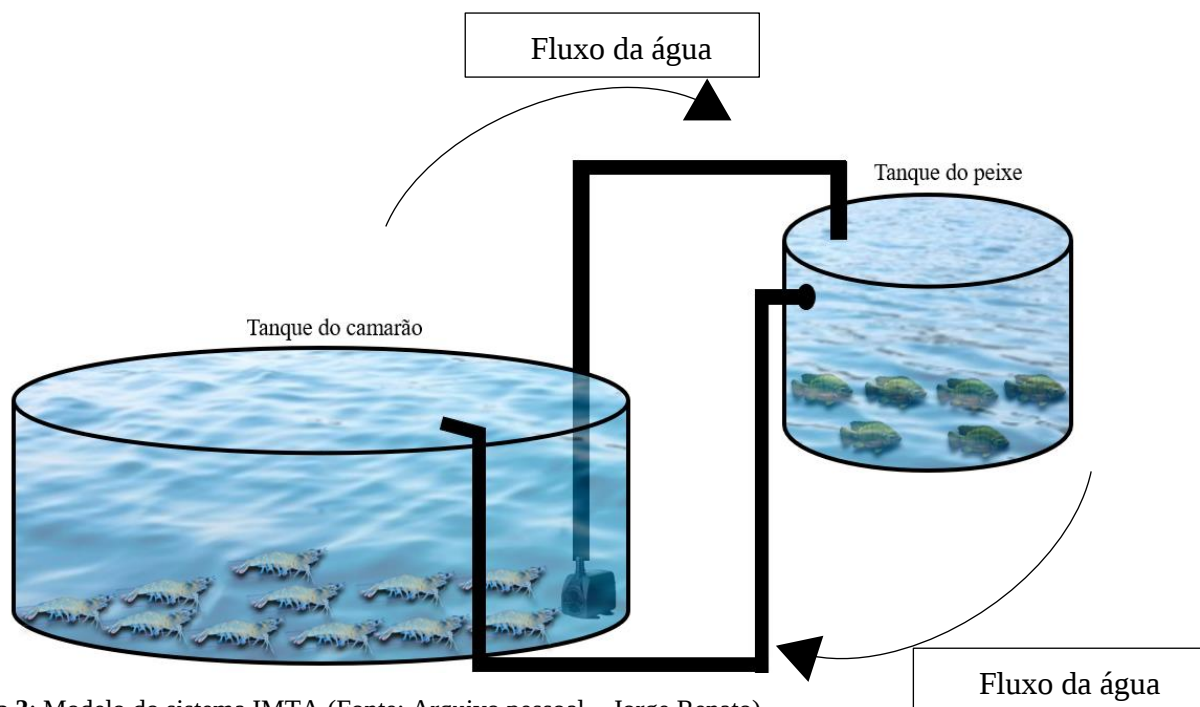


Figura 3: Modelo do sistema IMTA (Fonte: Arquivo pessoal – Jorge Renato).

O experimento teve dois tratamentos: TQ (tratamento quimioautotrófico) e TH (tratamento heterotrófico) com três repetições cada. Para o desenvolvimento do sistema quimioautotrófico, três tanques de 16m³ de volume útil ao acaso foram selecionados e fertilizados individualmente e diariamente durante 47 dias antes do início do experimento com 1,0 mg L⁻¹ de cloreto de amônio (NH₄Cl) e 1,0 mg L⁻¹ de nitrito de sódio (NaNO₂) sem exposição a luz, para estimular o crescimento das bactérias nitrificantes conforme descrito por Ferreira *et al.*, (2020). Outros três tanques que compunham o sistema heterotrófico, após a estocagem dos animais a concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) foi monitorado diariamente até que atingisse 1,0 mg L⁻¹. A partir deste momento foi adicionado melaço de cana de açúcar, na relação 15C:1N, até as concentrações de NAT estabilizarem (Avnimelech, 1999; Ebeling *et al.*, 2006).

3.5 Manejo Alimentar

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) com ração comercial específica para a espécie e tamanho. Para os camarões a ração utilizada foi Guabi Active 40, 1.6mm, (40% de proteína bruta) e para as tilápias Guabi Mirim 2mm (36% de proteína bruta). A taxa de arraçoamento dos camarões foi acompanhada através da metodologia de Jory *et al.* (2001), enquanto as tilápias foram subalimentadas com 1% da biomassa do tanque durante todo o período experimental para estimular o consumo dos bioflocos, igual proposto por (Holanda *et al.*, 2022).

506 3.6 Qualidade da Água

507 O oxigênio dissolvido, temperatura foram verificados duas vezes ao dia com o auxílio
508 de um oxímetro digital (YSI modelo Pro-20, EUA), sempre antes do arraçoamento dos
509 animais, pH (pHmetro de bancada – Mettler Toledo, FEP20, Brasil) foi analisado uma
510 vez ao dia no período da manhã, sempre antes da primeira dieta fornecida aos animais. A
511 salinidade foi mensurada uma vez na semana com um multiparâmetro (HANNA HI9829)
512 e foi mantida entre 18 e 20. Para controlar a salinidade era feito a adição de água doce no
513 sistema para corrigir a perda por evaporação. As amostras de água para todas as análises
514 sempre foram coletadas do tanque dos camarões.

515 O nitrogênio amoniacal total e nitrito foram analisados diariamente (UNESCO, 1983;
516 Bendschneider & Robinson, 1952) em ambos os tratamentos até a sua redução e
517 surgimento de nitrato no sistema, indicando que a nitrificação estava ocorrendo. Após o
518 surgimento de nitrato essas análises passaram a ser feitas duas vezes na semana.

519 Duas vezes por semana, foram medidas as concentrações de nitrato, ortofosfato
520 (Amionot & Chaussepied, 1983) e alcalinidade (APHA, 1989). O pH e a alcalinidade
521 eram corrigidas com a aplicação de hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$ quando os valores
522 estavam menores que 7,5 e 150 mg L⁻¹, respectivamente (Furtado *et al.*, 2014).

523 Os sólidos suspensos totais (SST – Strickland & Parsons, 1972) e os sólidos
524 sedimentáveis (SS) através do cone *imhoff* (Eaton 1995), também foram analisados duas
525 vezes na semana. Para o controle e redução dos SST, foram utilizados clarificadores
526 cônicos de fibra de vidro de (250 L) sempre que os SST chegassem em 350 mg L⁻¹, sendo
527 os clarificadores ligados de acordo com a necessidade.

528 Para o favorecimento de bactérias não patogênicas foi feito a adição de probiótico para
529 peixes e crustáceos duas vezes na semana (dose recomendada pelo produto), favorecendo
530 o desenvolvimento de grupos bacterianos não patogênicos aos animais.

531

532 3.7 Desempenho de Crescimento

533 Para determinação do desempenho de crescimento foram realizadas biometrias
534 semanais e quinzenais, para os camarões (50 ind/tanque) e peixes (10 ind/tanque),
535 respectivamente. Para isso, os animais eram retirados dos tanques com o auxílio de um
536 puçá, os camarões eram acondicionados em um balde de 50 L contendo água do tanque e
537 levados para a sala de pesagem e pesados individualmente.

Os peixes também foram capturados com puçá, acondicionados em um balde de 50L contendo água do tanque e levados para a sala de pesagem, na sala de pesagem os animais foram anestesiados com 50 mg L⁻¹ com cloridrato de benzocaína (Braz et al., 2017) a pesagem era dividida, feito isso os animais eram transferidos para um balde de recuperação e posteriormente também devolvidos para o respectivo tanque.

Para a pesagem dos animais foi utilizada uma balança digital com precisão de 0,01g (Marte Científica, AD 2000, Brasil). Os seguintes cálculos foram realizados para o desempenho de crescimento:

- Peso médio final (g) = $\sum$ peso final dos animais vivos (g) / n° total de animais;
- Ganho de peso semanal (g semana⁻¹) = ganho de peso (g) / n° de semanas;
- Taxa de conversão alimentar aparente (FCA, g) = ração ofertada (g) / (biomassa final (g) – biomassa inicial (g));
- Sobrevivência (%) = (n° final de animais / n° inicial de animais) × 100;
- Ganho de biomassa (GB, g) = $\sum$ peso final de todos os animais vivos (g);
- Produtividade (P, Kg.m⁻³) = [(biomassa final (Kg) – biomassa inicial (Kg)) × 1000] / volume útil do tanque (L);

3.8 Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. A homogeneidade das variâncias e a normalidade dos dados foram previamente testadas pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente, quando não mostravam homogeneidade e normalidade esses dados eram transformados. Uma vez que os pressupostos foram atendidos, os dados foram submetidos ao teste t de Student. As análises foram realizadas com um nível mínimo de significância de 5% ou p<0,05 (Zar, 2010).

4 Resultados

4.1 Qualidade da Água

Os parâmetros de qualidade da água oxigênio dissolvido (OD), pH e NAT foram significativamente maiores (p<0,05) no tratamento TH em relação ao tratamento TQ. Os demais parâmetros como temperatura, alcalinidade, salinidade, SST e SS não diferiram entre os tratamentos durante o período experimental (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros de qualidade da água nos tratamentos TQ (quimioautotrófico) e TH (heterotrófico) ao longo de 86 dias experimentais.

Tratamento	TQ	TH
Temperatura (°C)	27,39 ± 1,97 (32,40 – 21,00)	27,27 ± 2,31 (32,80 – 20,30)
OD (mg L ⁻¹)	5,57 ± 0,49 (7,07 – 3,92)	5,76 ± 0,49 (7,71 – 4,15)
pH	7,79 ± 0,09 ^b (8,13 – 7,20)	7,83 ± 0,13 ^a (8,27 – 6,67)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	169,5 ± 18,8 (230 – 120)	162,2 ± 18,5 (205 – 95)
Salinidade	20,99 ± 0,79 (25,44 – 16,35)	24,65 ± 1,03 (28,50 – 21,41)
NAT (mg L ⁻¹)	0,76 ± 1,18 ^b (5,70 – 0,02)	1,78 ± 2,37 ^a (9,30 – 0,02)
NO ₂ -N (mg L ⁻¹)	3,04 ± 3,09 (15,00 – 0,14)	7,88 ± 7,50 (22,00 – 0,02)
NO ₃ -N (mg L ⁻¹)	77,3 ± 48,53 (175,85 – 13,10)	47,18 ± 42,45 (154,70 – 0)
PO ₄ -P (mg L ⁻¹)	3,46 ± 2,53 (16,00 – 0,02)	2,58 ± 2,07 (9,00 – 0,01)
SST (mg L ⁻¹)	313,11 ± 84,52 (535 – 113)	281,29 ± 81,23 (530 – 107)
SS	11,91 ± 7,92 (35 – 0,80)	10,19 ± 6,84 (40 – 0,50)

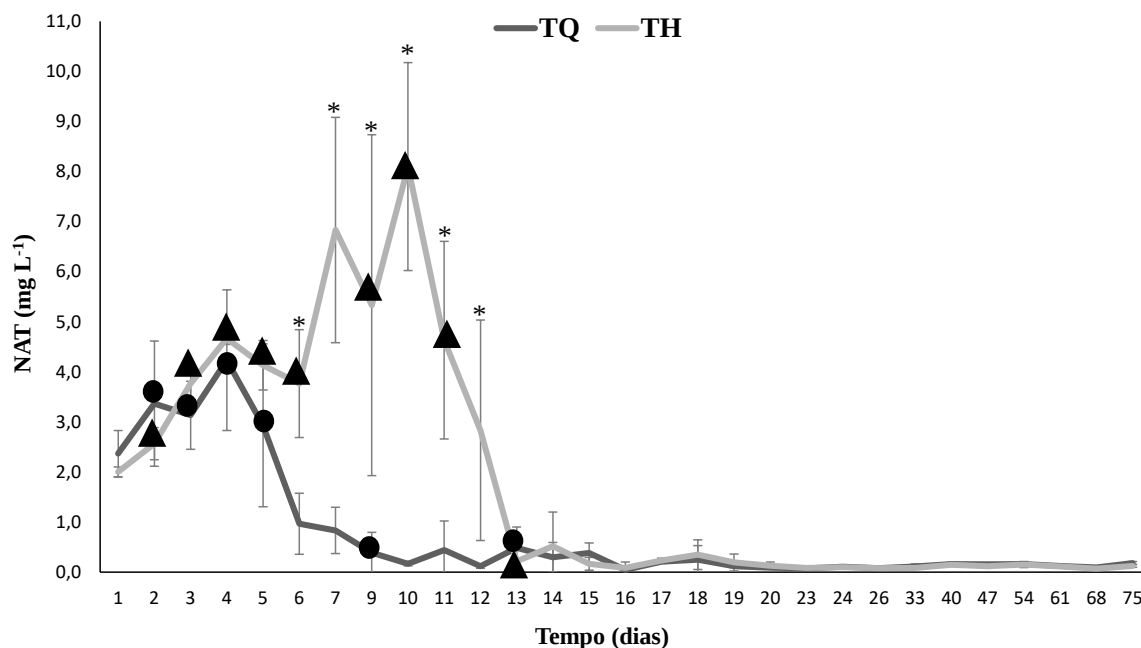
Os dados são expressos como média ± desvio padrão, valores máximos e mínimos. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os tratamentos após teste t de Student. Abreviações: OD, oxigênio dissolvido; NAT, nitrogênio amoniacal total; SST, sólidos suspensos totais; SS, sólidos sedimentáveis.

Porém, os demais parâmetros apresentaram diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos em determinados períodos durante o ciclo produtivo. A amônia total foi

significativamente maior entre o 6º e 12º dias experimentais no tratamento TH, já no 13º este parâmetro foi significativamente maior ($p<0,05$) no tratamento TQ (Figura 4).

O nitrito foi significativamente maior ($p<0,05$) no tratamento TQ do 0 ao 6º dia, após isto, não apresentou diferença entre os tratamentos até o 23º dia experimental, no qual o tratamento TH passou a apresentar valores significativamente maiores ($p<0,05$) até o 44º dia (Figura 5).

O tratamento TQ apresentou valores significativamente maiores ($p<0,05$) de nitrato em relação ao tratamento TH no 3º dia, 19º ao 68º e 75º ao 86º (Figura 6); bem como fosfato do 26º ao 30º, 37º ao 40º, 51º, 58º ao 61º, 75º ao 79º e 86º dias (Figura 7).



587

588 **Figura 4:** Níveis médios de nitrogênio amoniacal total nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e
 589 heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa entre os tratamentos
 590 no mesmo dia, após teste t de Student. ● Indica aplicação de melão no tratamento quimioautotrófico, ▲
 591 indica aplicação de melão no tratamento heterotrófico, (NAT = nitrogenio amoniacal total).

592

593

594

595

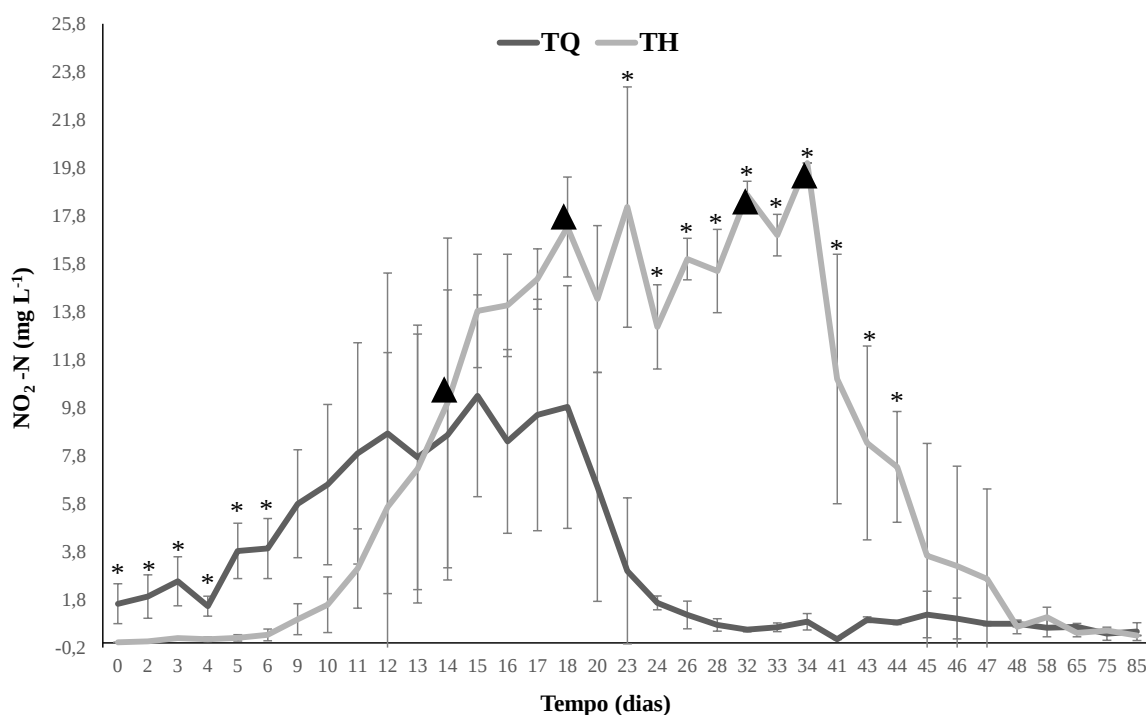


Figura 5: Níveis médios de nitrito nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student. ▲ Indica as renovações de água no tratamento heterotrófico.

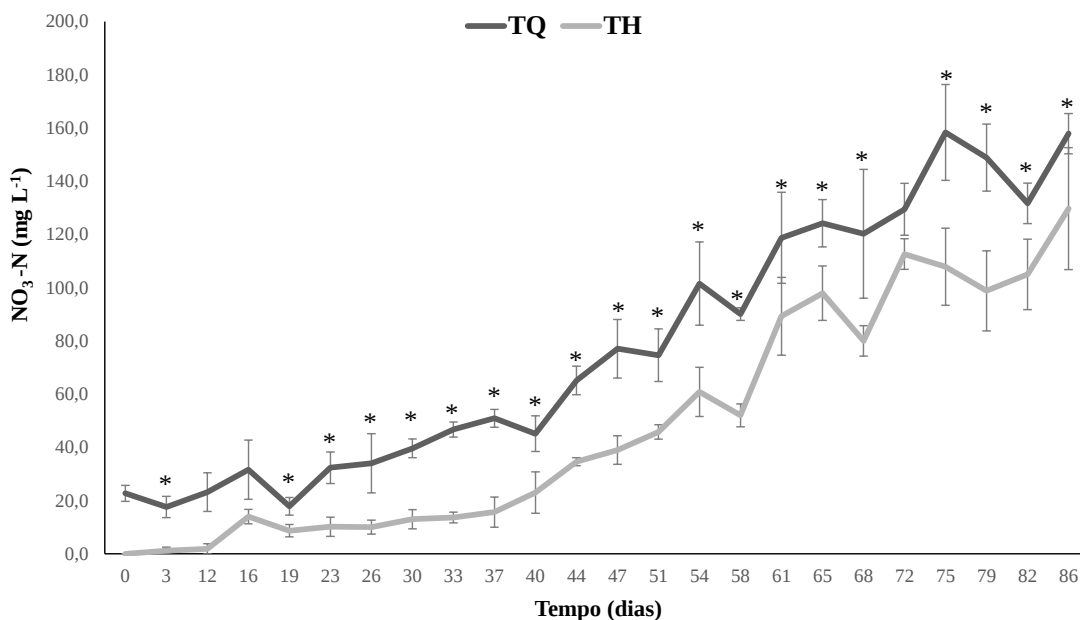


Figura 6: Níveis médios de nitrato nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student.

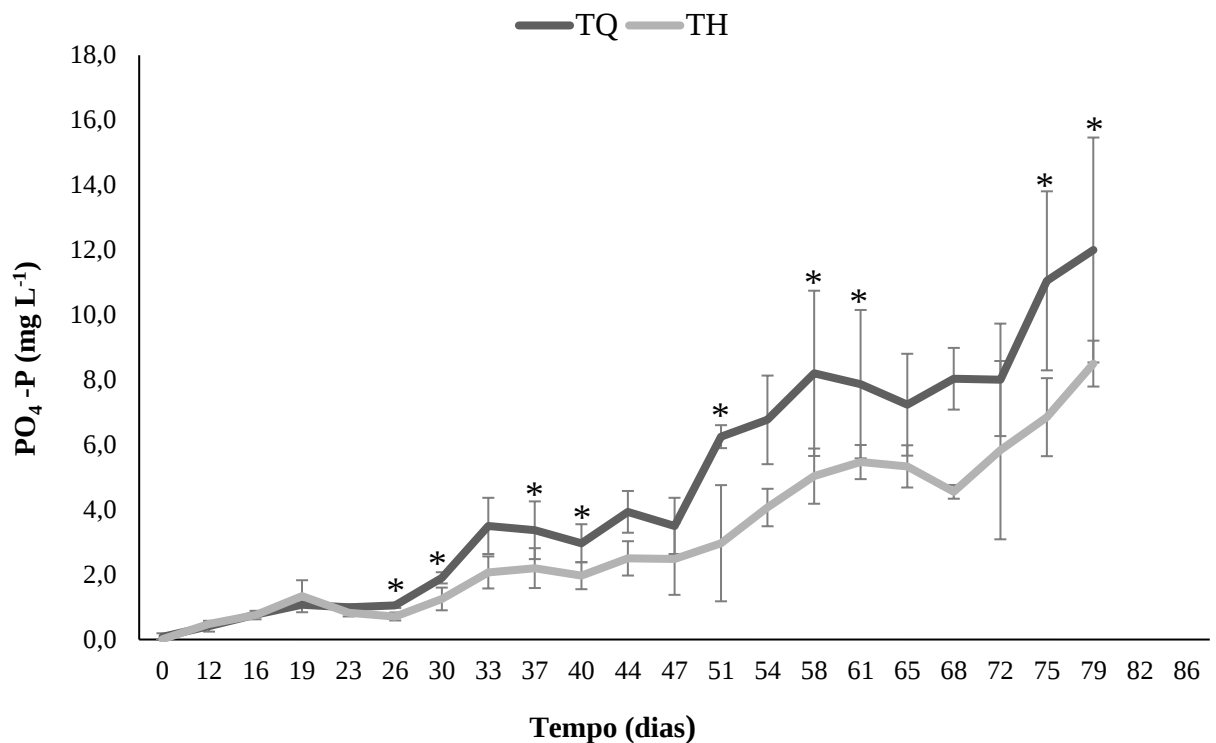


Figura 7: Níveis médios de fosfato nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student.

O SST foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento TH no 13º e 17º dia, já nos dias 24º e 31º os valores foram significativamente maiores ($p < 0,05$) no tratamento TQ (Figura 8).

Os valores de SS foram significativamente maiores ($p < 0,05$) no tratamento TH no 16º, 76º e 80º dia, e apenas no 24º dia o tratamento TQ apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,05$) de SS em relação ao tratamento TH.

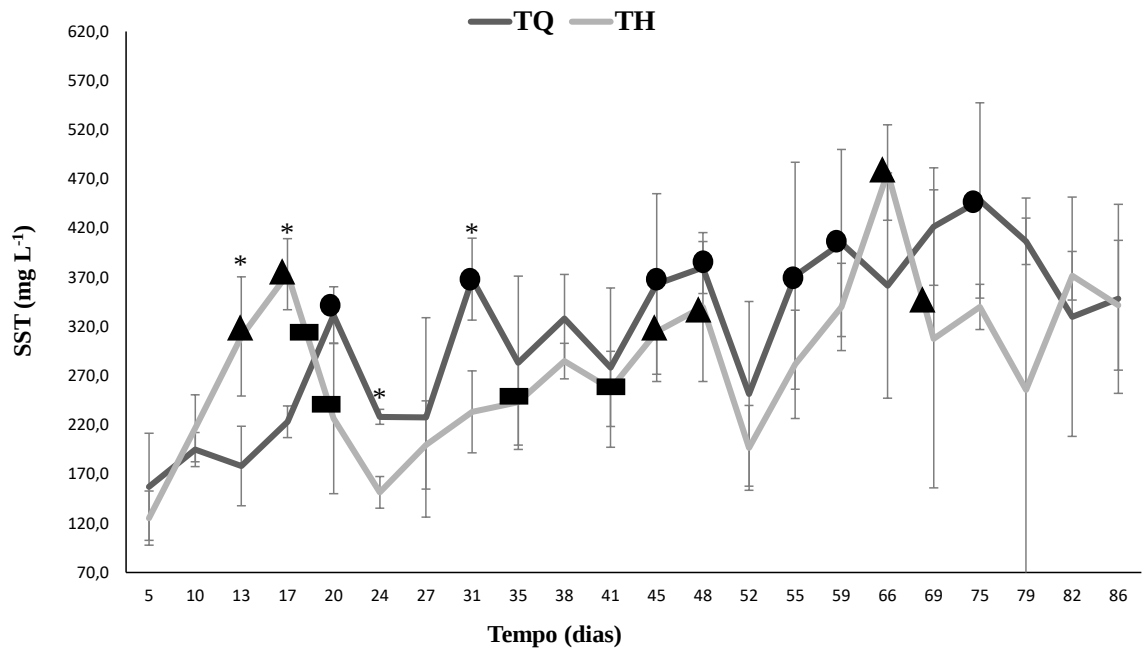


Figura 8: Níveis médios de sólidos suspensos totais (SST) nos tratamentos quimioautotrófico (TQ) e heterotrófico (TH) ao longo do período experimental. (*) indica diferença significativa entre os tratamentos no mesmo dia, após o teste t de Student. ● Indica os dias de clarificação no sistema quimioautotrófico, ▲ indica os dias de clarificação no sistema heterotrófico, ■ indica os dias de renovação de água no tratamento heterotrófico.

4.2 Insumos

O consumo de ração foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento TQ em relação ao TH. Já a utilização de melaço foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento TH em relação ao TQ. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para o hidróxido de cálcio (Tabela 2).

Tabela 2: Relação das quantidades de insumos utilizados nos tratamentos TQ (químioautotrófico) e TH (heterotrófico) ao longo de 86 dias experimentais.

Tratamento	TQ	TH
Ração camarão (kg)	407,52 ± 1,84 ^a	284,78 ± 1,42 ^b
Ração tilápia (kg)	89,28 ± 1,21	89,28 ± 1,21
Hidróxido de cálcio (kg)	8,25 ± 1,98	9,53 ± 0,32
Melaço (kg)	5,15 ± 4,33 ^b	13,26 ± 1,82 ^a
Cloreto de amônia (kg)	2,82 ± 0,1 [#]	-
Nitrito de sódio (kg)	2,82 ± 0,1 [#]	-
Uso total de água (m ³)	60 ± 1,00 ^b	132 ± 1,00 ^a
Uso de água (L) por kg de camarão	243,78 ± 5,55 ^b	783,24 ± 4,58 ^a

Os dados são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, após o teste t de Student, # indica os sais utilizados previamente apenas no tratamento químioautotrófico (TQ).

4.3 Desempenho de crescimento

Os índices de desempenho (peso médio final, taxa de crescimento específico, biomassa final e produtividade) dos camarões foram significativamente melhores ($p < 0,05$) no tratamento TQ em relação ao tratamento TH, com exceção da taxa de conversão alimentar, a qual não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Para as tilápias não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos em nenhum índice de desempenho de crescimento. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre tratamentos na sobrevivência de ambas as espécies estudadas (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados de desempenho de crescimento e sobrevivência do camarão (*L. vannamei*) e tilápia (*O. niloticus*) produzidos em sistema multitrófico e bioflocos quimioautotrófico e heterotrófico por 86 dias.

Camarão	TQ	TH
Peso médio inicial (g)	1,00 ± 0,04	1,00 ± 0,04
Peso médio final (g)	11,30 ± 0,36 ^a	8,25 ± 0,34 ^b
Ganho de peso semanal (g semana ⁻¹)	0,81 ± 0,03 ^a	0,57 ± 0,03 ^b
Taxa de conversão alimentar (FCA)	1,86 ± 0,12	1,98 ± 0,19
Sobrevivência (%)	90,34 ± 5,38	85,08 ± 5,97
Biomassa final (kg)	73,26 ± 5,55 ^a	48,18 ± 4,58 ^b
Produtividade (kg m ⁻²)	4,06 ± 0,28 ^a	2,81 ± 0,23 ^b
Tilápia	TQ	TH
Peso médio inicial (g)	25,00 ± 0,50	25,00 ± 0,50
Peso médio final (g)	171,62 ± 17,81	180,25 ± 9,23
Ganho de peso semanal (g semana ⁻¹)	11,53 ± 1,40	12,25 ± 0,73
Taxa de conversão alimentar (FCA)	0,91 ± 0,35	0,75 ± 0,10
Sobrevivência (%)	76,19 ± 25,43	83,81 ± 8,93
Biomassa final (kg)	18,61 ± 8,53	22,21 ± 3,88
Produtividade (kg m ⁻³)	1,15 ± 0,43	1,33 ± 0,19

Os dados são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, após o teste t de Student.

671 5 Discussão

672 Diferentes estratégias para a preparação da água no sistema de bioflocos (BFT) podem
673 causar impactos significativos tanto nos parâmetros de qualidade da água como no
674 desempenho dos animais cultivados. Neste trabalho, apesar da diferença significativa do
675 oxigênio dissolvido entre os tratamentos o mesmo ainda esta na faixa de conforto para
676 ambas espécies e essa diferença provavelmente esta relacionada com a biomassa final
677 presente no tratamento quimioautotrófico, que conseqüentemente, consumiram mais
678 oxigênio da água (Mcintosh *et al.*, 2001).

679 Também foi verificada uma diferença no pH entre os tratamentos no qual o
680 tratamento quimioautotrófico apresentou o menor valor. Segundo Furtado *et al.* (2011)
681 os níveis do pH diminuem durante a produção em sistemas BFT, uma vez que a respiração
682 dos animais cultivados e da biomassa bacteriana tem interferência direta nesse parametro.
683 Outro fator que age sobre esse parâmetro é o consumo dos compostos alcalinizantes como
684 carbonos inorgânicos por bactérias nitrificantes predominantemente presentes no
685 tratamento quimioautotrófico, gerando a acidificação da água e redução do pH, por esses
686 motivos é necessário o uso de produtos para manter os níveis de alcalinidade e pH
687 adequados para os organismos cultivados (Furtado *et al.*, 2011). Portanto, a maior
688 quantidade de hidróxido de cálcio utilizado no tratamento quimioautotrófico se deve a
689 maior necessidade de correção e manutenção da alcalinidade.

690 No tratamento heterotrófico o valor de pH foi maior, provavelmente devido a
691 renovação de água e conseqüentemente a remoção de CO₂, minimizando a acidificação
692 da água. Assim como o maior uso de melaço nesse tratamento pode ter cooperado
693 positivamente para esse parâmetro, pois o melaço apresenta em sua composição
694 bicarbonato de cálcio, que quando liberados no meio se tornam alcalinizantes (Espírito
695 Santo *et al.*, 2016). Devido esse tratamento ser colonizado por bactérias
696 predominantemente heterotróficas, não havia um consumo acelerado de carbono
697 inorgânico da água e provavelmente por isso o uso de hidróxido de cálcio foi menor.

698 A concentração de amônia total nos sistemas de produção é influenciada por alguns
699 fatores como: alta densidade de estocagem, excreção, quantidade de ração fornecida e
700 matéria orgânica em decomposição (Steward *et al.*, 2006). No sistema heterotrófico, a
701 estocagem inicial dos animais foi realizada em água clara, portanto não havia bactérias
702 no meio capazes de ciclar esse composto, ocasionando picos de amônia. E, apesar de ser

altamente tóxica para os organismos aquáticos, esse composto é controlado no sistema BFT ao adicionar uma fonte de carbono orgânico como forma de favorecer o crescimento de bactérias heterotróficas no meio (Avnimelech e Kochba., 2009). A aplicação de melaço foi maior no tratamento heterotrófico pois nesse sistema não ocorreu uma fertilização prévia para estimular o desenvolvimento de bactérias capazes de remover a amônia, o que acarretou concentrações máximas de 8 mg L⁻¹ de amônia total.

No sistema quimioautotrófico, a fertilização com cloreto de amônia e nitrito de sódio previamente a estocagem dos animais, promoveu o crescimento de ambos os grupos de bactérias, amonio-oxidantes e nitrito-oxidantes, capazes de ciclar estes compostos no sistema. O mesmo foi observado por Ferreira *et al.* (2020) ao analisarem a influência de três diferentes estratégias de preparação de água no berçário de *L. vannamei*: heterotrófico, maduro e quimioautotrófico. No entanto, apesar da pré colonização dessas bactérias no sistema quimioautotrófico, quando houve a estocagem dos camarões e das tilápias, esse tratamento sofreu com picos de amônia que chegaram a 5 mg L⁻¹, devido a quantidade de amônia produzida ser superior a capacidade que as bactérias pré-estabelecidas tinham de remover esse composto, sendo feito o uso de melaço para controlá-lo, porém em uma quantidade menor comparado ao sistema heterotrófico.

Durante o experimento, ambos os tratamentos apresentaram picos de nitrito, no entanto tal acontecimento foi mais elevado chegando ao máximo de 18 mg L⁻¹ e durou 32 dias para retornar aos níveis aceitáveis no sistema heterotrófico. Ferreira *et al.* (2020) ao iniciarem um sistema heterotrófico realizaram uma fertilização orgânica com ração e melaço 3 dias antes da estocagem dos animais, com uma relação de (C:N) de 15:1, e encontraram valores máximos de nitrito de 4.23 mg L⁻¹, esse valor foi inferior ao encontrados no presente estudo, provavelmente isso se deve por ser um monocultivo de camarão, diferente do presente experimento utilizando um sistema integrado com a produção em uma escala piloto de camarão e tilapia que gerou mais excretas e entrada de ração. O uso de calculos mais precisos para fertilizações iniciais com melaço, levando em consideração o aporte de ração e excreta dos animais, como realizado por Brandão *et al.* (2021) podem vir a ser mais efetivo no controle do nitrito no início da estocagem.

Já no sistema quimioautotrófico o pico de nitrito chegou em até 11 mg L⁻¹ e durou 22 dias, a fertilização com cloreto de amônia e nitrito de sódio durante 47 dias antes da estocagem dos animais favoreceu a colonização de bactérias nitrificantes que foram

capazes de remover esse composto do sistema em um período menor e a indicação desse fato é devido ao surgimento de nitrato no sistema, caracterizando que o ciclo do nitrogênio está sendo feito. As altas concentrações de nitrito encontradas no tratamento quimioautotrófico pode estar relacionada a falta de substrato nos tanques. As bactérias nitrificantes possuem características de aderência para se proliferar, portanto o uso de substratos aumenta a área de contato no sistema e facilita a colonização desse grupo, acelerando sua proliferação e evitando picos de compostos tóxicos no meio do cultivo por muito tempo (Morais *et al.*, 2019; Ferreira *et al.*, 2015).

Apesar de estudos anteriores relatarem que o *L. vannamei* apresenta certa tolerância a concentrações relativamente altas de nitrito (26,4 – 29,0 mg NO₂-N/L) em salinidades de 15, 25 e 35 (Lin e Chen, 2003; Handy *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2005), os resultados obtidos sugerem haver uma influencia negativa entre níveis de nitrito e desempenho do camarão, uma vez que no presente estudo a salinidade foi 20 e no tratamento heterotrófico os índices zootécnicos dos camarões foram significativamente menores do que os animais do tratamento quimioautotrófico. Resultados corroborados por Vinatea *et al.* (2010), que observaram que os camarões *L. vannamei* apresentaram taxa de crescimento reduzida quando expostos a concentrações entre 0,72 e 9,49 mg NO₂-N/L em um sistema super-intensivo em *raceway* sem troca de água. Além disso, para tentar controlar os picos de nitrito, foi realizado renovações de 30% da água do sistema heterotrófico, juntamente com redução de 30% da dieta dos camarões durante todo o período que o nitrito estava elevado (30 dias), fator que também acabou afetando o desempenho de crescimento dos animais, enfatizando ainda mais a utilização de um sistema colonizado previamente com bactérias capazes de ciclar os compostos nitrogenados tóxicos evitando esse tipo de manejo para a produção.

O nitrato e o fosfato são dois elementos que se acumulam em sistemas fechados sem renovação de água como por exemplo o sistema BFT (Buford & Williams., 2001). Entretanto a concentração desse composto pode ser afetada através do tipo de fertilização escolhida. O nitrato é o produto final do processo de nitrificação que ocorre com a redução da amônia para nitrito e do nitrito para nitrato através de bactérias nitrificantes e dentre estes três compostos, o nitrato é o de menor toxicidade para os organismos (Buford & Williams., 2001). O alto valor de nitrato no tratamento quimioautotrófico pode ser explicado pelo fato da fertilização com sais de cloreto de amônia e nitrito de sódio, que

767 provavelmente favoreceu o crescimento de bactérias nitrificantes, capazes de completar o
768 ciclo do nitrogênio, reduzindo a amônia presente em nitrato. Já as altas concentrações de
769 nitrato encontradas no tratamento heterotrófico diferem das concentrações apresentadas
770 em (Ferreira *et al.*, 2020; Brandão *et al.*, 2021). Esse resultado pode estar relacionado
771 com o tipo de fertilização realizada no mesmo, que acabou disponibilizando nitrogênio
772 suficiente para que bactérias nitrificantes pudessem se estabelecer com o passar do tempo
773 e pudessem reduzir essa amônia disponível até nitrato.

774 Os valores de fosfato presente em ambos os tratamentos podem ser explicados pela
775 densidade de estocagem, lixiviação da ração, fezes, assim como o período prolongado em
776 de produção em sistemas sem renovação de água, característica dos sistemas BFT (Silva
777 *et al.*, 2013). As concentrações inferiores de fosfato encontradas no tratamento
778 heterotrófico se devem provavelmente à renovação de água e o menor aporte de ração. O
779 uso de consumidores inorgânicos em sistemas integrados podem vir a ser uma solução
780 para o acúmulo de nutrientes em sistemas de bioflocos, como já mostrado por Poli *et al.*
781 (2019) e Carvalho *et al.* (2023).

782 Uma das vantagens do sistema BFT quimioautotrófico é a menor produção de sólidos
783 suspensos totais, dado que as bactérias predominantes neste sistema consomem cerca de
784 1g de amônia e produzem 0,20g de SST; em contrapartida, as bactérias heterotróficas ao
785 consumir a mesma quantidade de amônia produzem cerca de 8,07g de sólidos suspensos
786 totais (Ebeling *et al.*, 2006). No entanto, não foi visto neste trabalho diferença na
787 concentração de sólidos suspensos totais entre os tratamentos. Isso se deve provavelmente
788 ao uso de clarificadores para manter esse parâmetro em níveis aceitáveis na produção de
789 350 mg L⁻¹ e também devido as renovações de água no tratamento heterotrófico. A
790 renovação de água que foi utilizada para controlar as altas concentrações de nitrito no
791 mesmo, e assim acabou contribuindo para a redução da matéria orgânica que estava
792 presente nesse sistema.

793 No presente trabalho utilizando um sistema integrado IMTA com a tecnologia de BFT
794 com diferentes fertilizações foi constatadas diferenças no desempenho zootécnico, sendo
795 maiores no tratamento quimioautotrófico comparado ao tratamento heterotrófico,
796 provavelmente isso está relacionado com a qualidade da água desse tratamento já que os
797 nitrogenados como amônia total e nitrito foram menores. O uso de uma fertilização prévia
798 no tratamento quimioautotrófico, promoveu valores mais baixos de nitrogenados tóxicos

799 devido a biomassa bacteriana previamente estabelecida, com isso a manutenção da
800 qualidade de água e o aporte correto da ração promoveram melhores condições para o
801 crescimento dos animais. Os valores de desempenho zootécnico encontrados nesse
802 tratamento foram semelhantes aos encontrados por outros autores como Holanda *et al.*
803 (2020) usando sistema IMTA com tecnologia de BFT convencional na produção de
804 camarão e tainha e Ferreira *et al.* (2021) na engorda de monocultivo de camarão.

805 Já para o tratamento heterotrófico que se iniciou em água clara sem nenhuma colônia
806 bacteriana estabelecida como consequência apresentaram picos dos compostos
807 nitrogenados maiores e durou mais tempo. Devido as elevadas concentrações de nitrito
808 foram feitas reduções na oferta de ração como manejo para tentar prevenir mortalidade,
809 além disso a exposição crônica ao nitrito pode ter causado estresse aos animais
810 prejudicando o desempenho nesse tratamento. De acordo com Huang *et al.* (2020) o *L.*
811 *vannamei* apresenta crescimento reduzido quando exposto a altas concentrações crônicas
812 de nitrito (2 a 20 mg L⁻¹) em salinidade 30 e que esse composto possa desequilibrar a
813 microbiota intestinal digestiva dessa espécie.

814 Apesar de haver mortalidade nos tratamentos os valores elevados de amônia e nitrito,
815 pareceu não interferir significativamente na sobrevivência dos animais em ambos os
816 tratamentos, nos dando a entender que as técnicas adotadas como renovação de água e
817 redução de ração no tratamento heterotrófico foram eficientes para manter os animais
818 vivos, mostrando a rusticidade das espécies produzidas, enfatizando uma boa escolha de
819 produção. Resultados semelhantes aos encontrados por Valencia- Castñeda *et al.* (2017),
820 testando a influência da renovação de água e redução de ração, afirmando que esses
821 métodos são eficazes para manter a sobrevivência dos animais.

822 A produção integrada permite utilizar consumidores orgânicos com características
823 filtradoras para se alimentar dos resíduos presentes no sistema, o que acaba gerando um
824 fator de conversão alimentar mais baixo. Neste trabalho as tilápias receberam ração com
825 relação a 1% da sua biomassa total, forçando os peixes a consumir os bioflocos. Holanda
826 *et al.* (2022) também apresentaram valores baixos de conversão alimentar $0,60 \pm 0,0$ em
827 um sistema IMTA com oferta de ração de 1% da biomassa total dos peixes, porém com
828 crescimento semanal um pouco inferior aos encontrado em nosso trabalho de 12 (g
829 semana⁻¹), isso provavelmente se deve a elevada densidade utilizada de 100 peixes/m³
830 comparado a nossa de 45 peixes m⁻³.

831 O sistema multitrófico integrado proporciona a divesificação de produtos através do
832 cultivo de diferentes espécies, com isso é necessário que os parametros de qualidade de
833 água estejam nos níveis ideais para cada espécie (Chopin., 2015). O cultivo multitrófico
834 em sistema quimioautotrófico apresentou melhor produtividade de camarão, e diferente
835 do encontrado por Poli *et al.* (2019) as tilápias cultivadas em sistema quimioautotrófico
836 não apresentaram menor crescimento comparado ao sistema heterotrófico. O
837 aproveitamento dos resíduos produzidos proporciona maior sustentabilidade e
838 produtividade ao cultivo, sendo uma das vantagens do sistema multitrófico.

839

840 **6 Conclusão**

841 O surgimento do nitrato no sistema nos indica que a fertilização prévias com sais de
842 cloreto de amônia e nitrito de sódio proporcionaram o estabelecimento das bactérias
843 quimioautotróficas no sistema, promovendo a manutenção dos parâmetros de qualidade
844 de água, não sendo necessário reduzir a alimentação dos animais e também fazer
845 renovações de água.

846 Portanto o cultivo multitrófico integrado com camarão e tilápia se mostrou viável em
847 sistema quimioautotrófico devido a manutenção da qualidade de água observado pelos
848 graficos neste tratamento, proporcionando uma maior produção de biomassa de camarão
849 ao final do cultivo, e mesma produção de biomassa de peixe comparado ao heterotrófico.

850

851

852

853

854

855

856

857

858 7 Referências Bibliográficas

- 859 Amionot, A., Chaussepied, M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin.
860 Centre National pour l'exploitation des oceans - CNEXO. Brest, França. 395p.
- 861 American Public Health Association (APHA), 1989. Standard Methods for the
862 Examination of Water and Waste Water, 16th edn. American Public Health
863 Association, AWWA, WPFC, New York.
- 864 Araneda, M., Gasca-Leyva, E., Vela, M. A., Domínguez-May, R., 2020. Effects of
865 temperature and stocking density on intensive culture of Pacific white shrimp in
866 freshwater. J. Therm. Biol. 102756. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102756>.
- 867 Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems.
868 Aquac. 227–235.
- 869 Avnimelech, Y., Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia
870 in bio floc tanks, using N-15 tracing. Aquac. 287, 163-168.
- 871 Bendschneider, K., Robinson, R. J. 1952. New spectrophotometric method for the
872 determination of nitrite in water. Fresenius Environ. Bull.
873 <https://doi.org/10.1007/BF00388430>.
- 874 Brandão, H., Xavier, Í. V., Santana, G. K. K., Santana, H. J. K., Krummenauer, D.,
875 Wasielesky, W., 2021. Heterotrophic versus mixed BFT system: Impacts on the
876 water use, suspended solids production and growth performance of *Litopenaeus*
877 *vannamei*. Aquac. Eng. 95, 102194.
878 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102194>.
- 879 Braz, R. da S., Silva, I. de O., Tesser, M. B., Sampaio, L. A., Rodrigues, R. V., 2017.
880 Benzocaína, MS-222, eugenol e mentol como anestésicos para juvenis de tainha
881 *Mugil liza*. B. Inst. Pesca. 43, 605-613. [https://doi.org/10.20950/1678-](https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n4p605)
882 [2305.2017v43n4p605](https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n4p605).
- 883 Brito, L. O., Arantes, R., Magnotti, C., Derner, R., Pchara, F., Oliveira, A., Vinatea, L.,
884 2013. Water quality and growth of Pacific white shrimp *Litopenaus vannamei*
885 (Boone) in co-culture with green seaweed *Ulva lactuca* (Linnaeus) in intensive
886 system. Aquac. Int. 22, 2, 497-508. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9659-0>.
- 887 Brito, L. O., Arana, L. A. V., Soares, R. B., Severi, W., Miranda, R. H., da Silva, S. M.
888 B. C., Coimbra, M. R. M., Gálvez, A. O., 2014. Water quality, phytoplankton

composition and growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with *Gracilaria birdiae* (Greville) and *Gracilaria domingensis* (Kutzing). Aquac. Int. 22, 1649-1664. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9771-9>.

Burford, M. A., Williams, K. C., 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. Aquac. 198, 79-93. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00589-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00589-5).

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. Aquac. 232, 535-537. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00541-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00541-6).

Carvalho, A., Costa, L. C. de O., Holanda, M., Poersch, L. H., Turan, G., 2023. Influence of total suspended solids on the growth of the sea lettuce *Ulva lactuca* integrated with the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system. Fishes. 8, 163. <https://doi.org/10.3390/fishes8030163>.

Chopin, T., 2018. Aquaculture comes in many shapes and fashions.

Chopin, T., 2015. Marine aquaculture in Canada: Well-established monocultures of finfish and shellfish and an emerging Integrated Multi-trophic Aquaculture (IMTA) approach including seaweeds, other invertebrates, and microbial communities. Fisheries, 40, 28-31. <https://doi.org/10.1080/03632415.2014.986571>.

Cohen, J. M., Samocha, T. M., Fox, J. M., Gandy, R. L., Lawrence, A. L., 2005. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. Aquacult. Eng. 32, 425-442. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2004.09.005>.

Costa, L.C.O., Poersch, L.H.S., Abreu, P.C., 2021. Biofloc removal by the oyster *Crassostrea gasar* as a candidate species to an Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) system with the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. 540, 736731. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736731>.

Da Silva, K. R., Wasielesky, W., Abreu, P. C., 2013. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. J. World. Aquac. Soc. 44, 30-41. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>.

David, F. S., Proença, D. C., Valenti, W. C., 2017. Phosphorus Budget in Integrated Multitrophic Aquaculture Systems with Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and

920 Amazon River Prawn, *Macrobrachium amazonicum*. J. World. Aquac. Soc. 48,
921 402–414. <https://doi.org/10.1111/jwas.12404>.

922 Du, R., Liu. L., Wang, A., Wang, Y., 2013. Effects of temperature, algae biomass and
923 ambient nutrient on the absorption of dissolved nitrogen and phosphate by
924 Rhodophyte *Gracilaria asiatica*. Chin. J. Oceanol. Limnol. 31, 2, 353-365.
925 <http://dx.doi.org/10.1007/s00343-013-2114-2>.

926 Ebeling, J. M., Timmons, M. B., Bisogni, J. J., 2006. Engineering analysis of the
927 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of
928 ammonia–nitrogen in aquaculture systems. Aquac. 257, 346–358.
929 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>.

930 Ekasari, J., Angela, D., Hadi, S., Harris, E., Bossier, P., Schryver, P. De. 2014. The size
931 of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by
932 aquaculture animals. Aquac. 426–427, 105–111.
933 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>.

934 Ekasari, J., Rivandi, D. R., Firdausi, A. P., Surawidjaja, E. H., Zairin Jr, M., Bossier, P.,
935 De Schryver, P., 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia
936 (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquac. 441, 72-77.
937 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>.

938 Espírito Santo, C. M. do, Pinheiro, I. C., de Jesus, G. F. A., Mouriño, J. L. P., Vieira, F.
939 do N., Seiffert, W. Q., 2016. Soybean molasses as an organic carbon source in the
940 farming of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc system. Aquac. Res.
941 1-9. <https://doi.org/10.1111/are.13020>.

942 FAO. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and challenges.
943 Roma. 1–243.

944 FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue
945 Transformation. Rome, FAO.

946 Ferreira, L. M. H., Lara, G., Wasielesky Jr, W., Abreu, P. C., 2015. Biofilm versus
947 biofloc: Are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT
948 system. Aquac. Int. 24, 921-930. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9961-0>.

949 Ferreira, G. S., Silva, V. F., Martins, M. A., Da Silva, A. C. C. P., Machado, C., Seiffert,
950 W. Q., Vieira, F. do N. 2020. Strategies for ammonium and nitrite control in

951 *Litopenaeus vannamei* nursery systems with bioflocs. Aquac. Eng. 88, 102040.
 952 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2019.102040>.

953 Ferreira, G. S., Santos, D., Schmachtl, F., Machado, C., Fernandes, V., Bögner, M.,
 954 Schleder, D. D., Seiffert, W. Q., Vieira, F. N., 2021. Heterotrophic, chemoautotrophic
 955 and mature approaches in bioflocs system for pacific white shrimp. Aquac. 533,
 956 736099. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736099>.

957 Fleckenstein, L. J., Kring, N. A., Tierney, T. W., Fisk, J. C., Lawson, B. C., Ray, A. J.
 958 2020. The effects of artificial substrate and stocking density on Pacific White shrimp
 959 (*Litopenaeus vannamei*) performance and water quality dynamics in high tunnel-
 960 based biofloc systems. Aquac. Eng. 90: 102093.
 961 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102093>.

962 Furtado, P. S., Poersch, L. H., Wasielesky Jr, W., 2011. Effect of calcium hydroxide,
 963 carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance
 964 of shrimp *Litopenaeus vannamei* (BFT) systems. Aquac. 321, 130-135.
 965 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.034>.

966 Furtado, P. S., Poersch, L. H., Wasielesky, W., 2014. The effect of different alkalinity
 967 levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). Aquac. Int.
 968 23, 345–358. <https://doi.org/10.1007/s104990-014-9819-x>.

969 Gamito, S., Quental-Ferreira, H., Parejo, A., Aubin, J., Christensen, V., Cunha, M. E.,
 970 2020. Integrated multi-trophic aquaculture systems: energy transfers and food web
 971 organization in coastal earthen ponds. Aquac. Environ. Interact. 12, 457-470.
 972 <https://doi.org/10.3354/aei00375>.

973 Gao, W., Tian, L., Huang, T., Yao, M., Hu, W., Xu, Q., 2016. Effect of salinity on the
 974 growth performance, osmolarity and metabolism-related gene expression in white
 975 shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Rep. 4, 125-129.
 976 <https://doi.org/10.1016/j.agrep.201609.001>.

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

981 Gaona, C. A. P., Serra, F. da P., Furtado, P. S., Poersch, L. H., Wasielesky, W., 2016.
 982 Biofloc management with different flow rates for solids removal in the *Litopenaeus*

983 *vannamei* BFT culture system. *Aquac. Int.* 24, 1263-1275.
984 <https://doi.org/10.1007/s10499-016-9983-2>.

985 García-Ríos, L., Miranda-Baeza, A., Coelho-Emerenciano, M. G., Huerta-Rábago, J. A.,
986 & Osuna-Amarillas, P., 2019. Biofloc technology (BFT) applied to tilapia
987 fingerlings production using different carbono sources: Emphasis on comercial
988 applications. *Aquac.* 502, 26-31.
989 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.057>.

990 Handy, M., Samocha, T., Patnaik, S., Gandy, R., McKee, D., 2004. Nursery trial
991 compares filtration system performance in intensive raceways. *Global Aquacult.*
992 *Advoc.* 8, 77–79.

993 Holanda, M., Santana, G., Furtado, P., Rodrigues, R. V., Cerqueira, V. R., Sampaio, L.
994 A., Wasielesky., W., Poersch, L. H. 2020. Evidence of total suspended solids
995 control by *Mugil liza* reared in an integrated system with pacific white shrimp
996 *Litopenaeus vannamei* using biofloc technology. *Aquac. Rep.* 18, 100479.
997 <https://doi.org/10.1016/j.jagrep.2020.100479>.

998 Holanda, M., Wasielesky Jr, W., Lara, G. R., Poersh, L. H., 2022. Production of marine
999 shrimp integrated with tilapia at high densities and in a biofloc system: choosing
1000 the best spatial configuration. *Fishes.* 7, 283.
1001 <https://doi.org/10.3390/fishes7050283>.

1002 Huang, Z., Wan, R., Song, X., Hallerman, E., 2013. Assessment of AquaMats for
1003 removing ammonia in intensive commercial Pacific white shrimp *Litopenaeus*
1004 *vannamei* aquaculture systems. *Aquac. Int.* 21, 1333-1342.
1005 <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9636-7>.

1006 Huang, M., Xie, J., Yu, Q., Xu, C., Zhou, L., Qin, J. G., Chen, L., Li, E., 2020. Toxic
1007 effect of chronic nitrite exposure on growth and health in Pacific white shrimp
1008 *Litopenaeus vannamei*. *Aquac.* 529, 735664.
1009 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735664>.

1010 Jory, D. E., Cabrera, T. R., Dugger, D. M., Fegan, D., Lee, P. G., Lawrence, A. L.,
1011 Jackson, C. J., McIntosh, R. P., Castañeda, J., 2001. A global review of shrimp feed
1012 management: status and perspectives. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New*
1013 *Wave: Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*. The
1014 World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 104–152.

- 1015 Khanjani, M. H., Sajjadi, M. M., Alizadeh, M., Sourinejad, I., 2016. Nursey performance
1016 of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc
1017 system: the effect of adding different carbon sources. Aquac. Res. 1-11.
1018 <https://doi.org/10.1111/are.12985>.
- 1019 Khanjani, M. H., Zahedi, S., Mohammadi, A., 2022. Integrated multitrophic aquaculture
1020 (IMTA) as an environmentally friendly system for sustainable aquaculture:
1021 functionality, species, and application of biofloc technology (BFT). Environ. Sci.
1022 Pollut. Res. 29, 67513-67531. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22371-8>.
- 1023 Kleitou, P., Kletou, D., & David, J. 2018. Is Europe ready for integrated multi-trophic
1024 aquaculture? A survey on the perspectives of European farmers and scientists with
1025 IMTA experience. Aquac. 490, 136–148.
1026 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.035>.
- 1027 Li, J., Jiang, H., Li, L., Zhang, X., Chen, J. 2019. The effect of disease and season to
1028 hepatopancreas and intestinal mycobiota of *Litopenaeus vannamei*. Front.
1029 Microbiol. 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00889>.
- 1030 Lin, Y. -C., Chen, J. -C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone)
1031 juveniles at different salinity levels. Aquac. 224, 193-201.
1032 [https://doi.org/10.1016/S0044-86\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0044-86(03)00220-5).
- 1033 Martínez-Córdova, L. R., Martínez-Porchas, M., Emerenciano, M. G. C., Miranda-Baeza,
1034 A., Gollas-Galván. 2016. From microbes to fish the next revolution in food
1035 production. Crit. Rev. Biotechnol. 37(3): 287-295.
1036 <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144043>.
- 1037 Madigan, michael t., Martinko, johm M., Bender, kelly s., Buckley, daniel h., Stahl, david
1038 a., 2016. Microbiologia de brock, 14th ed.
- 1039 Morais, A. P. M. de, Abreu, P. C., Wasielesky Jr, W., Krummenauer, D., 2019. Effect of
1040 aeration intensity on the biofilm nitrification process during the production of the
1041 white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in biofloc and clear water
1042 systems. Aquac. 734516. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734516>.
- 1043 Moreno-Arias, A., López-Elías, J. A., Martínez-Córdova, L. R., Ramírez-Suárez, J. C.,
1044 Carvallo-Ruiz, M. G., García-Sánchez, G., Lugo-Sánchez, M. E., Miranda-Baeza,
1045 A. 2018. Effect of fishmeal replacement with a vegetable protein mixture on the

amino acid and fatty acid profiles of diets, biofloc and shrimp cultured in BFT system. *Aquac.* 483: 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.10.011>.

Naylor, R. L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliot, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D. M., Goldberg, R.J., Hua, K., Nichols, P.D., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceed. Nat. Acad. Sci.* 106, 15103-15110. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905235106>.

Oliveira, L. K., Pilz, L., Furtado, P. S., Ballester, E. L. C., Bicudo, A. J. A., 2021. Growth, nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates. *Aquac.* 541, 736830. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736830>.

Poli, M. A., Legarda, E. C., de Lorenzo, M. A., Pinheiro, I., Martins, M. A., Seiffert, W. Q., Vieira, F. do N. 2019. Integrated multitrophic aquaculture applied to shrimp rearing in a biofloc system. *Aquac.* 511: 734274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734274>.

Reid, G.K., Lefebvre, S., Filgueira, R., Robinson, S.M.C., Broch, O.J., Dumas, A., Chopin, T.B.R., 2018. Performance measures and models for open-water integrated multi-trophic aquaculture. *Rev. Aquac.* 1-29. <https://doi.org/10.1111/raq.12304>.

Robles-Porchas, G. R., Gollas-Galván, T., Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova, L. R., Miranda-Baeza, A., Vargas-Albores, F. 2020. The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture. *Rev. Aquac.* 1-22. <https://doi.org/10.1111/raq.12431>.

Roriz, G. D., Delphino, M. K. V. C., Gardner, I. A., Gonçalves, V. S. P., 2017. Characterization of tilapia farming in net cages at a tropical reservoir in Brazil. *Aquac. Rep.* 6, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.agrep.2017.03.002>.

Rosa, J., Lemos, M. F. L., Crespo, D., Nunes, M., Freitas, A., Ramos, P., Pardal, M. Â., Leston, S. 2019. Integrated multitrophic aquaculture systems – Potential risks for food safety. *Trends. Food. Sci. Technol.* 96, 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.rifs.2019.12.008>.

Rosa, J., Lemos, M. F. L., Crespo, D., Nunes, M., Freitas, A., Ramos, F., Pardal, M. Â., Leston, S., 2020. Integrated multitrophic aquaculture systems – potential risks for food safety. *Trends Food Sci. Technol.* 96, 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.008>.

1078 Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P. F. S., do Espírito Santo, C. M., Arana, L. V.,
1079 Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R. 2013. Effect of different biofloc levels on microbial
1080 activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system
1081 operated with no water exchange. Aquac. Eng. 56, 59-70.
1082 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>.

1083 Da Silva, K. R., Wasieleski Jr, W., Abreu, P. C., 2013. Nitrogen and phosphorus
1084 dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus*
1085 *vannamei*. J. World Aquac. Soc. 44, 30-41. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>.

1086 Stewart, N. T., Boardman, G. D., Helfrich, L. A., 2006. Characterization of nutrient
1087 leaching rates from settled rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sludge. Aquac.
1088 Eng. 35, 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2006.01.004>.

1089 Strickland, J. D. H., Parsons, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis.
1090 Second. Ed. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, Ontario, Canada.

1091 UNESCO, 1983. Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring.
1092 Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris,
1093 France.

1094 Valencia-Castañeda, G., Vanegas-Pérez, R. C., Frías-Espéricueta, M. G., Chávez-
1095 Sánchez, M. C., Ramírez-Rochin, J., Páez-Osuna, F., 2017. Comparison of four
1096 treatments to evaluate acute toxicity of nitrite in shrimp *Litopenaeus vannamei*
1097 postlarvae: Influence of feeding and the renewal water. Aquac. 491, 375-380.
1098 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.037>.

1099 Vinatea, L., Gálvez, A. O., Browdy, C. L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B.
1100 L., Lawson, A., Shuler, A., Leffler, J. W., 2010. Photosynthesis, water respiration
1101 and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway
1102 culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. Aquac.
1103 Eng. 42, 1, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2009.09.001>.

1104 Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L. 2006. Effect of natural production
1105 in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system
1106 for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquac. 258, 396-403.
1107 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>.

1108