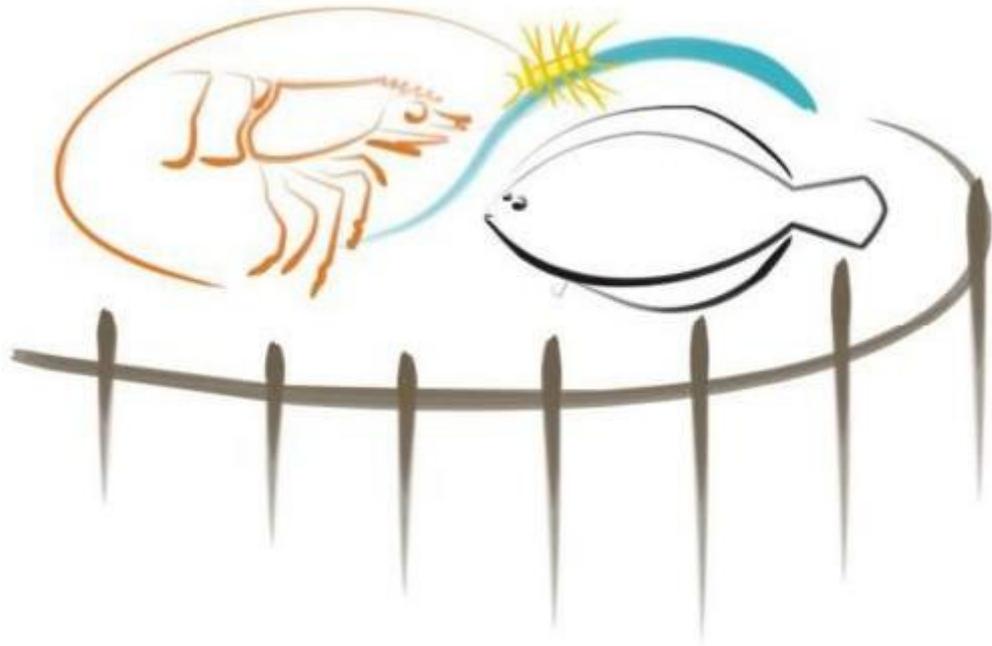


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EXPOSIÇÃO DE JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* A DIFERENTES
NÍVEIS DE NITRATO EM SISTEMA BFT**

Nathália Datore Fortunato

RIO GRANDE, RS

2023

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

**EXPOSIÇÃO DE JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* A DIFERENTES
NÍVEIS DE NITRATO EM SISTEMA BFT**

NATHÁLIA DATORE FORTUNATO

ORIENTADOR: PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON WASIELESKY JR.

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
DEZEMBRO DE 2023

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	ii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO GERAL	v
ABSTRACT GENERAL	vii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1. PRODUÇÃO AQUÍCOLA.....	1
1.2. PACU (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	2
1.3. SISTEMA DE BIOFLOCOS.....	3
1.4. COMPOSIÇÃO DO FOCO.....	5
1.5. COMPOSTOS NITROGENADOS: NITRATO.....	6
1.6. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO	8
1.7. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS.....	11
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. OBJETIVO GERAL:.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
REFERÊNCIAS	13
Capítulo I	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu amor.

**“Acima de tudo ame
como se fosse a única coisa que você sabe fazer
no fim do dia isso tudo
não significa nada
esta página
onde você está
seu diploma
seu emprego
o dinheiro
nada importa
exceto o amor e a conexão entre as pessoas
quem você amou
e com que profundidade você amou
como você tocou as pessoas à sua volta
e quanto você se doou a elas.”**

— Rupi Kaur

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a minha santinha Nossa Senhora de Aparecida que sempre estiveram na frente de todas as minhas decisões e me deram forças e sabedoria para seguir meu caminho.

Aos meus pais por todo carinho, incentivo e dedicação. Vocês foram e sempre serão o maior motivo de tudo que conquisto! Sempre serão minha base! Amo vocês!

Ao meu amor e agora noivo, agradeço a compreensão, você foi a melhor coisa que me aconteceu! Agradeço por tudo que vivemos e tudo que iremos viver! Eu te amo e não é pouco!

Ao LAC, obrigado por todos os ensinamentos e pela moradia privilegiada na beira da Lagoa dos Patos! Aos colegas Daniel, Lili, Thalline, Andressa e Luana por todo auxílio e parceria durante esse período. Agradeço aos servidores terceirizados da FURG Marquinhos, José e principalmente agradeço à Dona Dina, Xandão e Eduardo por me ajudar a passar pelo mestrado de uma forma mais leve e por todo carinho e cuidado comigo, vocês foram essenciais para minha estadia no laboratório!

Ao meu orientador, obrigado pelas conversas, distrações, almoços e principalmente por me escutar e compreender! Agradeço pela excelente orientação você foi um ótimo amigo além de orientador. Agradeço também ao meu coorientador pela disponibilidade em participar do nosso projeto!

Obrigada!

RESUMO GERAL

O pacu se destaca devido as suas características favoráveis a criação em cativeiro, sua rusticidade, crescimento rápido, boa aceitação no mercado consumidor e principalmente o seu hábito alimentar onívoro, o qual propicia sua criação em sistemas de bioflocos (BFT). O sistema BFT apresenta alta eficiência hídrica, biossegurança e redução significativa dos impactos ambientais gerados pela atividade de cultivo. Este sistema é formado a partir do estímulo aos microrganismos presentes na água pela manipulação da relação carbono/nitrogênio (C/N). Dessa forma, parte dos compostos nitrogenados presentes na água de cultivo, proveniente de restos de ração e fezes são reciclados. Contudo, o sistema BFT leva ao acúmulo de nitrato (NO_3^-) ao longo dos ciclos de produção, alterando o ambiente de cultivo. O nitrato é tóxico aos organismos cultivados e de forma crônica é capaz de causar efeitos sub-letais nos organismos aquáticos. Dessa forma, o objetivo foi avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrato sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos e de estresse oxidativo de juvenis de pacu em sistema BFT, assim como avaliar a composição bacteriana do floco. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aquacultura Continental (LAC) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, perdurando por 45 dias. O biofoco foi formado a partir de um inóculo concentrado, que foi fracionado para alcançar a concentração de sólidos suspensos totais de 250 mg L^{-1} de SST, sendo mantida a relação carbono/nitrogênio na proporção de 15:1. Os tratamentos foram nomeados como BFT150, BFT300 e BFT500, e as concentrações aferidas foram, respectivamente: $139,51 \pm 4,28$; $333,66 \pm 11,94$ e $519,11 \pm 18,83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$. Em seguida os animais foram distribuídos aleatoriamente na quantidade de 9 animais tanque⁻¹ (total = 108 juvenis de pacu $31,34 \pm 0,14 \text{ g}$), em tanques de 310L (250L de volume útil) com aeração constante e temperatura controlada (27°C). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (9 e 16 h), sendo ofertada 3% da biomassa com uma ração comercial contendo 36% de proteína bruta. Durante o período experimental foram coletadas amostras de floco de cada unidade experimental e sangue e tecido (nove peixes tratamento⁻¹). Os parâmetros de qualidade da água observados permaneceram dentro dos limites ideais para a espécie e para o sistema ao longo do experimento. Após os 45 dias experimentais foi possível observar que apenas o BFT500, afetou o desempenho zootécnico. Os parâmetros sanguíneos para hematócrito e hemoglobina apresentaram diferença significativa, onde a concentração BFT150, foi a que apresentou as maiores alterações observadas, já para os eritrócitos apenas o BFT500, apresentou diferença dos demais, onde apresentou as menores alterações. Com relação

aos parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo, o tecido branquial, apresentou alta concentração de proteína e peroxidação lipídica (LPO) na concentração BFT150, diferindo das demais concentrações. A atividade da enzima Glutathione-S-Transferase (GST) demonstrou que todas as concentrações diferiram entre si (BFT300 > BFT500 > BFT150), além disso o lactato foi maior nas concentrações BFT300 e BFT500 em relação a BFT 150. No tecido hepático, a ACAP, foi maior na concentração BFT500, e o P-SH menor em BFT300, apresentando também diferença nos níveis de glicose e lactato, onde a glicose foi menor na concentração BFT500 e o lactato foi menor na concentração BFT300. A comunidade bacteriana não apresentou diferença significativa, exceto para os filamentos livres e o vibrio. Além disso, foi possível observar um aumento nas populações de cocoides, das bactérias filamentosas agregadas e dos bacilos e uma redução de bactérias filamentosas livres e, do vibrio em relação aos dois períodos analisados. De acordo com isso, concluímos que, juvenis de pacu devem ser criados em concentrações abaixo de BFT300, pois mesmo nessa concentração verificamos alterações nos diferentes parâmetros avaliados, as quais devem ser evitadas para não haver prejuízo no crescimento e desenvolvimento dos animais.

Palavras-chaves: Bioflocos, peixe nativo, nitrato, bactérias, estresse oxidativo, desempenho zootécnico.

ABSTRACT GENERAL

Pacu stands out in Brazilian aquaculture due to its favorable characteristics for captive breeding, highlighting its rusticity, fast growth, good acceptance in the consumer market and especially its omnivorous feeding habit, which allows its creation in biofloc systems (BFT). Considering traditional fish farming, where there is a large generation of waste with excess organic matter, nitrogenous compounds, toxic metabolites and high rates of chemical and biochemical oxygen demands, the BFT system presents high water efficiency, biosafety and a significant reduction of the environmental impacts generated by the cultivation activity. This system is formed by stimulating the microorganisms present in the water by manipulating the carbon/nitrogen (C/N) ratio, using an organic carbon source. In this way, part of the nitrogenous compounds present in the water, from feed residues and feces, are recycled and converted into microbial protein, which can be used as a food source. The BFT system provides increased productivity and reduced commercial food costs, in addition to improving on water quality and being an environmentally correct production system. However, the BFT system leads to the accumulation of nitrate (NO_3^-) throughout the production cycles, changing the cultivation environment. The nitrate present in this rearing environment is the result of the oxidation of ammonia to nitrite by ammonia-oxidizing bacteria and subsequently nitrite-oxidizing bacteria oxidize nitrite to nitrate by the chemoautotrophic bacterial nitrification method. Nitrate is toxic to cultured organisms, even chronic exposure to low concentrations is capable of causing sub-lethal effects on aquatic organisms. Thus, the objective of the present study was to evaluate the chronic effect of different levels of nitrate on the zootechnical performance, blood parameters and oxidative stress of pacu juveniles in BFT system, as well as to evaluate the water quality and composition of bacteria present in the flake. The experiment was carried out at the Continental Aquaculture Laboratory (LAC) at Federal University of Rio Grande – FURG, lasting for 45 days. The fish were purchased from a commercial fish farm and maintained in quarantine acclimatized in clear water recirculation systems (RAS) with ideal limnological and nutritional conditions for the species until the beginning of the experimental period. The biofloc was formed from a concentrated inoculum, which was fractionated to reach a concentration of total

suspended solids of 250 mg L^{-1} of TSS, maintaining the carbon/nitrogen ratio of 15:1. To carry out this work, 3 treatments with three repetitions each were established. The nitrate levels used in the pre-established treatments were respectively: 139.51 ± 4.28 ; 333.66 ± 11.94 and $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$. To reach the nitrate levels used in each treatment, sodium nitrate (NaNO_3) diluted in water was used. Then, the animals were randomly distributed in the amount of 9 animals/tank (total = 108 pacu juveniles $31.41 \pm 0.14 \text{ g}$), in 310L tanks (250L useful volume) with constant aeration and controlled temperature (27° W). The animals were fed twice a day (9 am and 4 pm), with 3% of the biomass being offered with a commercial feed containing 30% crude protein (Pires et al., 2022). During the experimental period, floc samples were collected from each experimental unit in the initial and final periods of the experiment. Blood and tissue were collected (nine fish/treatment), and samples were taken from the left intermediate gill arches for histological analysis. The observed water quality parameters remained within the ideal limits for the species and for the system throughout the experiment. After 45 experimental days, it was possible to observe that only the $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ level affected the zootechnical performance. The blood parameters showed values above the baseline, the data obtained for hematocrit and hemoglobin showed a difference where the treatment $139,51 \pm 4,28 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ were the best results, whereas for erythrocytes only the $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ showed difference from the others with the lowest value. For the biochemical parameters of oxidative stress, the gill tissue showed high protein and lipid peroxidation (LPO) in the $139,51 \pm 4,28 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ treatment, differing from the other treatments, the activity of the enzyme glutathione-S-Transferase (GST) both differed from each other, where it was higher in $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, followed by $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ and finally $139,51 \pm 4,28 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, in addition, lactate was higher in concentrations of 333.66 ± 11.94 and $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$. In the hepatic tissue, ACAP was higher at $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, and P-SH was lower at $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, also showing a difference in glucose and lactate levels where glucose was lower at a concentration of $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ and lactate was lower at a concentration of $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$. For the morphometric analysis of the gills, only the space between lamellae (EEL) showed a difference, being greater at the concentration $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$. The bacterial community showed no statistical difference except for the free filaments and the vibrio. Furthermore, it was possible to observe an increase in the populations of coccoids, aggregated filamentous bacteria and bacilli and a reduction in

free filamentous bacteria and vibrium in relation to the two periods analyzed. Accordingly, we conclude that juvenile pacu must be raised in concentrations below $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, as even at this concentration we see changes in the different parameters evaluated, which must be avoided to there is no harm to the growth and development of animals. Furthermore, we found that from $333.66 \pm 11.94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$, the homeostasis state of the pacus is affected, with the most harmful effect to the animals being caused by the concentration of $519.11 \pm 18.83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$.

Keywords: Bioflocs, native fish, nitrate, bacteria, oxidative stress, performance, histology.

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1. PRODUÇÃO AQUÍCOLA

A criação de peixes é uma das atividades, dentre a produção animal, que mais cresce no Brasil (Ximenes & Vidal, 2023). Nos últimos anos tem apresentado crescimento constante, o qual pode ser atribuído à estabilização dos estoques pesqueiros e aumento da demanda por pescados. Neste contexto, a piscicultura se destaca entre as cadeias produtivas da aquicultura, sendo responsável por mais da metade da produção do pescado destinado ao consumo humano (FAO, 2022).

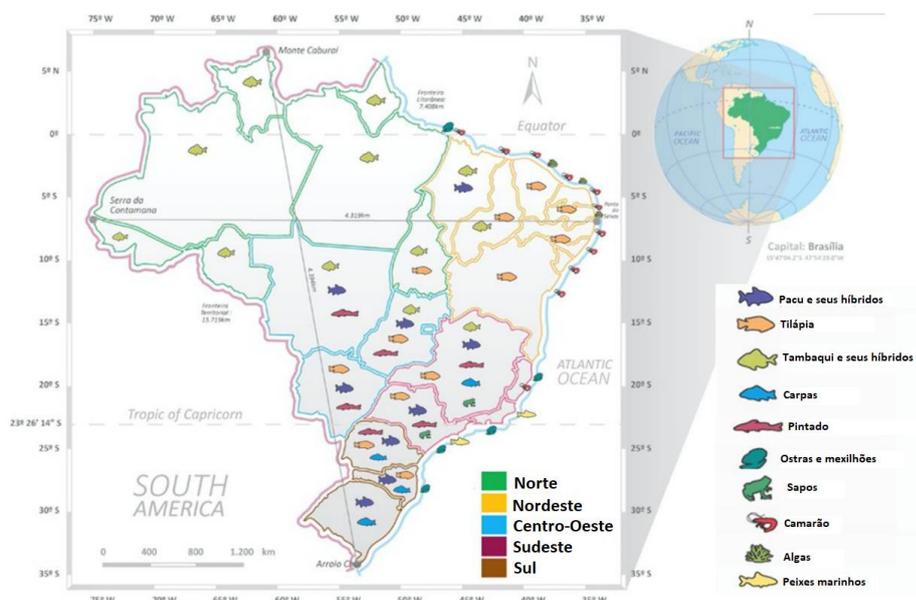
Apesar da grande diversidade de espécies aquáticas cultivadas, apenas um pequeno número de espécies domina a produção aquícola. A produção total de pesca e aquicultura, no ano de 2020, foi de aproximadamente 178 milhões de toneladas com aumento de 0,2% em relação ao ano anterior, onde 51% foram representadas pela pesca de captura e 49% pela aquicultura. Neste contexto pode ser observado que a pesca de captura apresentou uma redução de 2,1%, enquanto nota-se uma expansão na produção aquícola de 2,6% de 2019 para 2020. Da produção total de animais aquáticos, os peixes representam 76%, sendo 43% provenientes da produção em água doce. A maior parte desta produção é derivada da produção aquícola (83%) e a principal espécie produzida é a Tilápia do Nilo (FAO, 2022). Em 2020, os países asiáticos foram os principais produtores, respondendo por 70% da produção total da pesca e aquicultura, seguidos por países das Américas (12%), Europa (10%), África (7%) e Oceania (1%) (FAO, 2022).

A produção da aquicultura brasileira, em 2022, foi de 860.355 toneladas apresentando um aumento de 2,3% em relação ao ano anterior. A Região Sul é responsável por cerca de 32% do volume da produção nacional, sendo o principal polo de produção o Estado do Paraná, com a produção de 194.100 toneladas. A produção de peixes nativos, neste período, apresentou um avanço de 1,8%, sendo isso justificado pela inserção de novas tecnologias e implementação de plantas de beneficiamento, apresentando uma participação de 31,04% na produção total do Brasil, destacando principalmente o Norte do Brasil, onde o estado de Rondônia apresentou 57.200 toneladas (PeixeBr, 2023).

Uma grande diversidade de espécies aquáticas e seus híbridos são criados em diferentes tipos de sistemas. As estatísticas da FAO (2022) destacam 652 unidades tecnicamente conhecidas como “itens de espécie” e contam com 492 espécies individuais (sendo que, 313 espécies de peixes em 186 gêneros são taxonomicamente reconhecidas e cultivadas no mundo), 7 híbridos de peixes, 94 grupos de espécies identificadas em nível

de gênero e 57 grupos de espécies identificadas em família ou níveis superiores (FAO, 2022). Diferentes espécies têm desempenhado um papel de liderança, alternando-se como protagonista principal, e outras espécies (Figura 2) tem demonstrado potencial para que sua produção aumente, entre elas encontra-se o Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Valenti, et al. 2021).

Figura 1 - Distribuição dos principais grupos de espécies de pescado produzidas nos diferentes Estados do Brasil.



Fonte: Valenti, et al. (2021).

1.2. PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

Embora a espécie mais produzida no Brasil seja a tilápia, as espécies nativas como, o pacu *Piaractus mesopotamicus* tem se destacado no cenário nacional, sendo a 6ª espécie mais produzida juntamente com a patinga (*Piaractus mesopotamicus x Piaractus brachypomus*), com uma produção de 7.318 toneladas (IBGE, 2022). O pacu faz parte das espécies conhecidas como “peixes redondos”, assim como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e seus híbridos interespecíficos, os quais apresentam típica forma arredondada (IBGE, 2017; Valadão et al., 2018).

Essa ordem de peixes de água doce ocorre predominante na América do Sul, principalmente nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai. O Brasil é um dos principais produtores, sendo uma das espécies representantes o pacu, que faz parte da superordem *Ostariophysa*, a qual compreende as espécies de peixes nativa de maior valor

comercial na piscicultura brasileira (Urbinati *et al.*, 2010; Valadão *et al.*, 2018). No Brasil, ocorre nas planícies alagadas do Centro-Oeste (Urbinati & Takahashi, 2023). Como principais características, desta espécie, é possível citar o manejo reprodutivo consolidado, expressivos índices zootécnicos e robustez (Fernandes *et al.*, 2000). Além disso, apresenta boa aceitação no mercado consumidor (Petrere, 1989, Urbinati *et al.*, 2010) interno e externo.

Quanto ao seu hábito alimentar, o pacu é onívoro com tendência a consumir sementes, folhas ou frutos (Urbinati & Takahashi, 2005), o que favorece seu cultivo, porque exigem pouco ou nenhum ingrediente de origem animal, que são escassos e onerosos na produção da ração (Valadão *et al.*, 2018). Sendo assim, pode-se utilizar ingredientes de origem vegetal na confecção de suas rações (Petrere, 1989, Urbinati *et al.*, 2010). A produção de peixes redondos ocorre principalmente de forma semi-intensiva ou intensiva em tanques de terra com áreas de 500 a 3000 m² (Furlaneto & Esperancini 2009). Porém, o cultivo dessa espécie em sistemas superintensivos ainda é pouco explorado (Valadão *et al.*, 2018). Entretanto, os peixes redondos, são facilmente adaptáveis e apresentam dados positivos em relação a intensificação do sistema, como por exemplo em tanque rede, altas densidades e restrição alimentar (Bittencourt *et al.* 2010; Signor *et al.* 2010; Hilbig *et al.* 2012), e como já relado por Pellegrin *et al.* (2022), que analisou os níveis de sólidos suspensos totais no sistema BFT. Por esses fatores apresentados, tem se considerado sua criação no sistema de bioflocos (BFT).

1.3. SISTEMA DE BIOFLOCOS

Os sistemas tradicionais de produção aquícola promovem a geração de efluentes, contendo principalmente excesso de matéria orgânica, compostos nitrogenados e fósforo. Estes resíduos podem gerar graves prejuízo se lançados em corpos de água sem tratamento prévio, como a eutrofização dos mesmos, o que ainda pode resultar em aumento nos custos de produção, exigindo tratamento constante da água (Emerenciano *et al.*, 2017; Cardoso *et al.*, 2020). Nos últimos anos no Brasil, uma tecnologia inovadora tem se destacado na produção de organismos aquáticos, a tecnologia de bioflocos (BFT) (Pellegrin *et al.* 2022). O diferencial do sistema BFT, quando aplicado é a sustentabilidade, além de ser ambientalmente amigável com praticamente zero troca de água, taxa de alimentação artificial reduzidas, promove melhora na qualidade da água, além de produzir proteína microbiana, utilizada na alimentação das diferentes espécies

aquáticas (Avnimelech & Kochba 2009; Ekasari & Maryam 2012; Sgnaulin *et al.* 2018; Dinda *et al.* 2019; Gao *et al.* 2019).

Todavia, o atendimento da demanda do mercado consumidor baseia-se em virtude do desenvolvimento de técnicas capazes de elevar a produção em menos tempo e de maneira mais próxima dos conceitos de sustentabilidade (Calixto *et al.*, 2020). O sistema BFT é formado a partir dos microrganismos presentes na água, pela manipulação da relação carbono/nitrogênio (C/N), utilizando uma fonte de carbono orgânico (Samocha, 2019). Esse processo se dá com intuito de favorecer o crescimento dominante de bactérias heterotróficas que são favoráveis para a assimilação da amônia, utilizando uma alta aeração para, além de atender a demanda bioquímica por oxigênio (DBO), formar bioflocos e suspendê-los na coluna de água (Hargreaves, 2013; Luo *et al.* 2020).

A manipulação de C/N por meio da adição de uma fonte de carbono, a qual é utilizada para estimular o crescimento das bactérias heterotróficas, e devido a isso assimilar amônia, é considerada a principal tecnologia do sistema de bioflocos (Luo *et al.* 2020). As estratégias são baseadas em dois métodos: via ração e outras fontes externas (melaço, açúcar, trigo, etc.), ou via adição de carbono orgânico, quando as concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT) excedem o valor aceitável para a criação, onde deve se acrescentar 6 g de carboidratos por grama de NAT para que ocorra a redução de sua concentração (Ebeling *et al.*, 2006).

A concentração de floco é um dos fatores limitantes mais importantes para aumentar a produtividade de forma estável no sistema de bioflocos (Ebeling *et al.*, 2006; Schweitzer *et al.*, 2013). Nesse sistema a técnica de verificação do total de sólidos suspensos (SST) é usada para descrever a concentração de floco. Sendo assim, os sólidos suspensos totais podem ser o fator chave que influencia o acúmulo de nitrato, pois quanto maior a concentração de floco maior o acúmulo de nitrato no sistema, enquanto a relação C/N, o tipo de carbono e suas interações não afetam significativamente o acúmulo de nitrato, embora sejam fatores limitantes (Luo *et al.* 2020). Já a alcalinidade, o pH e a concentração de oxigênio dissolvido são fatores importantes que influenciam a formação e estrutura dos flocos (Hargreaves, 2013).

Sendo assim, a concentração de floco e a taxa de remoção de sólidos afetam significativamente o nível de nitrato, pois caso não houver uma remoção dos sólidos, uma grande proporção do nitrogênio é oxidada a nitrato, a partir do ciclo da amônia, que se acumula na água (Van Wyk, 2006; Hargreaves, 2013; Tierney & Ray, 2018). Esse

acúmulo, no sistema de bioflocos, se torna mais evidente, devido a baixas ou nulas trocas de água, além da possibilidade de reutilizar a água do sistema em vários ciclos de produção.

1.4.COMPOSIÇÃO DO FLOCO

Os microrganismos que compõem os bioflocos podem variar amplamente, dependendo de fatores como concentração de flocos, SST, tempo de retenção de flocos (TRF), intensidade de luz e relação C/N (Emerenciano *et al.*, 2011; Panigrahi *et al.*, 2018). A estrutura de um floco típico tem formas irregulares e uma ampla distribuição de tamanhos de partícula (50 a 1000 µm), são altamente porosos (99% de porosidade) e são permeáveis a fluidos (Chu & Lee, 2004).

O sistema BFT apresenta uma complexa interação entre fatores físicos, químicos e biológicos que podem influenciar sobre os parâmetros de qualidade da água, proporcionar aumento da produtividade e a diminuição dos custos com alimentação devido à redução nas taxas de arrastamento (Furtado *et al.*, 2011, Haslun *et al.*, 2012, Kim *et al.*, 2014). Aproximadamente 36% da ração ingerida pelos animais é excretada (Brune *et al.*, 2003) e 75% do fósforo e nitrogênio são eliminados via fezes e acumulados no efluente (Piedrahita, 2003; Gutierrez-Wing & Malone, 2006). De acordo com Cochava *et al.* (1990), as taxas de excreção de nutrientes por peixes mantidos com uma dieta de 35-40% de proteína e, com conversão alimentar de 1:1,5 são de aproximadamente 0,025 kg de nitrogênio e 0,033 kg de fósforo kg⁻¹ de biomassa produzida.

Os flocos são compostos por biomassa, substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e partículas orgânicas que aderem a uma matriz orgânica (Luo *et al.* 2020). A biomassa inclui bactérias, fungos, flagelados, protozoários, ciliados, algas, entre outros microrganismos (Jorand *et al.*, 1995; Schryver *et al.*, 2008; Asaduzzaman *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2012; Hargreaves, 2013; Krummenauer *et al.*, 2014). Além das bactérias heterotróficas, bactérias nitrificantes também são comuns, sendo que algumas prosperam mais tarde no desenvolvimento do biofloco (Schreier *et al.*, 2010; Martínez-Códova *et al.*, 2018). Em alguns trabalhos, a bactéria *Nitrospira* foi detectada na composição do biofloco em concentrações mais elevadas do que *Bacillus* e *Lactococcus* (Miao *et al.*, 2017), enquanto a dominância de *Vibrio* diminui com o aumento das relações C/N (Panigrahi *et al.*, 2018).

Dessa forma, a partir da utilização do sistema BFT, parte dos compostos nitrogenados presentes na água de cultivo, proveniente de restos de ração, fezes e são reciclados, convertidos em proteína microbiana e podem ser utilizadas como fonte alimentar (Wasielesky *et al.*, 2006). Contudo, o sistema BFT leva ao acúmulo de nitrato (NO_3^-) ao longo dos ciclos de produção, devido a troca zero de água no sistema, alterando o ambiente de cultivo, através do ciclo de nitrogênio e a relação C/N (Krummenauer *et al.*, 2011).

1.5.COMPOSTOS NITROGENADOS: NITRATO

O nitrogênio está presente na matéria orgânica em decomposição e, na água, pode se apresentar na forma de amônia, nitrito e nitrato (Silva *et al.*, 2023). No sistema BFT ocorre a manutenção dos parâmetros de qualidade da água por meio de microrganismos, particularmente bactérias heterotróficas e nitrificantes, que transformam os compostos nitrogenados inorgânicos tóxicos em compostos menos tóxicos, melhorando a eficiência de utilização do nitrogênio na aquicultura. Porém, uma proliferação desequilibrada de microrganismos pode apresentar acúmulo de nitrato (Ekasari *et al.*, 2014; Ogello *et al.*, 2021; Mugwanya *et al.*, 2021). Existem três métodos comuns para remoção de amônia na água: a assimilação de algas fotoautotróficas, nitrificação bacteriana quimioautotrófica (NBQ) e assimilação bacteriana heterotrófica (ABH) (Ebeling *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2007).

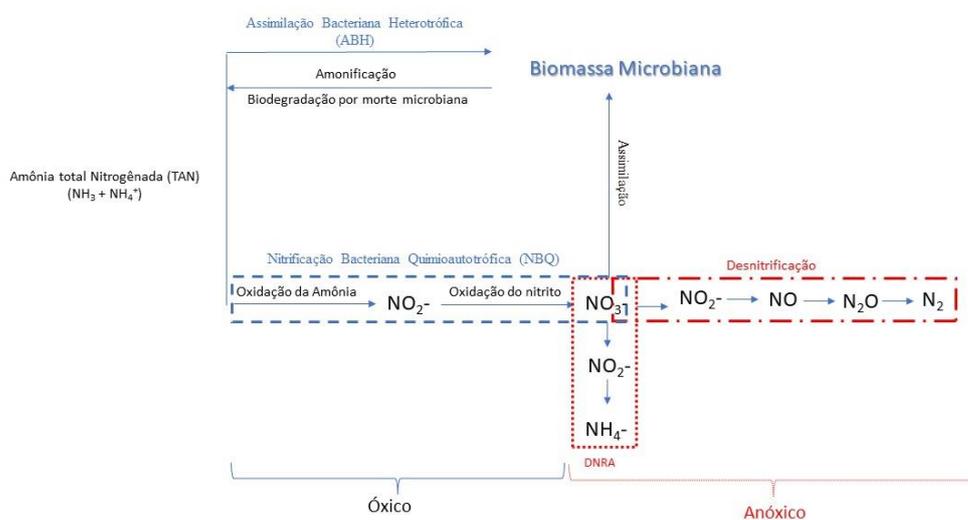
O NBQ é a principal via de nitrificação da amônia para um sistema de aquicultura por bactérias quimioautotróficas (Van Rijn, 2013). É composto por duas etapas: a primeira, ocorre pela ação de bactérias oxidantes de amônia (BOA) que tem por função oxidar amônia a nitrito, enquanto na segunda etapa, as bactérias nitrito-oxidantes (BNO) oxidam nitrito (NO_2^- -N) a nitrato (NO_3^- -N) (Ward *et al.*, 2011). Já a ABH, convertem amônia direta e rapidamente em proteína bacteriana sem produzir nitrito ou nitrato (Ebeling *et al.*, 2006).

A via clássica para a nitrificação bacteriana quimioautotrófica (NBQ) ocorre com picos sucessivos nas concentrações de TAN e NO_2^- -N isso ocorre à medida em que BOA e BNO se estabelecem sucessivamente. (Silva *et al.*, 2013). A quantidade de bactérias nitrito-oxidantes (BNO) tem um tempo de duplicação de pelo menos 80 h, enquanto via BOA pode dobrar em 26 h (McCarty, 1975). Além disso, a assimilação de amônia e nitrato pode ser completada em 5 h sendo possível afirmar que, embora o nitrato seja a

forma mais estável e abundante de nitrogênio fixado em ambientes, o acúmulo de nitrato será mais comum do que o da amônia (Ward *et al.*, 2011; Luo *et al.*, 2013a) (Figura 2).

O nitrato, assim como a amônia e ao nitrito, é um composto tóxico aos organismos aquáticos, entretanto, a baixa permeabilidade branquial faz com que sejam necessárias concentrações mais elevadas deste composto para causar toxicidade (Stormer *et al.*, 1996). O nitrato, é o produto final do NBQ, embora seja menos tóxico, concentrações de 125 e superior a 220 mg L⁻¹ de nitrato comprometem o crescimento de algumas espécies, como *Psetta maxima* e *Litopenaeus vannamei*, respectivamente, em sistema de recirculação. Contudo, para *L. vannamei* concentrações de até 177 mg L⁻¹ são aceitáveis no sistema BFT (Kuhn *et al.*, 2010; Bussel *et al.*, 2012; Furtado *et al.*, 2015). Estudos mais recentes também têm demonstrado que além de altas concentrações de nitrato, a exposição crônica a baixas concentrações deste composto, é capaz de causar efeitos sub-letais nos organismos aquáticos (Davidson *et al.*, 2014).

Figura 2 - Vias de amônia, nitrito e nitrato que ocorrem no sistema de bioflocos.



Fonte: Adaptado de Luo *et al.* 2020

Em particular, o acúmulo do nitrato em água doce é um risco enfrentado pelos organismos aquáticos em escala mundial (Jenkinson, 2001). As concentrações de nitrato podem permanecer elevadas (semanas – meses) e têm profundos efeitos negativos, gerando impactos nos peixes (Gomez Isaza *et al.*, 2020). Os peixes, quando expostos cronicamente à diferentes concentrações de nitrato, podem apresentar um quadro de hipóxia funcional, onde uma vez assimilado pelo organismo, o nitrato reduz diretamente

a capacidade de transporte de oxigênio no sangue (Rodgers *et al.*, 2021). Estes eventos levam a alterações nos parâmetros hematológicos, depressão do sistema imune, alterações fisiológicas, redução na eficiência alimentar, diminuição do crescimento, alterações na natação e até mesmo a morte (Hrubec, 1996, Hamlim, 2006, Davidson *et al.*, 2011, Van Bussel *et al.*, 2012, Schram *et al.*, 2012, Davidson *et al.*, 2014).

1.6. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

O nitrato é o composto nitrogenado considerado de menor toxicidade para os organismos aquáticos, em relação a amônia e ao nitrito. Entretanto, compostos nitrogenados podem ocasionar desequilíbrios nos parâmetros bioquímicos, como a geração de estresse oxidativo, pois aumentam a produção de ERO e/ou redução nas defesas antioxidantes (Ching *et al.* 2009; Hegazi *et al.* 2010; Yang *et al.* 2010; Sinha *et al.* 2014; Sun *et al.* 2014; Cheng *et al.* 2015; Maltez *et al.* 2018). Essa condição, está relacionada com uma maior geração de radicais livres e/ou diminuição na atividade do sistema de defesa antioxidante, podendo levar a um aumento nos níveis de dano oxidativo em diferentes macromoléculas e tecidos (Yang *et al.* 2011; Ciji *et al.* 2012; Cheng *et al.* 2015; Maltez *et al.* 2018;).

Os peixes quando submetidos a diferentes condições ambientais, precisam manter sua homeostase através de um conjunto complexo de respostas adaptativas denominadas respostas ao estresse (Barton, 2002; Yamashita *et al.*, 2010). Faria *et al.* (2021) descrevem o estresse como uma cascata de eventos fisiológicos que ocorre quando um animal tenta recuperar a homeostase diante de um perigo identificado apresentando subsequentes alterações neurais, hormonais, metabólicas, iônicas e imunológicas, visando minimizar os seus efeitos deletérios (Iwama *et al.*, 1999; Barton, 2002). O estresse pode ser classificado de acordo com três diferentes fases que indicam o grau de alteração provocado pelo agente estressor: primário, secundário e terciário (Jobling, 1994; Barton, 1997; Tort, 2011; Urbinati *et al.*, 2020).

A resposta primária ou reação de alarme ocorre segundos após a percepção do estressor e é regulada pelo sistema neuroendócrino. O hipotálamo desencadeia a liberação de catecolaminas pelas células, promovendo um aumento dos níveis destas substâncias no plasma, sendo independentemente do tipo de estressor causador, porém é afetada por fatores quantitativos, pela intensidade e duração do estímulo (Carneiro, 2001).

A resposta secundária ou fase adaptativa, inicia-se com alterações metabólicas, osmorregulatórias e imunológicas, de acordo com a demanda energética necessária, nesta

fase ocorre a quebra do glicogênio hepático resultando no aumento da glicose circulante (Mazeaud & Mazeaud, 1981). Estes fatores também ocasionam aumento do fluxo sanguíneo nas brânquias, cérebro e músculo para regular funções cardíacas e respiratórias, aumento da permeabilidade branquial e da capacidade de transporte. Além disso, ocorre o aumento da afinidade e recrutamento de oxigênio, a partir do aumento do número de células vermelhas (Piedade, 2021). O lactato, caso apresente alta concentração, também pode ser usado como fonte energética (Mommsen *et al.*, 1999).

A resposta terciária ocorre quando o estresse for de caráter crônico, assim ocorre o aumento nos animais dos níveis de catecolaminas e cortisol no sangue. Esta resposta é caracterizada pela exaustão do sistema biológico, onde as reservas energéticas são esgotadas, representado assim em impactos prejudiciais sobre o crescimento, a reprodução e as respostas imunes (Wendelaar Bonga 1997; Tort, 2011). Esse processo pode ainda levar ao comprometimento do sistema de defesa afetando sua saúde, bem-estar e sobrevivência (Walters & Plumb, 1980; Wendelaar Bonga, 1997; Barton *et al.*, 2002; Urbinati *et al.*, 2020).

As alterações das condições ambientais, durante o cultivo, podem ainda influenciar as defesas antioxidantes dos peixes e induzir ao estado de estresse oxidativo (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005, Stoliar & Lushchak, 2012). De acordo com isso, a capacidade de um organismo de lidar com esta situação é amplamente determinado por sua capacidade de manter suas condições fisiológicas e metabólicas em homeostase (Pörtner & Knust, 2007). Lushchak & Storey (2021), definem que o processo de estresse oxidativo está relacionado a um aumento transitório ou de longo prazo nos níveis de ERO em estado estacionário, resultando na interrupção das vias metabólicas e de sinalização celular. A produção de ERO é principalmente um subproduto da respiração aeróbica mitocondrial que suporta os processos metabólicos básicos. No entanto, quando a produção de ERO excede a produção natural dos mecanismos antioxidantes, podem ocasionar dano oxidativo a moléculas como carboidratos, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios (Sies, 1986; Sayre, 2001; Lushchak, 2011; Schieber & Chandel, 2014; Halliwell & Gutteridge, 2015; Nimse & Pal 2015).

A formação de ERO ocorre naturalmente como subproduto do metabolismo oxidativo e depende de um delicado equilíbrio bioquímico entre a capacidade de proteção e reparo (antioxidantes) e a formação desses compostos reativos (pró-oxidantes), desempenhando um papel importante na sinalização redox (Pardini, 1995; Schieber & Chandel, 2014). O sistema de defesa antioxidante é composto por moléculas de baixo

peso molecular e diversas enzimas envolvidas na proteção das células contra danos oxidativos (Halliwell & Gutteridge, 2015). Sendo assim, a sua produção desproporcional pode levar ao aumento dos níveis de dano oxidativo em diferentes macromoléculas, incluindo DNA, RNA, proteínas e lipídios (Halliwell & Gutteridge, 2015). A partir do processo de redução do oxigênio para formação de água, ocorre a geração de espécies intermediárias como o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2) e o radical hidroxila ($HO\cdot$). Sendo assim, quantificar o sistema antioxidante e os danos em proteínas e lipídeos, auxiliam na identificação do estresse oxidativo nos tecidos (Forgati *et al.*, 2017).

A avaliação de possível dano e estresse nos organismos é efetuada de várias formas. O dano lipídico pode ser identificado pela reação de radicais livres com outros não- radicais pelo processo de reação em cadeia onde um radical gera outro radical (Pinto *et al.*, 2019). Sendo assim, os danos oxidativos nas proteínas, pode ser realizado pela quantificação dos grupos sulfidrilas (tióis), que podem ser proteicos (P-SH), e não proteicos (NP-SH) que são considerados biomarcadores relevantes nos processos oxidativos em proteínas (Di Simplicio *et al.*, 1998; Erel & Neselioglu, 2014). Na determinação dos níveis de NP-SH estima-se que a concentração do tripeptídeo glutathiona (GSH) representa cerca de 90% da quantidade total de NP-SH e apresenta uma alta concentração nos tecidos, sendo a molécula redutora mais abundante, principalmente no tecido hepático onde desempenha um importante papel de manter o estado redox dos grupos sulfidrilas das proteínas celulares (Yuan & Kaplowitz, 2009). Nas avaliações bioquímicas, em especial na concentração glicêmica, a qual é fortemente modificada frente a condições indutoras de estresse, assim como o perfil lipídico com o aumento nas concentrações plasmáticas de triglicérides e ácido graxo livre indicam forte mobilização das reservas de gordura. Há assim uma inibição da utilização da glicose pelos tecidos periféricos e a liberação de glicose pelo fígado, modulando a homeostase glicêmica e a gliconeogênese a partir de lipídios (Da Silva *et al.*).

As condições que levam a situação de estresse desempenham um papel importante na regulação do estresse oxidativo, o controle preventivo dessa condição pode auxiliar na implementação de práticas que promovam a saúde e a qualidade de vida dos peixes no ambiente de cultivo (Faria *et al.*, 2021).

1.7. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

A utilização de biomarcadores sanguíneos, em peixes, é essencial para avaliar o estado fisiológico nos animais (Jamalzadeh & Ghomi, 2009; Ahmed, Reshi, & Fazio, *et al.* 2020). Estes biomarcadores são importantes para avaliar tanto a saúde dos peixes, bem como as respostas a alterações na nutrição, qualidade da água e doenças (Svobodová *et al.* 1993; Fazio, 2019). Sua variabilidade depende de fatores endógenos e exógenos, sendo uma ferramenta que auxilia na compreensão da relação dos parâmetros sanguíneos com a adaptabilidade dos peixes ao ambiente, refletidos frente aos aspectos sanitários e geração de estresse (Boyd, 1979; Mariano *et al.*, 2015; Ahmed, Reshi, & Fazio, 2020). Dessa forma, a utilização dos parâmetros sanguíneos, como bioindicadores, sobre as condições fisiológicas e de sanidade são considerados essenciais, pois são os primeiros a apresentarem alterações frente a um agente estressor (Tavares-Dias & Moraes 2007, Dal'Bó *et al.*, 2015). Nitz *et al.* (2019), em seu estudo, induzindo pacu a níveis sub-letais de amônia, avaliaram a sua recuperação e observaram alterações nos parâmetros sanguíneos, porém os autores evidenciaram que o tempo de 10 dias foi suficiente para a recuperação da homeostase.

Certas variações no perfil sanguíneo podem indicar alterações no metabolismo e nos processos bioquímicos do organismo. Para analisar estas variações, são utilizados os parâmetros hematológicos como hematócrito, hemoglobina e a concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM), e os seus resultados são de alta confiabilidade para a verificação da condição de sanidade do organismo, refletindo o estado fisiológico momentâneo dos peixes (Centeno *et al.*, 2007; Sado, de Bicudo & Cyrino, 2014; M ahmed *et al.* 2019).

Os órgãos de peixes mais importantes afetados pela qualidade da água são as brânquias, rins, fígado e baço (Tayel *et al.*, 2018). Os estudos hematológicos são considerados muito úteis quando há a exposição direta, referente a qualquer impacto adverso nos peixes (Ahmed *et al.* 2019).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL:

Avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrato sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos e de estresse oxidativo de juvenis de pacu em sistema BFT. Assim como avaliar a composição bacteriana do floco.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos do nitrato sobre os índices de desempenho zootécnico de juvenis de pacu;
- Avaliar as possíveis alterações ocasionadas pelo nitrato nos parâmetros sanguíneos de juvenis de pacu;
- Verificar os efeitos do nitrato nos parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo no fígado e brânquias de juvenis de pacu.
- Avaliar a composição bacteriana do floco, no sistema BFT, com diferentes níveis de nitrato.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I., RESHI Q.M., FAZIO F. 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in diferente fish species: A review. *Aquaculture International* 28: 869-899. DOI: 10.1007/s10499-019-00501-3
- ASADUZZAMAN, M., RAHMAN, M. M., AZIM, M. E., ISLAM, M. A., WAHAB, M. A., VERDEGEM, M. C. J., & VERRETH, J. A. J. Effect of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. *Aquaculture*. 306, 2010. 127-136 p.
- AVNIMELECH Y, KOCHBA M (2009) Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. *Aquaculture* 287: 163–168
- BARTON, B. A. Stress in Fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, n. 42, v. 3, p. 517-525, 2002.
- BARTON, B.A. 1997. Stress in finfish: past, present and future—a historical perspective. pp. 1–34. In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter & C.B Schreck (ed.) *Fish Stress and Health in Aquaculture*, Society for Experimental Biology Seminar Series 62, Cambridge University Press, Cambridge.
- BERNET, D., SCHMIDT, H., MEIER, W., BURKHARDT-HOLM, P., & WAHLI, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22, 25– 34. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000036196.84682.27>
- BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., SIGNOR, A. A., BOSCOLO, W. R., LORENZ, E. K., & MALUF, M. L. F. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.2323-2329, 2010.
- BOYD, C. Water quality in warmwater fish pond. Alabama: Auburn University, 1979
- BRUNE, D.E.; SCHWARTZ, G.; EVERSOLE, A. G.; COLLIER, J.A.; SCHWDLER, T. E. Intensification of pond aquaculture and high-rate photosynthetic systems. *Aquac. Eng.* 28, 65–86. 2003.
- BUSSEL, C.G.J., SCHROEDER, J.P., WUERTZ, S., SCHULZ, C., 2012. The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 326-329(1), 163-167.
- CALIXTO, E. S., SANTOS, D. F. B., LANGE, D., GALDIANO, M. S., & RAHMAN, I. U. Aquaculture in Brazil and worldwide: overview and perspectives. *Journal of Environmental Analysis and Progress*. v.5, n.1, p.98-107, 2020.
- CARDOSO, A. S.; SILVA, G. M. N.; MARQUES, É. A. T.; CUNHA, M. C. C.; SOBRAL, M. C. M. Impactos ambientais da piscicultura de tanque escavado no reservatório Itaparica, semiárido pernambucano. *Brazilian Journal Of Development*, [S.L.], v. 6, n. 11, p. 92607-92618, 2020. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n11-610>.
- CARNEIRO, P.C.F. e URBINATI, E.C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (*Teleostei: Characidae*) during transport. *Aquaculture Research*, v.32, p. 1-8, 2001.

CENTENO, L., SILVA-ACUÑA, R., BARRIOS, R., SALAZAR LUGO, R., MATUTE, C., & PÉREZ, J. L. (2007). Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 25(4), 237– 243. Available in http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692007000400001&lng=es&nrm=iso

CHENG CH, YANG FF, LING RZ, LIAO SA, MIAO YT, YE CX AND WANG AL. 2015. Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*). *Aquat Toxicol* 164: 61– 71.

CHING B, CHEW SF, WONG WP AND IP YK. 2009. Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and brain of *Boleophthalmus boddarti* (*mudskipper*). *Aquat Toxicol* 95: 203-212.

CHU, C.P., LEE, D.J., 2004. Multiscale structures of biological flocs. *Chem. Eng. Sci.* 488 59 (8-9), 1875-1883.

CIJI A, SAHU NP, PAL AK, DASGUPTA S AND AKHTAR MS. 2012. Alterations in serum electrolytes, antioxidative enzymes and haematological parameters of *Labeo rohita* on short-term exposure to sublethal dose of nitrite. *Fish Physiol Biochem* 38: 1355-1365.

COCHAVA, M.; DIAB, S.; AVNIMELECH, Y. MIRES, D.; AMIT, Y. Intensive growth of fish with minimal water exchange. *Fish. Fish-breeding Israel*, 23(4): 174181. 1990.

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

DA SILVA, CARLOS ALBERTO; GONÇALVES, BRUNO FERREIRA; DE SOUZA, SILVA ALEXANDRE REIS TAVEIRA. Perfil fisiológico de peixes tropicais (*colossoma, piaractus e brycon*) criados em tanque rede: análise após 24 horas da alimentação.

DAL'BÓ, G. A., SAMPAIO, F. G., LOSEKANN, M. E., QUEIROZ, J. F. D., LUIZ, A. J. B., WOLF, V. H. G., GOLÇALVES, T. V., & CARRA, M. L. (2015). Hematological and morphometric blood value of four cultured species of economically important tropical foodfish. *Neotropical Ichthyology*, 13(2), 439-446

DAVIDSON, J., GOOD, C., WELSH, C., & SUMMERFELT, S.T. (2011). Abnormal swimming behavior and increased deformities in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cultured in low exchange water recirculating aquaculture systems. *Aquacult. Eng.* 45, 109–117.

DAVIDSON, J., GOOD, C., WELSH, C., & SUMMERFEST, S.T. 2014. Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 59 (2014) 30–40.

DE FATIMA PEREIRA DE FARIA, C., DOS REIS MARTINEZ, C. B., TAKAHASHI, L. S., DE MELLO, M. M. M., MARTINS, T. P., & URBINATI, E. C. Modulation of the innate immune response, antioxidant system and oxidative stress during acute and chronic stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 47, p. 895-905, 2021.

- DE SCHRYVER, P., CRAB, R., DEFOIRDT, T., BOON, N., & VERSTRAETE, W. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125–137. 2008.
- DI SIMPLICIO, P., CACACE, M. G., LUSINI, L., GIANNERINI, F., GIUSTARINI, D., & ROSSI, R. (1998). Role of protein-SH groups in redox homeostasis - The erythrocyte as a model system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 355 (2): 145-152.
- DINDA R, MANDAL A, DAS S (2019) Neem (*Azadirachta indica* A. Juss)-supplemented biofloc medium as alternative feed in common carp (*Cyprinus carpio var. communis Linnaeus*) culture. *Journal of Applied Aquaculture* 1–19.
- EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346-358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- EKASARI J, MARYAM S (2012) Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *Hayati Journal of Biosciences* 19: 73–80
- 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, p. 105-111, 2014.
- EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E. L. C.; CAVALLI, R. O.; WASIELESKY, W. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, v. 43, p. 447457, 2011.
- EMERENCIANO, M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R.; MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MIRANDABAEZA, A. 2017. Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture. *Intech Open*. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/66416>
- EREL, O., & NESELIOGLU, S. (2014). A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochemistry*, 47(18): 326-332.
- ERKMEN, B., KOLANKAYA, D., 2000. Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of *Capoeta tinca* living in two tributaries of *Kizilirmak River*, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 64, 418-425. <https://doi.org/10.1007/s001280000017>.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- FAZIO F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture* 500: 237242. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.10.030
- FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de Pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 3, p. 646-653, 2000.

- FLORES-LOPES, F., & THOMAZ, A. T. (2011). Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazilian Journal of Biology*, 71(1), 179– 188. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000100026>
- FORGATI, M., KANDALSKI, P. K., HERRERIAS, T., ZALESKI, T., MACHADO, C., SOUZA, M. R. D. P., & DONATTI, L. Effects of heat stress on the renal and branchial carbohydrate metabolism and antioxidant system of Antarctic fish. *Journal of Comparative Physiology B*, v. 187, p. 1137-1154, 2017.
- FURLANETO FDPB, ESPERANCINI MST (2009) Estudo da viabilidade economica de projetos de implantação de piscicultura em viveiros escavados. *Informações Econômicas* 2: 5–11.
- FURTADO, P. S., CAMPOS, B. R., SERRA, F. P., KLOSTERHOFF, M., ROMANO, L. A., & WASIELESKY, W. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). *Aquac. Int.*, v.23, p.315–327, 2015. DOI: 10.1007/s10499-014-9817-z.
- FURTADO, P.S., POERSCH, L.H., & WASIELESKY, W. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*. 321:130–135.
- GAO F, LIAO S, LIU S, BAI H, WANG A, YE J (2019) The combination use of *Candida tropicalis* HH8 and *Pseudomonas stutzeri* LZ301 on nitrogen removal, biofloc formation and microbial communities in aquaculture. *Aquaculture* 500: 50–56.
- GAO J, ZHANG C, YANG B, SUN L, ZHANG C, WESTERFIELD M AND PENG G (2012). Dcc Regulates Asymmetric Outgrowth of Forebrain Neurons in Zebrafish. *PLoS ONE*, 7 (5): 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0036516.
- GOMEZ ISAZA, D.F., CRAMP, R.L., FRANKLIN, C.E., 2020. Living in polluted waters: a metaanalysis of the effects of nitrate and interactions with other environmental stressors on freshwater taxa. *Environ. Pollut.* 261, 114091.
- GUTIERREZ-WING, M. T.; MALONE, R. F. Biological filters in aquacultures; trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquaculture*, v. 34, p. 163-171, 2006.
- HALLIWELL, BARRY; GUTTERIDGE, JOHN M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford university press, USA, 2015.
- HAMLIN, H.J., 2006. Nitrate toxicity in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquaculture* 253, 688–693.
- HARGREAVES, J.A., 2013. Bioflocs production system for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.
- HASLUN, J. A.; CORREIA, E.; STRICHAR, K.; MORRIS, T.; SAMOCHA, T. Characterization of bioflocs in a no water exchange super-intensive system for the production of food size pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of 35 Aquaculture*, v. 2, n. 6, p. 29-39, 2012.

- HEGAZI MM, ATTIA ZI AND ASHOUR OA. 2010. Oxidative stress and antioxidante enzymes in liver and White muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquat Toxicol* 99: 118-125.
- HILBIG, C. C., BOSCOLO, W. R., FEIDEN, A., DIETERICH, F., LORENZ, E. K., & ZAMINHAN, M. Feeding rate for pacu reared in net cages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, p. 1570-1575, 2012.
- HRUBEC, T.C., (1996). Nitrate toxicity: a potential problem of recirculating systems. *Aquacult. Eng. Soc. Proc.*, 41-48.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2017). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/>
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2020). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/>
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2021). Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/0?ano=2021>
- IWAMA, G. K.; VIJAYAN, M. M.; FORSYTH, R. B.; ACKERMAN, P. A. Hear shock proteins ans physiological stress in fish. *American Zoologist*. v. 39, p. 901-909, 1999.
- JAMALZADEH H.R., GHOMI M.R. 2009. Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 42 (1): 81-87. DOI: 10.1080/10236240902771226
- JENKINSON, D.S., 2001. The impact of humans on the nitrogen cycle, with a focus on temperate arable agriculture. *Plant Soil* 228, 3e15.
- JOBLING, M. Fish bioenergetics. Chapman and Hall, London, 1994.
- JORAND, F., ZARTARIAN, F., THOMAS, F., BLOCK, J. C., BOTTERO, J. Y., VILLEMIN, G., ... & MANEM, J. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. *Water research*, v. 29, n. 7, p. 1639-1647, 1995.
- KIM, S.K., PANG, Z., SEO, H.C., CHO, Y.R., SAMOCHA, T., & JANG, I.K. (2014). Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Aquaculture Res.* 45:362-371.
- KJELLAND, M. E., WOODLEY, C. M., SWANNACK, T. M., & SMITH, D. L. (2015). A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: Potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. *Environment Systems and Decisions*, 35(3), 334- 350. <https://doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2>
- KRUMMENAUER D., SAMOCHA T., POERSCH L. H., LARA G. R., WASIELESKY W. Effect of water reuse on the culture of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* in BFT system. *J World Aquac Soc*, v. 45, n. 1, p. 3-14, 2014.
- KRUMMENAUER, D., CAVALLI, R.O., POERSCH, L.H., & WASIELESKY, W. (2011). Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *J World Aquac Soc* 42:726-733.

- KUHN, D. D., SMITH, S. A., BOARDMAN, G. D., ANGIER, M. W., MARSH, L., & FLICK JR, G. J. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquacult.*, v. 309, n. 1-4, p. 109-114, 2010.
- LUO, G., GAO, Q., WANG, C., LIU, W., SUN, D., LI, L., & TAN, H. (2014). Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*, v. 422–423 p.1–7, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>.
- LUO, G., XU, J., & MENG, H. (2020). Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture*, 520, 734675. doi:10.1016/j.aquaculture.2019.734675
- LUSHCHAK VI, STOREY KB (2021) Conceito de estresse oxidativo atualizado: definições, classificações e vias regulatórias implicadas. *EXCLI J* 20:956–967. <https://doi.org/10.17179/excli2021-3596>
- LUSHCHAK, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicol.* 101, 13-30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>.
- M AHMED, N., S FLEFIL, N., I TAYEL, S., A MAHMOUD, S., & SOLIMAN, A. G. Biological treatment of ammonia using biofloc system for *Oreochromis niloticus* fish. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, v. 23, n. 4, p. 639-657, 2019.
- MALTEZ LC, BARBAS LA, NITZ LF, PELLEGRIN L, OKAMOTO MH, SAMPAIO LA, MONSERRAT JM AND GARCIA L. 2018. Oxidative stress and antioxidante responses in juvenile Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* exposed to sublethal levels of nitrite. *Fish Physiol Biochem* 1-14.
- MARIANO, W. S.; TAVARES-DIAS, M. [Orgs.]. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. [Vol. 1]. São Carlos: Pedro & João Editores, 2015.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ R.M., MORALES A.E., SANZ A. 2005. Antioxidant defenses in fish Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15: 75–88. DOI: 10.1007/s11160-005-7846-4
- MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R., FRANCISCO, V.A., GARIBAY-VALDEZ, E., ORTÍZ-ESTRADA, A.M., PORCHAS-CORNEJO, M.A., LAGO-LESTÓN, A., 2018. Amaranth and wheat grains tested as nucleation sites of microbial communities to produce bioflocs used for shrimp culture. *Aquaculture* 497, 503-509.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F. Adrenergic responses to stress in fish. *Stress and fish*, 1981.
- MCCARTY, P.L., 1975. Stoichiometry of biological reactions. *Progress in Water Technology* 7,157-172.
- MIAO, S., SUN, L., BU, H., ZHU, J., CHEN, G., 2017. Effect of molasses addition at C/N ratio of 20:1 on the water quality and growth performance of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquac. Int.* 25,1409-1425
- MOMMSEN, T. P., VIJAYAN, M. M., MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v.9, p.211-268, 1999.

- MUGWANYA, M., DAWOOD, M. A., KIMERA, F., & SEWILAM, H. Biofloc systems for sustainable production of economically important aquatic species: A review. *Sustainability*, v. 13, n. 13, p. 7255, 2021
- NEGREIROS, L. P., & TAVARES-DIAS, M. (2019). Parasites in farmed *Piaractus brachypomus* (*Serrasalminidae*) in the state of acre, western Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica*, 49, 294– 298. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201900491>
- NIMSE SB, PAL D (2015) Radicais livres, antioxidantes naturais e seus mecanismos de reação. *RSC Advances* 5:27986–28006
- NITZ, L. F., MALTEZ, L. C., PELLEGRIN, L., GARCIA, L. D. O., BARBAS, L. A. L., & PRENTICE-HERNANDEZ, C. Flesh quality and stress responses of *Piaractus mesopotamicus* after exposure to sublethal levels of ammonia and subsequent recovery. *B. Inst. Pesca*, p. e325-e325, 2019.
- OGELLO, E. O., OUTA, N. O., OBIERO, K. O., KYULE, D. N., & MUNGUTI, J. M. The prospects of biofloc technology (BFT) for sustainable aquaculture development. *Scientific African*, v. 14, p. e01053, 2021.
- PANIGRAHI, A.; SARANYA, C.; SUNDARAM, M.; KANNAN, S. V.; DAS, R. R.; KUMAR, R. S; OTTA, S. K. Carbon: Nitrogen (C: N) ratio level variation influences microbial community of the system and growth as well as immunity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in biofloc based culture system. *Fish & shellfish immunology*, v. 81, p. 329-337, 2018.
- PARDINI, R.S., (1995). Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29 (1): 101-118.
- PEIXE, B. R. Anuário brasileiro da piscicultura. PEIXE BR, 2023.
- PELLEGRIN, L., NITZ, L. F., PINTO, D. D. S. B., COPATTI, C. E., WASIELESKY, W., & GARCIA, L. Effects of suspended solids in the survival and haematological parameters of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) in a biofloc technology culture system. *Aquaculture Research*, v. 53, n. 1, p. 276-284, 2022.
- PEREIRA, A., CARVALHO, A.P., CRUZ, C., SARAIVA, A., 2017. Histopathological changes and zootechnical performance in juvenile zebrafish (*Danio rerio*) under chronic exposure to nitrate. *Aquaculture* 473, 197–205.
- PETRERE, M. J. (1989). River fisheries in Brazil: A review. *Regulated Rivers: Research & Management*, 4 (1): 1-16.
- PIEIDADE, ALLAN EMILIO. Efeitos da relação entre carboidrato e lipídio em respostas fisiológicas em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887). 2021.
- PIEDRAHITA, R.H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture* 226, 3544. 2003.
- PINTO, D., PELLEGRIN, L., NITZ, L. F., DA COSTA, S. T., MONSERRAT, J. M., & GARCIA, L. Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquaculture Research*, v. 50, n. 10, p. 3017-3027, 2019.
- POLEKSIC, V., & MITROVIC-TUTUNDZIC, V. (1994). Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In R. Muéller & R. Lloyd (Eds.), *Sublethal and*

chronic effects of pollutants on freshwater fish (pp. 339– 352). Oxford, UK: FAO. Fishing News Books.

PORTNER, H. O. & KNUST, R. (2007). Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science* 315, 95–97.

RODGERS, E. M., OPINION, A. G. R., ISAZA, D. F. G., RAŠKOVIĆ, B., POLEKSIĆ, V., & DE BOECK, G. Double whammy: nitrate pollution heightens susceptibility to both hypoxia and heat in a freshwater salmonid. *Science of The Total Environment*, v. 765, p. 142777, 2021.

RODRIGUES, R.V., SCHWARZ, M.H., DELBOS, B.C., CARVALHO, E.L., ROMANO, L.A., SAMPAIO, L.A., 2011. Acute exposure of juvenile cobia *Rachycentron canadum* to nitrate induces gill, esophageal and brain damage. *Aquaculture* 322, 223–226.

SADO, R.Y.; BICUDO, A.J. DE A. & CYRINO, J.E.P. (2014). Hematology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed graded levels of mannan oligosaccharides (MOS). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(1), 30– 39. <https://doi.org/10.3856/vol42-issue1-fulltext-3>

SAMOCHA, T. M. (2019). Sustainable biofloc systems for marine shrimp. Academic Press.

SAYRE, L. M., SMITH, M. A., & PERRY, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current medicinal chemistry*, 8 (7): 721-738.

SCHIEBER, M., & CHANDEL, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24 (10): 453-462.

SCHRAM, E., ROQUES, J.A.C., ABBINK, W., YOKOHAMA, Y., SPANINGS, T., DE VRIES, P., BIER-MAN, S., VAN DE VIS, H., & FLIK, G. (2012). The impact of elevated water nitrate concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquacult. Res.*

SCHREIER, H.J., MIRZOYAN, N., SAITO, K., 2010. Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Cobiot.* 21, 318-325.

SCHUMANN, M., & BRINKER, A. (2020). Understanding and managing suspended solids in intensive salmonid aquaculture: A review. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2109– 2139. <https://doi.org/10.1111/raq.12425>

SCHVEITZER, R., ARANTES, R., COSTÓDIO, P.F.S; ESPIRITO SANTO, C.M., ARANA, L.V., SEIFFERT, W.Q., ANDREATTA, E.R. 2013. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 56, 59-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>

SGNAULIN T, DE MELLO GL, THOMAS MC, GARCIA JRE, DE OCA GARM, EMERENCIANO MGC (2018) Biofloc technology (BFT): an alternative aquaculture system for piracanjuba *Brycon orbignyanus*? *Aquaculture* 485: 119–123.

SIES, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25 (12): 1058-1071

SILVA, K. R.; WASIELESKY, W.; ABREU, P. C. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society, Batom rouge, v. 44, 2013. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>.

SILVA, N. C. S., MENEZES, L. C., MARCONDES, H. R., SOUTO, I. C. G. T. C. N. IJUÍ, ADEADORI; MATEMÁTICO, MEIO DA APLICAÇÃO DE MODELO. Ciências Agrárias E Meio Ambiente: Pesquisas, Desafios E Inovações Tecnológicas-Volume 2. Ciências agrárias e meio ambiente: pesquisas, desafios e inovações tecnológicas–Volume 2, 2023.

SINHA AK, ABDELGAWAD H, GIBLEN T, ZINTA G, DE ROP M, ASARD H, BLUST R AND DE BOECK G. 2014. Anti-oxidative defences are modulated differentially in three freshwater teleosts in response to ammonia-induced oxidative stress. PLoS One. 9: e95319.

STOLIAR, OKSANA B.; LUSHCHAK, VOLODYMYR I. Environmental pollution and oxidative stress in fish. Oxidative stress-environmental induction and dietary antioxidants, p. 131-166, 2012.

STORMER, J., JENSEN, F.B., & RANKIN, J.C. (1996). Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects on ionic balance. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53, 1943–1950.

STRZYZEWSKA, E., SZAREK, J., & BABIŃSKA, I. (2016). Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: A review. Veterinarni Medicina, 61(3), 123– 132. <https://doi.org/10.17221/8763-VETMED>

STRZYŻEWSKA-WOROTYŃSKA, E., SZAREK, J., BABIŃSKA, I., & GULDA, D. (2017). Gills as morphological biomarkers in extensive and intensive rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) production technologies. Environmental Monitoring Assessment, 189, 611. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6278-7>

SUN H, WANG W, LI J AND YANG Z. 2014. Growth, oxidative stress responses, and gene transcription of juvenile bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) under chronic-term exposure of ammonia. Environ Toxicol Chem 33: 1726-1731.

SVOBODOVÁ Z., LLOYD R., MÁCHOVÁ J., VYKUSOVÁ B. 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper No. 54. FAO, Rome.

TAVARES-DIAS, M., & MORAES, F. R. (2007). Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. Journal of Fish Biology, 71(2), 383-388.

TAYEL, S. I.; MAHMOUD, S. A.; AHMED, N. A. M. AND ABDEL RAHMAN A. S. A. (2018). Pathological impacts of environmental toxins on *Oreochromis niloticus* fish inhabiting the water of Damietta branch of the River Nile, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Biology, 22 (5): 309- 321

TIERNEY, T.W., RAY, A.J., 2018. Comparing biofloc, clear-water, and hybrid nursery systems (Part I): Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and stable isotope dynamics. Aquacult. Eng. 82, 73-79.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. Developmental and Comparative Immunology, v. 35, n. 12, p. 1366-1375, 2011.

- URBINATI, E. C., ZANUZZO, F. S., BILLER-TAKAHASHI, J. D. Stress and immune system in fish. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. Ed., Elsevier, Academic Press. Amsterdam. p. 93-114, 2020.
- URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D.; TAKAHASHI, L. S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*, v. 2, p. 205-244, 2005.
- URBINATI, E.C., GONÇALVES, F.D., & TAKAHASHI, L.S. (2010). Pacu (*Piaractus mesopotamicus*): in: Baldisserotto, B., & Gomes, L.C. (Eds.): *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2ª ed. Santa Maria, RS. Editora da UFSM, 608p.
- URBINATI, E.C., TAKAHASHI, L.S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO, B. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 3ª edição revisada e ampliada. Editora UFSM, Santa Maria, 2023.
- VALENTI, W. C., BARROS, H. P., MORAES-VALENTI, P., BUENO, G. W., & CAVALLI, R. O. *Aquaculture in Brazil: past, present and future*. *Aquaculture Reports*, v. 19, p. 100611, 2021.
- VALLADÃO, G. M. R., GALLANI, S. U., & PILARSKI, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369.
- VAN BUSSEL, C.G.J., SCHROEDER, J.P., WUERTZ, S., & SCHULZ, C. (2012). The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 326–329, 163–167.
- VAN RIJN J. (2013) Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 53, 49–56.
- VAN WYK, P., 2006. Production of *L. vannamei* in recirculating aquaculture systems: management and design considerations. In: Rakestraw, T.T., Douglas, L.S., Marsh, L., Granata, L., Correa, A., Flick, G.J. (Eds.), *Proceedings of the 6th International Conference on Recirculation Aquaculture*. Roanoke, VA, pp. 38–47.
- VEGAD, J.L., 2015. *A Textbook of Veterinary General Pathology*. Cbs Publishers & Distributors, New Delhi.
- WALTERS, G. R., PLUMB, J. A. Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, v. 17, p. 177-185, 1980.
- WARD, B.B., ARP, D.J., KLOTZ, M.G., 2011. *Nitrification*. IWA Pub, London, UK. pp.3-12.
- WASIELESKY, W., ATWOOD, H.I., STOKES, A., & BROWDY, C.L. (2006). Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396-403.
- WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, v.77, p. 591-625, 1997.
- XIMENES, LUCIANO FEIJÃO; VIDAL, MARIA DE FATIMA. *Pesca e Aquicultura: Piscicultura*. 2023.
- YAMASHITA, M.; YABU, T.; OJIMA, N. Stress protein Hsp70 in fish. *AquaBioScience Monographs*. v. 3, n. 4, p. 111-141, 2010.

YANG W, SUN H, XIANG F, YANG Z AND CHEN Y. 2011. Response of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*) to long-term ammonia exposure: feeding, growth, and antioxidant defenses. *J Freshw Ecol* 26: 563–570

YANG W, XIANG F, LIANG L AND YANG Z. 2010. Toxicity of ammonia and its effects on oxidative stress mechanisms of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*). *J Fresh W Eco* 125: 297-302.

YUAN, L., & KAPLOWITZ, N. (2009). Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*, 30 (1-2): 29-41.

Capítulo I

Efeito do nitrato em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema
BFT

Efeito crônico do nitrato em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT

Nathália D Fortunato^{1,3}, Daniel Pinto^{1,3}, Wilson Wasielesky^{2,3}, Luciano Garcia^{1,3*}.

¹Instituto de Oceanografia, Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

²Instituto de Oceanografia, Laboratório de Carcinocultura, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

³Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

*Autor correspondente: Luciano Garcia - Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 96203-900, Rio Grande, RS, Brasil. E-mail: garcia_log@hotmail.com

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito crônico de diferentes níveis de nitrato no desempenho zootécnico e em parâmetros sanguíneos, de estresse oxidativo de juvenis de pacu em sistema BFT. Sendo assim, os animais ($31,34 \pm 0,14$ g) foram expostos a três diferentes concentrações de nitrato: $139,51 \pm 4,28$; $333,66 \pm 11,94$ e $519,11 \pm 18,83$ mg $\text{NO}_3\text{-N L}^{-1}$, nomeados BFT150, BFT300 e BFT500, respectivamente, cada uma com 3 repetições, por 45 dias. Os animais foram distribuídos aleatoriamente (12 animais repetição⁻¹), em tanques de 310L, em sistema de bioflocos, com aeração constante e temperatura controlada. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial. Durante o experimento, foram realizadas coletadas de flocos, sangue, brânquias e fígado (início e final do experimento). Após 45 dias experimentais, foi possível observar que apenas a concentração BFT500, ocasionou redução no desempenho zootécnico. Os parâmetros sanguíneos de hematócrito e hemoglobina apresentaram diferença significativa, sendo que a concentração BFT150, apresentou as maiores alterações em relação as demais concentrações. Com relação aos eritrócitos, apenas a concentração BFT500, apresentou diferença das demais concentrações. Para os parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo, o tecido branquial apresentou maior concentração de proteína e peroxidação lipídica (LPO) na concentração BFT150, diferindo das demais concentrações. A atividade da glutathione-S-Transferase (GST) nas brânquias apresentou diferença significativa na seguinte ordem BFT300 > BFT500 > BFT150. Além disso, o lactato foi maior nas concentrações BFT300 e BFT500 em relação a concentração BFT150. No tecido hepático, a ACAP, foi maior na concentração BFT500, e o P-SH menor em BFT300. Também ocorreu diferença significativa nos níveis de glicose e lactato onde, a glicose foi menor na concentração BFT500 e o lactato foi menor na concentração BFT300. A comunidade bacteriana apresentou diferença significativa no dia 7 para filamentos livres e, no dia 43 para vibrio nas concentrações de BFT500 e BFT150, respectivamente. Além disso foi possível observar um aumento nas populações de cocoides, das bactérias filamentosas agregadas e dos bacilos e, uma redução de bactérias filamentosas livres e do vibrio em relação aos dois períodos analisados. Sendo assim, é possível concluir que o pacu pode ser criado sem prejuízo de seu crescimento e desenvolvimento em concentrações de nitrato menores que BFT300 no sistema BFT.

PALAVRAS-CHAVES: Bioflocos, piscicultura, hematologia, estresse oxidativo, desempenho zootécnico.

1 INTRODUÇÃO

Na produção aquícola, a piscicultura representa 76% da produção total de organismos aquáticos, sendo que 43% são provenientes da piscicultura de água doce (FAO, 2022). No Brasil a produção em 2022 teve um avanço de 2,3% em relação ao ano anterior (PeixeBr, 2023). O Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) encontra-se entre as espécies nativas mais cultivadas, tendo atingido uma produção de aproximadamente 7.318 mil toneladas em 2020 (IBGE, 2023). Esta espécie se destaca no cenário nacional, sendo a 6ª espécie mais produzida, juntamente com a patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) (IBGE, 2020).

O pacu é representante da superordem *Ostariophysi*, que compreende as espécies de peixes de maior valor comercial na piscicultura brasileira, é uma espécie originária da Bacia do Prata, presente nos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Urbinati *et al.*, 2010; Bicudo *et al.*, 2013). Esta espécie faz parte das espécies conhecidas como “peixes redondos”, dos quais o Brasil é um dos principais produtores (Valadão *et al.*, 2018). Esta espécie possui facilidade de criação em cativeiro, apresenta rápido crescimento e ganho de peso e, apresenta uma carne branca com ótima qualidade, excelente sabor e textura (Abimorad *et al.*, 2007; Wicki & Wiltchinsky, 2017). O pacu é um peixe onívoro com tendência a consumir sementes, folhas ou frutos (Baldisserotto & Gomes 2005), dentre outros alimentos disponíveis no ambiente. Esta sua característica alimentar favorece seu cultivo em diferentes sistemas de produção. Além disso, devido à baixa exigência em proteína animal, na dieta, é uma espécie que apresenta boa aceitação de proteína de origem vegetal, diminuindo com isso os custos de produção (Valadão *et al.*, 2018). De acordo com isso, podemos considerar sua criação em sistema de bioflocos (BFT).

A tecnologia BFT exige uma baixa ou nula troca de água, assim como apresenta uma redução da taxa de alimentação artificial. Com a utilização deste sistema, parte dos compostos nitrogenados provenientes de restos de ração e fezes são reciclados, e posteriormente são convertidos em proteína microbiana, as quais podem ser utilizadas como fonte alimentar (Wasielesky *et al.*, 2006). Além disso, ocorre o aumento na população de diferentes micro-organismos aderidos aos flocos ou que estão presentes no meio, auxiliando através do consumo dos flocos e destes micro-organismos, a assimilação de outra fonte de proteína além da proveniente da ração. Outro benefício deste sistema é a diminuição da amônia e do nitrito no sistema, evitando assim o acúmulo destes compostos, o que melhora a qualidade da água (Avnimelech & Kochba 2009; Ekasari & Maryam 2012; Sgnaulin *et al.* 2018; Dinda *et al.* 2019; Gao *et al.* 2019).

Este sistema é formado a partir do estímulo do desenvolvimento de micro-organismos presentes na água por meio da manipulação da relação carbono:nitrogênio (C/N), através de uma fonte de carbono orgânico (Samocha, 2019). Os flocos formados através dessa manipulação são compostos por biomassa, substâncias poliméricas extracelulares e partículas orgânicas que aderem a uma matriz orgânica (Luo *et al.* 2020). A biomassa constituinte dos flocos inclui bactérias, fungos, flagelados, protozoários, ciliados, algas e outros micro-organismos (Jorand *et al.*, 1995; Schryver *et al.*, 2008; Asaduzzaman *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2012; Hargreaves, 2013; Krummenauer *et al.*, 2014).

Entretanto, o sistema BFT tem como característica levar ao acúmulo de nitrato (NO_3^-) ao longo dos ciclos de produção, alterando o ambiente de cultivo (Krummenauer *et al.*, 2011). Em sistemas que reutilizam água, esse composto passa por um processo de nitrificação, resultando na forma final de nitrato-N através da oxidação do nitrito (Schuler *et al.*, 2010). A nitrificação bacteriana quimioautotrófica (NBQ) é a principal via de nitrificação da amônia para um sistema de aquicultura, tendo o nitrato como produto final (Van Rijn, 2013). O nitrato, embora seja um composto tóxico aos organismos cultivados, sua baixa permeabilidade branquial exige concentrações elevadas para causar toxicidade (Stormer *et al.*, 1996). Porém, no sistema BFT, com a utilização da água por vários ciclos de cultivo, faz com que ocorra o aumento desta substância no ambiente, podendo atingir níveis sub-letais aos animais.

Peixes expostos cronicamente à altas concentrações de nitrato, geralmente, sofrem de hipóxia funcional (Rodgers *et al.*, 2021), apresentando variação de acordo com a espécie. Os efeitos sub-letais, podem ocasionar um desequilíbrio na homeostase entre a produção de pró-oxidantes e as defesas antioxidantes de um organismo, causando um cenário de estresse oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2015). Sendo assim, podem gerar mais radicais livres e/ou diminuir a atividade do sistema de defesa antioxidante, aumentando os níveis de dano proteico ou lipídico (Yang *et al.* 2011; Ciji *et al.* 2012; Cheng *et al.* 2015).

Devido as brânquias estarem em contato com o meio, as oscilações dos diferentes parâmetros físicos e químicos da água, ocasionam alterações fisiológicas que podem ser verificadas a partir da avaliação das células sanguíneas dos peixes (Ahmed, Reshi & Fazio, 2020). Para auxiliar no monitoramento da sanidade dos animais e detecção do estresse, podem ser utilizados biomarcadores sanguíneos, que tem se mostrados essenciais para avaliar o estado fisiológico dos peixes (Jamalzadeh & Ghomi 2009).

Sendo assim a produção do pacu em sistema BFT é de grande interesse para o desenvolvimento da aquicultura, uma vez que pode contribuir para criação desta espécie, a qual apresenta um mercado estabelecido. De acordo com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrato sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos e de estresse oxidativo de juvenis de pacu em sistema BFT. Assim como avaliar a composição bacteriana do floco.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental para o desenvolvimento deste trabalho (protocolo nº P001/2021) foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Experimentação (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

ACLIMATAÇÃO E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Aquicultura Continental (LAC) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Os peixes, para realização dos experimentos, foram adquiridos de uma piscicultura comercial e, ao chegarem no laboratório foram mantidos em quarentena (20 dias). Após este período, os animais foram aclimatados em sistemas de recirculação (RAS) com água clara, compostos por três tanques (310L – volume útil de 250 L), com filtro mecânico/biológico, aeração constante, temperatura controlada (26°C) e fotoperíodo de 8 Luz/16 Escuro. Os animais foram alimentados 2 vezes ao dia (9 e 16 h), com ração comercial (Guabi – 36% PB). Estas condições permaneceram até o momento da realização dos experimentos.

Para a formação dos Bioflocos, a serem utilizados nas unidades experimentais, o mesmo foi produzido a partir de um inóculo concentrado, contendo $1362,5 \pm 132,02$ de sólidos suspensos totais (SST), onde foi distribuído na proporção de $18,79 \pm 2,03\%$ de inóculo concentrado por unidade experimentais, a fim de atingirmos a concentração desejada de 250 mg L^{-1} (Pellegrin *et al.*, 2022), como sendo a ideal para a criação da espécie neste sistema. A relação carbono/nitrogênio durante o estudo foi mantida na proporção de 15:1 (Avnimelech, 1999).

A partir do momento em que a concentração de SST foi atingida nas diferentes unidades experimentais, foi adicionado o nitrato de sódio (NaNO_3) diluído em água, a fim de atingir os valores definidos para as diferentes concentrações. Para ajustar os níveis de nitrato na água foi considerado o estudo de Presa *et al.* (2022), além do fator salinidade que o composto químico acrescentaria na água, para evitar estresse aos animais devido a

salinidade ou até mesmo mortalidade. Salinidades até 6 ppt não causam prejuízo à sobrevivência de juvenis de pacu (Barbosa Júnior, 2010), sendo assim, a concentração BFT500 ($519,11 \pm 18,83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$) foi determinada como a máxima, devido a atingir valores próximos ao máximo de salinidade. De acordo com isso, três tratamentos (3 repetições) com diferentes concentrações de nitrato foram definidos: BFT150 ($139,51 \pm 4,28$); BFT300 ($333,66 \pm 11,94$) e BFT500 ($519,11 \pm 18,83$) $\text{mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$.

Em seguida, os animais foram selecionados de acordo com o tamanho e peso e, foram distribuídos aleatoriamente, na densidade de 12 animais repetição⁻¹ (36 animais tratamento⁻¹), totalizando 108 juvenis de pacu ($31,34 \pm 0,14 \text{ g}$ e $11,41 \pm 0,04 \text{ cm}$). Os animais foram alocados nos tanques, já com a concentração de $250 \text{ mg SST L}^{-1}$ e as diferentes concentrações de nitrato, com aeração constante, temperatura da água mantida em 26°C e fotoperíodo de 8L/16E. A alimentação foi ofertada duas vezes ao dia (9 e 16 h), na proporção de 3% da biomassa, com ração comercial Guabi[®] (36% PB), de acordo com Pires *et al.* (2022).

PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA

Durante o período experimental foram monitorados diariamente os seguintes parâmetros: temperatura e oxigênio dissolvido (oxímetro, YSI DO 200A), pH (YSI DO 100A), amônia total (UNESCO, 1983), amônia não-ionizada (Colt, 2006) e nitrito (Bendschneider & Robinson, 1952). Duas vezes na semana foram verificados os níveis de nitrato por meio da metodologia adaptada de Garcia-Robledo *et al.* (2014). A cada dois dias foi monitorada a alcalinidade (Eaton *et al.* 2005) sendo utilizado bicarbonato de sódio (NaHCO_3) até atingir a correção necessária ideal nas unidades experimentais e sólidos sedimentáveis (SS) através de leitura com uso de cone Imhoff (Avnimelech, 2007). Os sólidos suspensos totais (SST) foram analisados por método barométrico, com auxílio de uma bomba de vácuo e filtragem em filtros de fibra de vidro (GF 50-A) (Strickland & Parsons, 1972; AOAC, 2000) uma vez por semana. De acordo com as verificações das concentrações de SST nas diferentes concentrações, quando as mesmas, ultrapassavam $250 \text{ mg SST L}^{-1}$, foi realizado o manejo de clarificação (Gaona, 2018), para que os níveis se mantivessem na faixa determinada de cada tratamento.

DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Para obtenção dos dados de desempenho zootécnico foi realizada uma biometria inicial (dia 0) e final (dia 45) em todos os animais, onde os mesmos foram retirados dos tanques e anestesiados com hidrocloreto de benzocaína (HBz - 50 ppm).

Após anestesiados, foi registrado o peso dos animais (g), o comprimento total e padrão (mm). A partir destes dados foram estimados os parâmetros de desempenho zootécnico, como descritos abaixo:

- Ganho de peso - GP (peso final - peso inicial);
- Ganho de peso médio diário – GPMD (peso final - peso inicial) / período experimental);
- Taxa de crescimento específico – TCE ($100 \times [\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})] / \text{dias}$);
- Fator de condição corporal - K (peso médio final/ comprimento médio final³ x 100);
- Conversão alimentar aparente - CAA (ração fornecida (g) * ganho de peso (g)⁻¹);
- Ganho de biomassa Total – GBT (Peso Final – Peso Inicial) * n° animais
- Biomassa Inicial - BI (Soma do Peso total Inicial);
- Biomassa final - BF (Soma do Peso total final);
- Produtividade (Kg/m³) (Biomassa final/ área ou volume)

COLETAS

Foram realizadas coletas de sangue e tecido (nove peixes tratamento), após 45 dias de exposição às condições experimentais. Após a obtenção dos dados biométricos, foi coletado sangue através de punção da veia caudal com auxílio de seringas heparinizadas. Posteriormente os animais foram finalizados com dose letal de HBz (500 ppm) para coleta de amostra tecidual (brânquia e fígado) que foram armazenados em microtubos (2 mL), congelados em nitrogênio líquido e armazenados em um ultra freezer (-80 °C), até a realização das análises.

Nos dias 7 e 43, foram coletadas amostras do flocos (18 mL de amostra) de cada unidade experimental, as quais foram mantidas em 2 mL de formol tamponado (37%) para análise dos componentes bacterianos presentes no sistema BFT.

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

A partir do sangue coletado foi verificada a glicose utilizando um glicosímetro digital (Accu-Check Performa/Roche®) e o pH com pHmetro digital com sonda específica (Hanna HI 2210®). Uma parte do sangue coletado, foi transferido para capilares heparinizados e centrifugado (12.000 g, por 5 minutos), a fim de obter os dados de hematócrito (HTC) (Gondenfarb *et al.*, 1971).

Para a obtenção da concentração de hemoglobina (HB) foi utilizado um kit colorimétrico (Labtest®) e sua leitura foi realizada em espectrofotômetro (540 nm). Outra alíquota de sangue foi diluída na proporção de 1:200 em solução de cloreto de sódio (0,65%) para obtenção da concentração de eritrócitos, através da contagem de células em uma câmara de Neubauer, com auxílio de microscópio óptico (Ranzini-Paiva *et al.*, 2013). Ambos os índices foram mensurados imediatamente após a coleta.

Após a obtenção destes dados foi realizado o cálculo para obtenção dos índices hematimétricos (Ranzini-Paiva *et al.*, 2013):

- Hemoglobina corpuscular média (HCM, pg) = $Hb \times 10 / Eri$;
- Volume corpuscular médio (VCM, fL) = $Htc \times 10 / Eri (\times 10^6 \mu L)$;
- Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM g dL^{-1}) = $Hb \times 100 / Htc$.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

Para realização das diferentes análises dos parâmetros bioquímicos de estresse oxidativo, as amostras de brânquias e fígado foram homogeneizadas (1:5, m/v) em tampão Tris-HCl (pH ajustado em 7,75) contendo Tris-HCl (100 mM), EDTA (2 mM) e Mg^{2+} (5 mM) (Da Rocha *et al.*, 2009). Os homogeneizados foram centrifugados (10.000 g/20 minutos a 4 °C) e os sobrenadantes foram utilizados para as análises.

A concentração de proteínas totais foi determinada em leitor de microplacas (BioTek LX 800) pelo método de Biureto (550 nm) utilizando kit comercial (LabTest®). A capacidade antioxidante total (ACAP) foi determinada por meio da detecção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) nas amostras com e sem a adição de um gerador de radicais peroxil, conforme descrito por Amado *et al.* (2009).

Os níveis de peroxidação lipídica (LPO) foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Oakes & Van Der Kraak (2003). Para a determinação dos grupos sulfidril (P-SH, NP-SH) foi utilizada a metodologia de Sedlak & Lindsay (1968).

A atividade da Glutathione S-Transferase (GST) foi analisada em um fluorímetro, de acordo com Carlberg & Mannervik (1985).

Para a determinação de triglicerídeos (TRI), lactato (LAC) e glicose (GLI), deste homogeneizado, foi utilizado o kit comercial correspondente da Bioclin[®].

COMUNIDADE BACTERIANA DO FLOCO

Para a realização das análises, da comunidade bacteriana do floco, as bactérias foram quantificadas pelo método de Hobbie *et al.* (1977) através do uso de filtros de membrana de policarbonato (Nuclepore, poro: 0,2 µm e diâmetro: 25 mm). Após foram coradas com laranja de acridina (1%), na concentração de 1 µg mL⁻¹. Posteriormente foram contados 30 campos aleatórios, a partir das imagens captadas por uma câmera fotográfica conectada a um microscópio de epifluorescência (Axioplan-Zeiss[®]) com aumento de 1000x.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos durante o estudo foram expressos como média ± erro padrão. Todos os dados foram primeiramente submetidos aos testes de homogeneidade das variâncias (Levene) e a normalidade dos dados (Shapiro-Wilk). Uma vez que os pressupostos foram atendidos, os dados então foram submetidos a uma ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

QUALIDADE DA ÁGUA

Os parâmetros de qualidade não apresentaram diferenças significativas, exceto pelos níveis de nitrato que foram alterados, a fim de realizar o presente estudo e, o pH.

O pH da água foi significativamente superior na concentração BFT500, em relação as demais concentrações, porém se manteve dentro do ideal para a criação da espécie.

DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

As concentrações BFT150 e BFT300 apresentaram os melhores resultados para o peso final, comprimento total final, ganho de peso, ganho de peso médio diário, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e o ganho de biomassa total, diferindo significativamente da concentração BFT500 ($p < 0,05$). A TCE apresentou-se melhor na concentração BFT300 em relação a concentração BFT500. A produtividade (kg m⁻³) e a

biomassa final (kg) foi maior na concentração BFT150, e menor na concentração BFT500, apresentando 8,86 kg m⁻³; 2,21 kg contra 7,80 kg m⁻³; 1,95 kg, respectivamente (Tabela 2).

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Os dados dos parâmetros hematológicos estão descritos na Tabela 3. A porcentagem de hematócrito e hemoglobina foram maiores significativamente na concentração de BFT150 em relação as demais. O número de eritrócitos apresentou concentrações significativamente maiores nas concentrações BFT150 e BFT300, diferindo da concentração BFT500. Os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

BRÂNQUIAS

No tecido branquial, a Proteína Total (Figura 1a) e a peroxidação lipídica (LPO) (Figura 1b), apresentaram um aumento significativo quando expostos a concentração BFT150, diferindo significativamente das concentrações BFT300 e BFT500. A ACAP não apresentou diferenças entre as concentrações (Figura 1c). Com relação a GST, as concentrações diferiram significativamente entre si, podendo relacionar o que ocorreu da seguinte forma: BFT300 > BFT500 > BFT150 (Figura 1d). Com relação ao dano proteico (P-SH) e não proteico NP-SH), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 2). O lactato presente nas brânquias (Figura 3b) apresentou maiores concentrações em BFT300 e BFT500 em relação a concentração BFT150. Glicose e triglicerídeos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 3a e 3c).

FÍGADO

No tecido hepático, a capacidade antioxidante total (ACAP) (Figura 4c), apresentou maior área relativa, ou seja, menor capacidade antioxidante na concentração BFT500 em relação as demais concentrações. Proteínas Totais, LPO e atividade da GST não apresentaram diferenças significativas (4a, b e d). Com relação ao PSH (Figura 5b),

o mesmo, apresentou valores significativamente maiores nas concentrações BFT150 e BFT500, em relação a BFT300. Entretanto, para NP-SH não apresentou diferença significativa (Figura 5a).

Na figura 6a, é possível observar que a glicose presente no tecido hepático dos animais, criados na maior concentração de nitrato (BFT500), foi significativamente menor em relação as demais concentrações. Já os níveis de lactato apresentaram-se menores significativamente na concentração BFT300 em relação as concentrações BFT150 e BFT500 (Figura 6b). Já os triglicerídeos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 6c).

COMUNIDADE BACTERIANA DO FLOCO

Na figura 8 estão descritas as diferenças entre a concentração de bactérias entre os períodos analisados, onde foi possível observar maior concentração de cocoides e filamentos agregados no início e, ao final do período experimental houve uma diminuição dos filamentos livres e bacilos e aumento dos filamentos agregados. Nos gráficos estão descritos os dados iniciais e finais (dia 7 e 43 experimental, respectivamente) da concentração de bactérias do floco microbiano do sistema BFT com as concentrações de nitrato.

A concentração de *cocoides* (Figura 9a) não apresentou diferença significativa, nas diferentes concentrações de nitrato, apresentando um máximo de $4,77 \times 10^5$ e $9,03 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ e um mínimo de $3,63 \times 10^5$ e $6,57 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ para 7 e 43 dias, respectivamente. O mesmo ocorreu com a concentração de filamentos agregados (Figura 9b) (média geral de $1,29 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ – 7 dias e $2,67 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ – 43 dias) e Bacillos (média de $2,65 \times 10^5$ – 7 dias e $2,36 \times 10^5$ – 43 dias). Filamentosos livre (Figura 9c) apresentou diferença significativa no dia 7, onde a concentração BFT500 foi a maior concentração $5,96 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ diferendo das demais concentrações, $1,85$ (BFT150) e $2,77 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ (BFT300). A concentração de vibrio (Figura 9e) não diferiu no tempo 7 (mínimo de $1,82 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ e máximo de $4,34 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$), porém aos 43 dias apresentou diferença significativa, onde a concentração BFT150, foi a que apresentou maior concentração de vibrio ($9,57 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$), em relação as demais.

4 DISCUSSÃO

Os parâmetros de qualidade da água permaneceram nos níveis considerados adequados para o pacu (Pellegrin *et al.* 2020; Nitz *et al.* 2020; Pinto *et al.* 2022), exceto para o nitrato, devido as diferentes concentrações utilizadas para a realização do trabalho.

Entretanto, o pH apresentou diferença significativa, porém se manteve em níveis ideais para a espécie. Pellegrin *et al.* (2020), relatam que para um melhor desempenho do pacu é recomendável valores de pH próximos a 8,5, porém ressalta que o pH entre 5,5 e 8,5 apresentam 100% de sobrevivência e crescimento satisfatório. A diferença estatística do pH pode ser explicada pela individualidade das unidades experimentais no consumo da alcalinidade pelo sistema BFT, visto que para sua correção foi necessário o acréscimo de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) o que implica diretamente nos valores do pH.

O nitrato ocorre naturalmente, em baixos níveis (~ 0-2 mg NO₃-N L⁻¹), nos sistemas de criação tradicionais. Porém, mesmo com adaptações para uso eficiente de nitrogênio, muitos sistemas são limitados por esta substância, e concentrações elevadas, em torno de 10 a 100 vezes, acima dos níveis de referência podem ser encontradas (Galloway *et al.*, 2004).

Em nosso estudo, os animais submetidos as menores concentrações de nitrato (< BFT300), apresentaram os melhores índices de desempenho zootécnico para peso, comprimento, ganho de peso, ganho de peso médio diário, ganho de peso total, taxa de crescimento específico e conversão alimentar aparente. Estes resultados de desempenho zootécnico apresentados, em nosso estudo, evidenciam que o sistema BFT pode ser utilizado para a criação de pacu. Essa melhora no desempenho, em sistema BFT em relação ao sistema de recirculação, ocorre devido ao consumo, não só da ração ofertada aos animais, mas também pelo consumo do floco formado no sistema BFT.

Embora os peixes possam apresentar alta variabilidade na tolerância e sensibilidade ao nitrato, este composto nitrogenado é captado passivamente pelas brânquias e, sendo assim os peixes podem ser particularmente vulneráveis a concentrações elevadas de nitrato (Jensen, 1996; Isaza *et al.* 2020). Na última década, pesquisas vêm demonstrando que o nitrato apresenta uma influência negativa na produção de espécies cultivadas (Deviller *et al.*, 2005; Davidson *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2009a; Martins, *et al.*, 2009b; Davidson *et al.*, 2011). Além disso, a toxicidade dos poluentes, como o nitrato, pode variar de acordo com a concentração, condições dos diferentes

parâmetros de qualidade da água, período de exposição e sensibilidade da espécie (Kim & Kang, 2016; Kubitzka, 2019).

Angeles-Escobar *et al.* (2022), observaram que a criação de alevinos de *Piaractus brachypomus* em sistema BFT (400 – 600 mg SST L⁻¹), durante 45 dias, apresentou um acúmulo de $59,63 \pm 27,77$ NO₃-N L⁻¹ ao final do experimento, retratando um ganho de peso médio diário (GPMD) de $0,23 \pm 0,02$ g dia⁻¹. Em nosso estudo, o GPMD foi melhor, apresentando valores de $0,51 \pm 0,04$ a $0,66 \pm 0,04$ g dia⁻¹, representando que o *P. mesopotamicus* apresenta uma tolerância maior a este composto em relação ao *P. brachypomus*. Além disso, um maior GPMD, indica melhor potencial de desempenho e consequente maior lucro em um menor período de tempo.

Os efeitos do nitrato em peixes de água doce submetidos a uma meta análise, demonstram que ocorre uma redução no crescimento dos animais da ordem de 28,65%, principalmente no estado larval e juvenil (Isaza *et al.* 2020). Os dados de desempenho de ganho de biomassa total (GBT) das concentrações BFT150 e BFT300, em nosso estudo, apresentaram os melhores resultados (~23,06 e ~21,17%, respectivamente), demonstrando que estas duas concentrações afetam em menor escala estes parâmetros, em relação a BFT500. Os demais dados de desempenho não foram afetados nas concentrações BFT150 e BFT300, indicando que o pacu pode ser criado até BFT300 sem prejuízo no desempenho, entretanto, a concentração BFT500 apresentou declínio no desempenho zootécnico. Gomez Isaza *et al.* (2020) relatam que a exposição ao nitrato (50 ou 100 mg L⁻¹) apresentou efeitos negativos no crescimento de peixes, com perda de massa ao longo do período avaliado, diferentemente dos nossos resultados que foram satisfatórios até a concentração BFT300.

Devido à sua importância nos sistemas biológicos, o estresse tem sido amplamente investigado no contexto do bem-estar animal e aquicultura. De acordo com isso, quando houver no sistema condições adversas de diferentes ordens, as quais podem ocasionar estresse e redução no crescimento e desenvolvimento dos animais (Kassahn *et al.* 2009) é necessário que haja uma avaliação dos animais através da utilização de técnicas simples, como a hematologia. O organismo, na tentativa de manter a homeostase, quando submetido a estas condições adversas, promove um maior requerimento energético através da hematopoiese gerando um aumento no número de eritrócitos e consequentemente do valor do hematócrito (Poli *et al.*, 2005).

Ao adentrar no organismo, a principal ação tóxica do nitrato é a conversão endógena de nitrato em nitrito, que então causa a formação de metahemoglobina, resultando, em parte, na perda da capacidade de transporte de oxigênio no sangue (Gomez Isaza, Cramp & Franklin, 2021). Walker (1996) e Panesar & Chan (2000) sugeriram a conversão *in vivo*, de íons nitrato para o íon nitrito mais tóxico, embora esses estudos tenham sido conduzidos com roedores. A interconversão, *in vivo*, entre nitrato, nitrito e óxido nítrico (NO) é agora reconhecida (Edwards & Hamlin, 2018), sendo o óxido nítrico uma molécula potente de sinalização celular em muitas vias biológicas (Yang *et al.* 2019c).

Investigando indicadores biológicos de estresse, para pacu durante a captura, os valores mantiveram-se na faixa de 60 a 94 mg dL⁻¹ de glicose (Abreu *et al.* 2009). Em outro estudo, na criação de pacu em sistema BFT, foi verificado que os níveis de glicose permaneceram menores que 60 mg dL⁻¹. A diminuição da glicose, nos animais submetidos as concentrações mais elevadas de nitrato, está relacionada com a utilização dessa fonte energética para suprir o seu gasto energético (Presa *et al.*, 2022). Corroborando com o presente trabalho, alguns autores, não obtiveram diferenças nos níveis de glicose utilizando diferentes concentrações de nitrato (0,4 (Controle), 1,5, 4,2, 9,7 e 27,0 mg nitrato L⁻¹) como em catfish (*Clarias gariepinus*) (Schram *et al.* 2012) e truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Schram *et al.* 2012).

A manutenção da homeostase do pH sanguíneo é crucial para a estabilização das proteínas e função enzimática (Aboagye & Allen, 2018), o que ocorreu em nosso estudo, onde não houve alterações neste parâmetro. Porém, as maiores concentrações (BFT300 e BFT500) apresentam valores próximos aos encontrados por Angeles-Escobar *et al.* (2022) de 36 e 37% para *Piaractus brachipomus* em sistema BFT (~59 mg nitrato L⁻¹), podendo ser justificado como meio de compensação dos peixes para manter o transporte adequado de oxigênio.

Os níveis de hemoglobina apresentaram uma diminuição de acordo com o aumento dos níveis de nitrato, ocorrendo maiores níveis (12,76 g dL⁻¹) na concentração BFT150. Essa resposta está de acordo com a encontrada por Yang *et al.* (2019b) que testou níveis de nitrato em juvenis de *Oplegnathus punctatus* (Perca) e observou também uma redução nestes níveis conforme os níveis de nitrato aumentaram. Sampaio *et al.* (2010), relatam em seu estudo, que ocorre um aumento nos níveis de hemoglobina do pacu, o qual se deve a ativação dos mecanismos para melhorar a captação e transporte de

oxigênio, e que a estimulação adicional da produção de hemácias e HB incide sobre o aumento da capacidade de transporte de O₂. Estas mesmas condições foram observadas em nosso trabalho com relação a hemoglobina e eritrócitos, onde a concentração BFT150, apresentou os maiores índices.

O nitrato tem capacidade de afetar os mecanismos de fornecimento de oxigênio a partir das concentrações de hemoglobina (HB) (Monsees *et al.*, 2017). Em peixes existe uma relação entre hematócrito, hemoglobina, concentração de glóbulos vermelhos e capacidade de transporte de gás e troca de oxigênio a nível branquial (Angeles-Escobar *et al.* 2022). Os Mesmos autores criando alevinos de *Piaractus brachypomus* em sistema BFT, com ~59 mg NO₃-N L⁻¹, encontraram valores de HB de 14,79 ± 1,52 a 12,48 ± 1,67 dL⁻¹, assim como o presente trabalho que apresentou 12,76 dL⁻¹ em BFT150.

A capacidade do metabolismo aeróbico dos animais, para satisfazer as demandas de oxigênio só são possíveis graças ao papel das hemoglobinas, contidas nos eritrócitos. A hemoglobina tem por função facilitar a dissolução de grandes quantidades de gás e transporte aos tecidos, onde funciona como último receptor de elétrons (Giardina, Mosca & de Rosa, 2004). A função da hemoglobina parece estar adaptada a diferentes necessidades metabólicas dos animais e às constantes mudanças ambientais (Riggs, 1976), o que fica evidente em nosso trabalho.

Os índices hematimétricos podem ser utilizados na detecção de patologias e estresse, e, além disso, demonstram o estado fisiológico do animal. Estes índices estão relacionados com os valores do hematócrito e o número de eritrócitos; hematócrito e taxa de hemoglobina e a relação entre a taxa de hemoglobina e o número de eritrócitos (Grant, 2015). Os índices hematimétricos HCM, VCM e CHCM mesmo não apresentando diferenças significativas ficaram acima do basal observado para o pacu por Ranzani-Paiva *et al.* (1999).

As brânquias estão em contato direto com a água, sendo, portanto, sensíveis às alterações químicas e físicas do meio aquático circundante (Perry; Laurent, 1993; Saber, 2011). Estas alterações que podem ocorrer, neste tecido, podem se apresentar de maneira mais ou menos acentuada dependendo da espécie estudada e do meio aquático (água doce, salobra ou salgada). De acordo com isso, Presa *et al.* (2022), observaram um leve dano nas brânquias de *Mugil liza* expostos a concentração de 34 mg NO₃-N L⁻¹ em relação ao tratamento controle.

No presente estudo, podemos observar que as maiores concentrações de nitrato afetaram as proteínas presentes no tecido branquial, onde houve uma menor proporção nas concentrações mais elevadas de nitrato. Entretanto, alterações nas proteínas não ficaram evidentes nas análises de dano proteico (P-SH e NP-SH).

Contudo, o dano lipídico apresentou-se mais elevado na concentração BFT150, indicando a possibilidade de a defesa antioxidante ter sido insuficiente para reduzir a produção de ERO no tecido (Wang *et al.*, 2021). Em decorrência da peroxidação lipídica a membrana celular sofre alterações na estrutura, o que afeta sua permeabilidade.

Em consequência do aumento da LPO, ocorre uma indução ao aumento da atividade da GST, devido a esta enzima atuar no processo de biotransformação, catalisando a conjugação de uma variedade de metabólitos. A GST é uma enzima multifuncional, que catalisa o ataque nucleofílico de GSH a grupos eletrofílicos e, está envolvida na desintoxicação de xenobióticos e metabólitos endógenos, incluindo produtos de dano oxidativo (Blanchette *et al.*, 2007). Os resultados observados para a GST nas concentrações BFT300 e BFT500, indicam que a LPO, nestas concentrações apresentou-se em menor escala, devido à sua maior atividade. Entretanto, a redução da GST observada na menor concentração de nitrato, em nosso estudo, pode significar que essa enzima atuou na mitigação da toxicidade celular (Hayes & Pulford 1995). Essa redução indica que houve um aumento na produção de ERO e conseqüentemente utilizou-se as defesas antioxidantes para evitar ou reduzir o estresse oxidativo. O que pode ser confirmado em relação as proteínas, onde a concentração BFT150, não apresentou dano nas proteínas.

O lactato por sua vez, é uma importante fonte de energia em situações de déficit energético de emergência, sendo produzido pelas células em condições anaeróbicas (Moon & Mommsen, 1987; Dringen *et al.*, 1993; Allen & Holm, 2008). Esta substância, quando acumulada nos tecidos, podem ser direcionados à produção aeróbica de energia, pelo menos durante condições adversas, ou ainda, serem direcionados a vias anabólicas como a gliconeogênese (Mommsen, 1984). O aumento do lactato nas concentrações mais elevadas de nitrato, em nosso estudo, sugere que foi necessário efetuar uma rota anaeróbica. Esta alteração na rota metabólica gera gasto de energia pelos organismos, o que prejudica o crescimento e desenvolvimento dos animais durante a sua criação.

A capacidade antioxidante (ACAP) fornece informações sobre o estado antioxidante geral do organismo contra os radicais peroxil (Amado *et al.*, 2009). A redução da capacidade antioxidante pode significar que os antioxidantes estão sendo utilizados para "combater" a geração de ERO (De Souza Miranda *et al.*, 2022). Além disso, a capacidade antioxidante menor também pode ocorrer devido à produção deficiente de antioxidantes endógenos (Jia *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2012). No presente estudo, a capacidade antioxidante no fígado do pacu apresentou-se menor na maior concentração (BFT500), demonstrando assim que houve um prejuízo das defesas antioxidantes frente ao composto tóxico no ambiente de criação. Estas alterações também são observadas para juvenis de tainha, onde os animais expostos as concentrações de 34 e 52 mg NO₃-N L⁻¹, maiores concentrações neste estudo, apresentam uma menor capacidade antioxidante (Presa *et al.*, 2022). De acordo com isso, fica evidente que mesmo em diferentes meios (salinidades), os principais prejuízos aos animais ocorrem nas maiores concentrações de nitrato. De Souza Miranda *et al.* (2022), testando os efeitos do nitrito sobre o estresse oxidativo em juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus*, observaram em seus maiores níveis testados (≥ 170 mg NO₃-N L⁻¹) menor capacidade antioxidante.

Os grupos tios apresentaram importante capacidade antioxidante devido ao grupo funcional sulfidril que protege as células do dano oxidativo e pode ser encontrado nas proteínas (P-SH) ou compostos de baixo peso molecular (NP-SH) (Reischl *et al.*, 2007). Quando as defesas enzimáticas contra os radicais oxidativos estão prejudicadas ou a resposta antioxidante foi ineficaz, antioxidantes não enzimáticos podem ser produzidos em maior quantidade como forma de proteção contra a auto oxidação (Sinhorin *et al.*, 2014).

Os níveis de glicose e lactato podem ser utilizados como biomarcadores de estresse secundário (Wendelaar Bonga 1997; Pankhurst 2011). O movimento do lactato entre os tecidos é importante na coordenação do equilíbrio metabólico (Yang *et al.*, 2019a), sendo também um indicador do fluxo glicolítico, como precursor da ressíntese de glicose e glicogênio através do ciclo de Cori (Chen *et al.*, 2016).

Panepucci *et al.* (2001) avaliando o metabolismo de carboidratos em pacu evidenciaram que no início do estresse recorrente de hipóxia, o fígado oxida a glicose, levando a produção inicial de lactato. No presente estudo, ambos processos foram evidenciados, onde na maior concentração de nitrato, os níveis de glicose estão baixos

indicando uma possível oxidação para lactato que apresenta níveis mais elevados. Neste caso, o oxigênio nos tecidos torna-se insuficiente para o metabolismo e os peixes utilizam a energia anaeróbica via glicólise, para fornecimento de energia celular, resultando em acúmulo plasmático de lactato (Iversen *et al.* 2003). Já na concentração BFT300 a produção de lactato foi menor.

COMUNIDADE BACTERIANA DO FLOCO

No sistema BFT, existem diferentes comunidades que podem utilizar e transformar os compostos nitrogenados na água, como os fotoautotróficos, bactérias nitrificantes heterotróficas e autotróficas, conglomerado de micróbios, algas e protozoários na coluna de água, juntamente com detritos e partículas orgânicas mortas, protozoários, microalgas, metazoários, exoesqueletos, entre outros (Ebeling *et al.*, 2006; Hargreaves 2006; De Schryver *et al.* 2008; Avnimelech, 2012; Crab *et al.*, 2012).

O número de bactérias em tanques de bioflocos pode estar entre 10^6 e 10^9 mL⁻¹ de floco que contém entre 10 e 30 mg de matéria seca tornando o tanque uma indústria biotecnológica (Avnimelech, 2007). Segundo Ju *et al.* (2008), os bioflocos coletados dos tanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei* contem 3% de biomassa bacteriana sendo, dois terços gram-negativos e um terço gram-positivos.

O manejo afeta diretamente a comunidade microbiana e podem ocorrer por diversos fatores. Reis *et al.* (2019), testando diferentes fotoperíodos sobre a comunidade microbiana do biofloco detectou maior abundância de bactérias como cocóides, cocóides aderidas, filamentosas livre e filamentosas aderidas e *Bacillus*, quando foram expostos a luz.

O acréscimo de nitrato no sistema de bioflocos, pode gerar um desequilíbrio na comunidade que aproveita os compostos nitrogenados, visto que ocorre a reversão de nitrato em nitrito. Um aumento na concentração de cocóides pode evidenciar que não houve consumo dos mesmos pelos organismos flagelados. Não ocorrendo uma interação trófica do conceito “Microbial Loop” (Azam *et al.*, 1982).

Entretanto, as bactérias filamentosas grandes, aderidas aos flocos, aumentaram de acordo com a disponibilidade de fósforo que age como fonte de nutrientes para o desenvolvimento de cianobactérias (Burford *et al.*, 2003). Dessa forma, é possível afirmar que o sistema proporcionou uma boa relação N:P durante o período de nosso estudo.

Diferentemente de Suita (2009) que, em seu trabalho utilizando melaço como fonte de carbono, encontrou pouca quantidade de filamentosas grandes aderidas aos flocos determinada por uma relação N:P desfavorável, o que favorece a dominância de bactérias cocóides.

Cianobactérias (bactérias filamentosas) podem estar relacionadas com a adição de carbono orgânico dissolvido no sistema (Esteves, 1998). São responsáveis pela formação da estrutura do floco e na degradação da matéria orgânica. Pinho (2017) relatou uma relação inversa estabelecida durante seu estudo, sugerindo competição entre cianobactérias e protozoários ciliados. Assim, a redução de bactérias filamentosas pode ser uma resposta ao aumento de protozoários ciliados no sistema, durante o período do estudo. A alta ocorrência de microrganismos fotoautotróficos (filamentos cianobactérias, clorofitas e diatomáceas) podem ser atribuídos à disponibilidade constante de nutrientes e exposição frequente a luz solar, também observada por Godoy *et al.* (2011), corroborando com o presente estudo.

No sistema de bioflocos também há a ocorrência de algumas cepas de bactérias, como o *Bacillus spp.*, as quais servem como probiótico natural, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas (Emerenciano *et al.*, 2013; Samocha, 2019), podendo auxiliar a controlar os surtos de *Vibrio* no meio de cultivo (Van Hai & Fotedar, 2010). O presente estudo, demonstrou um aumento na quantidade de bacilos do dia 7 para o dia 43, na concentração BFT150 acompanhado pela diminuição dos vibrios na mesma concentração, demonstrando uma ação de controle do *Bacillus spp.* presente no ambiente de criação em relação ao controle do *Vibrio spp.*

Embora o *Vibrio spp.* ocorra em sistemas de bioflocos, são necessários estudos em termos de risco potencial para as espécies-alvo. Em contraste, várias espécies do gênero *Vibrio*, conhecidas como patógenos de peixes e camarões, também podem estar presentes no biofloco. *Vibrio spp.* patogênicas, geralmente se destacam como bactérias gram-negativas não fermentadoras de sacarose, enquanto cepas menos patogênicas são identificadas como bactérias gram-negativas fermentadoras de sacarose (Samocha, 2019). Esses resultados confirmam que bactérias gram-negativas fermentadoras de sacarose são mais abundantes em sistemas nos quais a biorremediação e/ou probióticos são aplicados (Moriarty, 1998).

6 CONCLUSÃO

De acordo com nosso estudo, podemos concluir que juvenis de pacu podem ser criados em concentrações menores que BFT300, pois mesmo nessa concentração verificamos alterações nos diferentes parâmetros avaliados, as quais devem ser evitadas para não haver prejuízo no crescimento e desenvolvimento dos animais. Além disso, verificamos que a partir de $333,66 \pm 11,94 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ (BFT300), o estado de homeostase dos pacus é afetado, sendo o efeito mais deletério aos animais causado pela concentração de $519,11 \pm 18,83 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ (BFT500).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SCHULER, D. J. et al. Acute toxicity of ammonia and nitrite to pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.41, n.3, p.438–446, 2010. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1749-7345.2010.00385.x>>. Accessed: Mar. 12, 2018. doi: 10.1111/j.1749-7345.2010.00385.x.

ABIMORAD, E.G., CARNEIRO, D.J., URBINATI, E.C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*, v. 38, n. 1, p. 36-44, 2007.

ABOAGYE, D.L., ALLEN, P.J. 2018. Effects of acute and chronic hypoxia on acid-base regulation, hematology, ion, and osmoregulation of juvenile *American paddlefish*. *Journal Comparative Physiology B*, 188, 77-88. Doi:10.1007/s00360-017-1104-7.

ABREU, J. S., TAKAHASHI, L. S., HOSHIBA, M. A., & URBINATI, E. C. Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. *Brazilian Journal of Biology*, v. 69, p. 415-421, 2009.

AHMAD, I., RESHI Q.M., FAZIO F. 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in diferente fish species: A review. *Aquaculture International* 28: 869-899. DOI: 10.1007/s10499-019-00501-3

ALLEN, S. E., & HOLM, J. L. (2008). Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2): 123-132.

AMADO, L. L., LONGARAY, M. G., RAMOS, P. B., FREITAS, R. F., ZAFALON, B., RIBAS, J. L. F., YUNES, J. S., & MONSERRAT, J. M. (2009). A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*, 407, 2115– 2123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.038>

ANGELES-ESCOBAR, BEATRIZ ELENA; DA SILVA, SUZIANNY MARIA BEZERRA CABRAL; SEVERI, WILLIAM. Growth, red blood cells, and gill alterations of red pacu (*Piaractus brachypomus*) fingerlings by chronic exposure to different total suspended solids in biofloc. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 53, n. 3, p. 652-668, 2022.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC*. Patricia Cunniff, Washington, DC, 16th edition.

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

AVNIMELECH Y, KOCHBA M (2009) Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. *Aquaculture* 287: 163–168

AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176 (3-4), 227-235. 10.1016/S0044-8486(99)00085-X.

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

- AVNIMELECH, Y. 2012. Biofloc Technology A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, 271.
- AZAM, F. 1982. Measurement of growth of bacteria in the sea and the regulation of growth by environmental conditions. In: Hobbie, J., Williams, P. J., Le B. (eds.) Heterotrophic activity in the sea. Plenum Press, in press.
- BALDISSEROTTO B, GOMES LC (2005) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editora UFMS, Santa Maria, RS.
- BARBOSA JÚNIOR, S. G., Teixeira, R. B. G., Cabral, M. C., Assano, M., & Jomori, R. K. Tolerância de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* à água salinizada. Nucleus Animalium, v. 2, n. 2, p. 53-60, 2010.
- BARTON, B. A. Stress in Fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, n. 42, v. 3, p. 517-525, 2002.
- BENDSCHNEIDER K AND ROBINSON RJ. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. J Mar Res 11: 87-96.
- BIAGINI, F. R.; DE OLIVEIRA, J. A. & FONTANETTI, C. S. The use of histological, histochemical and ultramorphological techniques to detect gill alterations in *Oreochromis niloticus* reared in treated polluted waters. Micron., 40:839-44, 2009.
- BLANCHETTE, B., FENG, X., & SINGH, B. R. (2007). Marine glutathione S-transferases. Marine Biotechnology, 9, 513– 542. <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9034-0>
- BURFORD, MA, PJ THOMPSON, EH BAUMEN & dc PEARSON. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219: 393-411.
- CARLBERG, INGER; MANNERVIK, BENGT. [59] Glutathione reductase. In: Methods in enzymology. Academic press, 1985. p. 484-490.
- CHEN, Y.-J., MAHIEU, N.G., HUANG, X., SINGH, M., CRAWFORD, P.A., JOHNSON, S.L., GROSS, R.W., SCHAEFER, J., PATTI, G.J., 2016. Lactate metabolism is associated with mammalian mitochondria. Nat. Chem. Biol. 12 (11), 937–943. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2172>.
- CHENG CH, YANG FF, LING RZ, LIAO SA, MIAO YT, YE CX AND WANG AL.2015. Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*). Aquat Toxicol 164: 61– 71.
- CIJI A, SAHU NP, PAL AK, DASGUPTA S AND AKHTAR MS. 2012. Alterations in serum electrolytes, antioxidative enzymes and haematological parameters of *Labeo rohita* on short-term exposure to sublethal dose of nitrite. Fish Physiol Biochem 38: 1355-1365.
- COLT, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. Aquacultural Engineering, 34 (3): 143-156. Doi: 10.1016/J.Aquaeng.2005.08.011
- CRAB, R., DEFOIRDT, T., BOSSIER, P., VERSTRAETE, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture 356–357, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

- DA ROCHA AM, DE FREITAS DP, BURNS M, VIEIRA JP, DE LA TORRE FR AND MONSERRAT JM. 2009. Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. *Comp Biochem Phys C Toxicol Pharmacol* 150: 512-520.
- DAVIDSON, J., GOOD, C., WELSH, C., & SUMMERFELT, S. (2011). The effects of ozone and water exchange rates on water quality and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* performance in replicated water recirculating systems. *Aquacultural Engineering*, 44, 80-96.
- DAVIDSON, J., GOOD, C., WELSH, C., BRAZIL, B., & SUMMERFELT, S. (2009). Heavy metal and waste metabolite accumulation and their potential effect on rainbow trout performance in a replicated water reuse system operated at low or high flushing rates. *Aquacultural Engineering*, 41, 136-145
- DE AZEVEDO, TATIANA MASLOWA PEGADO. Valores de referência dos parâmetros hematológicos de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) cultivados em tanques-rede em Paulo Afonso, no Estado da Bahia, Brasil. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, v. 20, n. 2, p. 63-74, 2016.
- DE FATIMA PEREIRA DE FARIA, C., DOS REIS MARTINEZ, C. B., TAKAHASHI, L. S., DE MELLO, M. M. M., MARTINS, T. P., & URBINATI, E. C. Modulation of the innate immune response, antioxidant system and oxidative stress during acute and chronic stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 47, p. 895-905, 2021.
- DE SCHRYVER PD, CRAB R, DEFOIRDT T, BOON N, VERSTRAETE W (2008) The basics of bioflocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277:125-137
- DE SCHRYVER, P., CRAB, R., DEFOIRDT, T., BOON, N., & VERSTRAETE, W. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125-137. 2008.
- DE SOUZA MEDINA, L., EMERENCIANO, M. G. C., BITTENCOURT, F., BRUM, A., DE SOUZA, H. B., & DE MELLO, G. L. Sistema de recirculação aquícola: relações peso-comprimento e fatores de condição de quatro espécies de peixes tropicais. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 4, p. e52811427368-e52811427368, 2022.
- DEVILLER, G., PALLUEL, O., ALIAUME, C., ASANTHI, H., SANCHEZ, W., FRANCO NAVA, M. A., ... CASELLAS, C. (2005). Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metal accumulation[J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(1), 89-97.
- DINDA R, MANDAL A, DAS S (2019) Neem (*Azadirachta indica* A. Juss)-supplemented biofloc medium as alternative feed in common carp (*Cyprinus carpio var. communis Linnaeus*) culture. *Journal of Applied Aquaculture* 1-19.
- DRINGEN, RALF; GEBHARDT, ROLF; HAMPRECHT, BERND. Glycogen in astrocytes: possible function as lactate supply for neighboring cells. *Brain research*, v. 623, n. 2, p. 208-214, 1993.
- EATON AD, CLESCERI LS, RICE EW AND GREENBERG AB. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st edition, Amer Public Health Assn.1325.

- EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J., 2006. Engineering Analysis of the Stoichiometry of Photoautotrophic, Autotrophic, and Heterotrophic Removal of Ammonia – Nitrogen in Aquaculture Systems. vol. 257. pp. 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- EDWARDS, T. M., & HAMLIN, H. J. (2018). Reproductive endocrinology of environmental nitrate. *General and Comparative Endocrinology*, 265, 31–40.
- EKASARI J, MARYAM S (2012) Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *Hayati Journal of Biosciences* 19: 73–80
- EMERENCIANO M, GAXIOLA G, CUZON G (2013) Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. *INTECH open science_open minds*. Cap 12:301–327
- ESTEVEZ, FA. 1998. *Fundamentos da limnologia*. 2. Ed. Rio de Janeiro: Ed. Interciência. 602 p.
- FAO. 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- GALLOWAY, J.N., DENTERNER, F.J., CAPONE, D.G., BOYER, E.W., HAOWARTH, R.W., SEITZINGER, S.P., ASNER, G.P., CLEVELAND, C.C., GREEN, P.A., HOLLAND, E.A., KARL, D.M., MICHAELS, A.F., PORTER, J.H., TOWNSEND, A.R., Vor osmarty, C.J., 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70, 153e226.
- GAO F, LIAO S, LIU S, BAI H, WANG A, YE J (2019) The combination use of *Candida tropicalis* HH8 and *Pseudomonas stutzeri* LZX301 on nitrogen removal, biofloc formation and microbial communities in aquaculture. *Aquaculture* 500: 50–56.
- GAO J, ZHANG C, YANG B, SUN L, ZHANG C, WESTERFIELD M AND PENG G (2012). Dcc Regulates Asymmetric Outgrowth of Forebrain Neurons in Zebrafish. *PLoS ONE*, 7 (5): 1-10. doi:10.1371/journal.pone.0036516.
- GAONA, C.A.P., POERSCH, L.H., KRUMMENAUER, D., FOES, G.K., WASIELESKY, W.J. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of Recirculating Aquaculture*, 12, 54–73. <http://hdl.handle.net/10919/90645>
- GARCÍA-ROBLEDO, E.; CORZO, A.; PAPASPYROU, S. 2014. A fast and direct spectrophotometric method for the sequential determination of nitrate and nitrite at low concentrations in small volumes. *Marine Chemistry*, 162: 30-36.
- GIARDINA B, MOSCA D, DE ROSA MC. The Bohr effect of haemoglobin in vertebrates: an example of molecular adaptation to different physiological requirements. *Acta Physiol Scand* 2004; 182: 229-244.
- GODOY, L.C., ODEBRECHT, C., BALLESTER, E., MARTÍNEZ, T.G., WASIELESKY, W., 2011. Effect of diatom supplementation during the nursery rearing of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a heterotrophic culture system. *Aquacult. Int.* 20, 229–269, <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-011-9485-1>.

GOLDENFARB PB, BOWYER FP, HALL E AND BROSIOUS E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Amer J Clin Path 56: 35-4923.

GOMEZ ISAZA, D. F., CRAMP, R. L., & FRANKLIN, C. E. (2021). Thermal plasticity of the cardiorespiratory system provides cross-tolerance protection to fish exposed to elevated nitrate. Comparative Biochemistry and Physiology Part -C: Toxicology and Pharmacology, 240, 108920. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108920>

GOMEZ ISAZA, DANIEL F.; CRAMP, REBECCA L.; FRANKLIN, CRAIG E. Simultaneous exposure to nitrate and low pH reduces the blood oxygen-carrying capacity and functional performance of a freshwater fish. Conservation physiology, v. 8, n. 1, p. coz092, 2020.

GRANT KR. 2015. Fish Hematology and Associated Disorders. Vet Clin Exot Anim 18: 83-103.

HALLIWELL, BARRY; GUTTERIDGE, John MC. Free radicals in biology and medicine. Oxford university press, USA, 2015.

HARGREAVES JA (2006) Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquac Eng 34:344–363

HARGREAVES, J.A., 2013. Bioflocs production system for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.

HAYES JD; PULFORD DJ. 1995. The glutathione-S-transferase super gene family: regulation of GST and the contribution of the liso enzymes to câncer chemoprotection and drug resistance part II. Crit Rev Biochem Mol Biol 30: 521–600.

HEATH, A.G. 1995 Water pollution and fish physiology. Lewis Publishers, 2^a ed. 357p.

HEISE, K. Interaction of oxygen supply, oxidative stress, and molecular defence systems during temperature stress in fishes. 223 p (PhD Thesis) - Universität Bremen, Bremen, 2005

HIDROSE, F. E.; MUSIL, G.; KARNAKY Jr., K. J.; EPSTEIN, F. H.; Surface ultrastructure of the gill arch of the killifish, *Fundulus heteroclitus*, from seawater and freshwater, with special reference to the morphology of apical crypts of chloride cells. Journal of Morphology, v.185, n.3, p.377-386, 1985.

HOBBIE, JOHN E.; DALEY, R. JASPER; JASPER, STTI977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. Applied and environmental microbiology, v. 33, n. 5, p. 1225-1228, 1977.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2020). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2023). Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/0?ano=2023>

ISAZA, DANIEL F. GOMEZ; CRAMP, REBECCA L.; FRANKLIN, CRAIG E. Living in polluted waters: A meta-analysis of the effects of nitrate and interactions with other environmental stressors on freshwater taxa. Environmental Pollution, v. 261, p. 114091, 2020.

- IVERSEN M, FINSTAD B, MCKINLEY RS AND ELIASSEN RA. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S and Benzoak as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture* 221: 549-566.
- IWAMA, G. K.; VIJAYAN, M. M.; FORSYTH, R. B.; ACKERMAN, P. A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. *American Zoologist*. v. 39, p. 901-909, 1999.
- JAMALZADEH H.R., GHOMI M.R. 2009. Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 42 (1): 81–87. DOI: 10.1080/10236240902771226
- JENSEN, F.B., 1996. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*). *Aquat. Toxicol.* 34, 95-104.
- JIA, R., HAN, C., LEI, J. L., LIU, B. L., HUANG, B., HUO, H. H., & YIN, S. T. (2015). Effects of nitrite exposure on haematological parameters, oxidative stress and apoptosis in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquatic Toxicology*, 169, 1– 9. <https://doi.org/10.1016/j.aquat ox.2015.09.016>
- JORAND, F., ZARTARIAN, F., THOMAS, F., BLOCK, J. C., BOTTERO, J. Y., VILLEMEN, G., ... & MANEM, J. Chemical and Structural (2d) Linkage Between Bacteria Within activated sludge flocs. *Water research*, v. 29, n. 7, p. 1639-1647, 1995.
- JU ZY, FORSTER I, CONQUEST L, DOMINY W (2008) Enhanced growth effects on shrimp, *Litopenaeus vannamei* from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquac Nutr* 14:533–543
- KASSAHN, K. S., CROZIER, R. H., PÖRTNER, H. O., & CALEY, M. J. (2009). Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organisation. *Biological Reviews*, 84 (2): 277-292. doi: 10.1111/j.1469-185X.2008.00073.x
- KIM, J. H., & KANG, J. C. (2016). The immune responses in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii* for the stress by the exposure to the dietary lead (II). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 46, 211–216. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.07.022>
- KRUMMENAUER D., SAMOCHA T., POERSCH L. H., LARA G. R., WASIELESKY W. Effect of water reuse on the culture of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* in BFT system. *J World Aquac Soc*, v. 45, n. 1, p. 3–14, 2014.
- KRUMMENAUER, D., CAVALLI, R.O., POERSCH, L.H., & WASIELESKY, W. (2011). Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *J World Aquac Soc* 42:726–733.
- KUBITZA, F. (2019). O impacto da amônia, do nitrito e do nitrato sobre o desempenho e a saúde dos peixes e camarões. *A água na aquicultura | Parte 3*. 1–27.
- LAKRA, K. C., LA, B., BANERJEE, T. K., 2019. Coal mine effluent-led bioaccumulation of heavy metals and histopathological changes in some tissues of the catfish *Clarias batrachus*. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 191, p. 136. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7229-2>
- LUO, G.-Z., AVNIMELECH, Y., PAN, W.-F., & TAN, H.-X. (2013). Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture

sludge. *Aquacultural Engineering*, 52, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.09.003>.

LUO, GUOZHI; XU, JINXIANG; MENG, HAOYAN. Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture*, v. 520, p. 734675, 2020.

LUQUET, C. M., POSTEL, U., HALPERIN, J., URCOLA, M. R., MARQUES, R., & SIEBERS, D. Transepithelial potential differences and Na⁺ flux in isolated perfused gills of the crab *Chasmagnathus granulatus* (Grapsidae) acclimated to hyper-and hypo-salinity. *Journal of Experimental Biology*, v. 205, n. 1, p. 71-77, 2002.

LUSHCHAK VI, STOREY KB (2021) Conceito de estresse oxidativo atualizado: definições, classificações e vias regulatórias implicadas. *EXCLI J* 20:956–967. <https://doi.org/10.17179/excli2021-3596>

MALTEZ LC, BARBAS LA, NITZ LF, PELLEGRIN L, OKAMOTO MH, SAMPAIO LA, MONSERRAT JM AND GARCIA L. 2018. Oxidative stress and antioxidante responses in juvenile Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* exposed to sublethal levels of nitrite. *Fish Physiol Biochem* 1-14.

MARTINS, C. I. M., OCHOLA, D., ENDE, S. S. W., EDING, E. H., & VERRETH, J. A. J. (2009b). Is growth retardation present in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in low water exchange recirculating aquaculture systems? *Aquaculture*, 298, 43–50.

MARTINS, C. I. M., PISTRIN, M. G., ENDE, S. S. W., EDING, E. H., & VERRETH, J. A. J. (2009a). The accumulation of substances in recirculating aquaculture systems (RAS) affects embryonic and larval development in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 291, 65–73

MAZON, A. F.; CERQUEIRA, C. C. C. & FERNANDES, M. N. Gill cellular changes induced by cooper exposure in the South American tropical fishwater fish *Prochilodus scrofa*. *Environ. Res.*, 88:52-63, 2002.

MIRANDA, D. H. D. S., MALTEZ, L. C., CAMPELLO, M. E. S., CÓRDOVA, J. F. L., RODRIGUES, R. V., SAMPAIO, L. A., & OKAMOTO, M. H. (2022). Acute toxicity and sublethal effects of nitrite on oxidative stress in early juvenile Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*. *Aquaculture Research*, 53(5), 1939-1946.

MOMMSEN, T. P. Metabolism of the Fish Gill. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (eds.) *Fish Physiology*. Vol. XB. Orlando: Academic Press, 1984. p. 203-237.

MONSEES, H., KLATT, L., KLOAS, W., WUERTZ, S., 2017. Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. *Aquacult. Res.* 48, 3482e3492.

MOON, THOMAS W.; MOMMSEN, THOMAS P. Enzymes of intermediary metabolism in tissue of the little skate, *Raja erinacea*. *Journal of Experimental Zoology*, v. 244, n. 1, p. 9-15, 1987.

NEGREIROS, L. P., & TAVARES-DIAS, M. (2019). Parasites in farmed *Piaractus brachypomus* (*Serrasalminidae*) in the state of acre, western Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica*, 49, 294– 298. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201900491>

- NITZ, L. F., PELLEGRIN, L., MALTEZ, L. C., PINTO, D., SAMPAIO, L. A., MONSERRAT, J. M., & GARCIA, L. Temperature and hypoxia on oxidative stress responses in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Thermal Biology*, v. 92, p. 102682, 2020.
- OAKES KD; KRAAK VD. 2003. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations. *Aquatic Toxicol* 63: 447-463.
- PANEPUCCI, R. A., PANEPUCCI, L., FERNANDES, M. N., SANCHES, J. R., & RANTIN, F. T. The effect of hypoxia and recuperation on carbohydrate metabolism in pacu (*Piaractus mesotamicus*). *Brazilian Journal of Biology*, v. 61, p. 547-554, 2001.
- PANESAR, N. S., & CHAN, K. W. (2000). Decreased steroid hormone synthesis from inorganic nitrite and nitrate: Studies in vitro and in vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 169, 222–230
- PANKHURST NW (2011) The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. *Gen Comp Endocr* 170:265–275. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>
- PEIXE, B. R. Anuário brasileiro da piscicultura. PEIXE BR, 2023.
- PELLEGRIN, L., NITZ, L. F., MALTEZ, L. C., COPATTI, C. E., & GARCIA, L. Alkaline water improves the growth and antioxidant responses of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, v. 519, p. 734713, 2020.
- PELLEGRIN, L., NITZ, L. F., PINTO, D. D. S. B., COPATTI, C. E., WASIELESKY, W., & GARCIA, L. Effects of suspended solids in the survival and haematological parameters of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) in a biofloc technology culture system. *Aquaculture Research*, v. 53, n. 1, p. 276-284, 2022.
- PERRY, S. F.; LAURENT, P. Environmental effects on fish gill structure and function. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. (eds.). *Fish Ecophysiology*. London: Chapman; Hall, 1993. p. 231-264.
- PINHO, S. M., MOLINARI, D., DE MELLO, G. L., FITZSIMMONS, K. M., & EMERENCIANO, M. G. C. Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, v. 103, p. 146-153, 2017.
- PINTO, DANIEL DE SÁ BRITTO et al. Blood parameters and oxidative stress responses in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) reared at different temperatures. *Aquaculture International*, v. 30, n. 6, p. 2901-2918, 2022.
- PIRES, D. C., BEZERRA, G. A., WATANABE, A. L., NETO, C. C. B., DE ALMEIDA BICUDO, Á. J., & HISANO, H. Optimal dietary protein level for pacu *Piaractus mesopotamicus* juveniles reared in biofloc system. *Aquaculture*, v. 556, p. 738274, 2022.
- POLEKSIC, V., & MITROVIC-TUTUNDZIC, V. (1994). Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In R. Muéller & R. Lloyd (Eds.), *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish* (pp. 339– 352). Oxford, UK: FAO. Fishing News Books.

- POLI, BM, PARISI, G, SCAPPINI, F, ZAMPACAVALLLO, G. 2005. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquacult Int* 13: 29-49.
- PRESA, L. S., NEVES, G. C., MALTEZ, L. C., SAMPAIO, L. A., MONSERRAT, J. M., COPATTI, C. E., & GARCIA, L. Acute and sub-lethal effects of nitrate on haematological and oxidative stress parameters of juvenile mullet (*Mugil liza*) in freshwater. *Aquaculture Research*, v. 53, n. 9, p. 3346-3357, 2022.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T., PÁDUA, S.B., TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. 2013. Métodos para análises hematológicas em peixes. Maringá: Eduem. 2013.
- RANZANI-PAIVA, MARIA JOSÉ TAVARES ET AL. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS DE CURIMBATÁ (*Prochilodus scrofa*), PACU (*Piaractus mesopotamicus*) E TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) DAS ESTAÇÃ-ES DE PISCICULTURA DO INSTITUTO DE PESCA, ESTADO DE SÃO PAULO. Boletim do Instituto de pesca, v. 25, n. Anico, p. 77-83, 1999.
- REIS, A. B., SANT'ANA, D. D. M. G., AZEVEDO, J. F. D., MERLINI, L. S., & ARAÚJO, E. J. D. A. Alterações do epitélio branquial e das lamelas de tilápiás (*Oreochromis niloticus*) causadas por mudanças do ambiente aquático em tanques de cultivo intensivo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, p. 303-311, 2009.
- REIS, W. G., WASIELESKY, W., ABREU, P. C., BRANDÃO, H., & KRUMMENAUER, D. (2019). Rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in BFT system with different photoperiods: Effects on the microbial community, water quality and zootechnical performance. *Aquaculture*. doi:10.1016/j.aquaculture.2019.04.067
- REISCHL, E., DAFRE, A. L., FRANCO, J. L., & WILHELM FILHO, D. (2007). Distribution, adaptation and physiological meaning of thiols from vertebrate hemoglobins. *Comparative Biochemistry Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146(2), 22– 53. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.07.015>
- RIGGS A. Factors in the evolution of hemoglobin function. *Fed Proc* 1976; 35: 2115-2118.
- RODGERS, E. M., OPINION, A. G. R., ISAZA, D. F. G., RAŠKOVIĆ, B., POLEKSIĆ, V., & DE BOECK, G. Double whammy: nitrate pollution heightens susceptibility to both hypoxia and heat in a freshwater salmonid. *Science of The Total Environment*, v. 765, p. 142777, 2021.
- ROJAS, M. J., PINZÓN, P., CALDERÓN, H., & VIEIRA, R. Fingerlings production of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) in the Center of Research, Education and Recreation-CEINER-(Cartagena, Colombia). *Revista AquaTIC*, n. 35, p. 35-42, 2011.
- SABER, T. H. Histological adaptation to thermal changes in gills of common carp fishes *Cyprinus carpio* L. *Rafidain Journal of Science*. v. 22, p. 1-16, 2011.
- SAMOCHA, T.M., 2019. Sustainable Biofloc Systems for Marine Shrimp. In *Sustainable Biofloc Systems for Marine Shrimp*. Elsevier, London.
- SAMPAIO, F. G., DE LIMA BOIJINK, C., DOS SANTOS, L. R. B., OBA, E. T., KALININ, A. L., & RANTIN, F. T. The combined effect of copper and low pH on

antioxidant defenses and biochemical parameters in neotropical fish pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Ecotoxicology*, v. 19, p. 963-976, 2010.

SARAVANA BHAVAN, P.; GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*. 50, 331-339. 2000. doi:10.1016/S0166-445X(00)00096-5

SCHRAM E, ROQUES JAC, ABBINK W, YOKOHAMA Y, SPANINGS T, VRIES P, BIERMAN S, VIS HV AND FLIK G. 2012. The impact of elevated water nitrate concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquacult Res* 45: 1499-1511.

SEDLAK, J., & LINDSAY, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25(1):192-205.

SEVERI, W.; RANTIN, F. T.; FERNANDES, M. N. Respiratory gill surface of the serrasalmid fish, *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Fish Biology*, v. 50, n. 1, p. 127-136, 1997.

SGNAULIN T, DE MELLO GL, THOMAS MC, GARCIA JRE, DE OCA GARM, EMERENCIANO MGC (2018) Biofloc technology (BFT): an alternative aquaculture system for piracanjuba *Brycon orbignyanus*? *Aquaculture* 485: 119–123.

SINHORIN, V. D. G., SINHORIN, A. P., DOS SANTOS TEIXEIRA, J. M., MILÉSKI, K. M. L., HANSEN, P. C., MOREIRA, P. S. A., KAWASHITA, N. H., BAVIERA, A. M., & LORO, V. L. (2014). Effects of the acute exposition to glyphosate- based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma sp*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106, 181– 187. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.040>

STORMER, J., JENSEN, F.B., & RANKIN, J.C. (1996). Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects on ionic balance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53, 1943–1950.

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 2: 310p.

STRZYŻEWSKA-WOROTYŃSKA, E., SZAREK, J., BABIŃSKA, I., & GULDA, D. (2017). Gills as morphological biomarkers in extensive and intensive rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) production technologies. *Environmental Monitoring Assessment*, 189, 611. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6278-7>

SUITA, SABRINA MEDEIROS. O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bio-flocos e desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água. 2009. Dissertação de Mestrado.

SUN, H., LI, J., TANG, L., & YANG, Z. (2012). Responses of crucian carp *Carassius auratus* to long- term exposure to nitrite and low dissolved oxygen levels. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 224– 232. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.06.011>

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

- URBINATI, E.C., GONÇALVES, F.D., & TAKAHASHI, L.S. (2010). Pacu (*Piaractus mesopotamicus*):in: Baldisserotto, B., & Gomes, L.C. (Eds.): Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª ed. Santa Maria, RS. Editora da UFSM, 608p.
- VALLADÃO, G. M. R., GALLANI, S. U., & PILARSKI, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369.
- VAN HAI, N., FOTEDAR, R., 2010. A review of probiotics in shrimp aquaculture. *J. Appl. Aquac.* 22, 251–266. <https://doi.org/10.1080/10454438.2010.500597>.
- VAN RIJN J. (2013) Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 53, 49–56.
- VERJÁN, N.; IREGUI, C. A.; REY, A. L. & DONADO, P. Sistematización y caracterización de las lesiones branquiales de la cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) de cultivo clínicamente sana: algunas interacciones hospedador-patógeno-ambiente. *AQUATIC: Revista Electrónica de Acuicultura. Tecnología e Investigación en Castellano*, 15:1-25, 2001.
- VIRGENS, ADRIANA C.; CASTRO, RODRIGO L.; CRUZ, ZILMA MARIA A. Alterações histológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Tilapia-do-Nilo) expostas o Acefato, Difenconazol e Sulfluramida. *Natureza*. On line, v. 13, n. 1, p. 26-31, 2015.
- WALKER, R. (1996). The metabolism of dietary nitrites and nitrates. *Biochemical Society Transactions*, 24, 780–785.
- WANG, M., WU, F., XIE, S., ZHANG, L., 2021. Acute hypoxia and reoxygenation: Effect on oxidative stress and hypoxia signal transduction in the juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquac.* 531, 735903. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735903>.
- WASIELESKY, W., ATWOOD, H.I., STOKES, A., & BROWDY, C.L. (2006). Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396-403.
- WENDELAAR BONGA SE (1997) The stress response in fish. *Physiol Rev* 77:591–625. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>
- WICKI, G.; WILTCHIENSKY, E. Producción de pacú en el nordeste argentino. Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación Argentina, 2017.
- WONG, K. C. & WONG, M. H. Morphological and biochemical changes in the gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. *Aquat. Toxicol.*, 48:517-27, 2000.
- YANG W, SUN H, XIANG F, YANG Z AND CHEN Y. 2011. Response of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*) to long-term ammonia exposure: feeding, growth, and antioxidant defenses. *J Freshw Ecol* 26: 563–570
- YANG, S., WU, H., HE, K., YAN, T., ZHOU, J., ZHAO, L. L., ... & LI, S. J. Response of AMP-activated protein kinase and lactate metabolism of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) under acute hypoxic stress. *Science of the Total Environment*, v. 666, p. 1071-1079, 2019a.

YANG, X., PENG, L., HU, F., GUO, W., HALLERMAN, E., & HUANG, Z. Acute and chronic toxicity of nitrate to fat greenling (*Hexagrammos otakii*) juveniles. Journal of the World Aquaculture Society, v. 50, n. 5, p. 1016-1025, 2019.

YANG, X., PENG, L., HU, F., GUO, W., HALLERMAN, E., & HUANG, Z. Acute and chronic toxicity of nitrate to fat greenling (*Hexagrammos otakii*) juveniles. Journal of the World Aquaculture Society, v. 50, n. 5, p. 1016-1025, 2019c.

YANG, X., SONG, J., PENG, L., HALLERMAN, E., & HUANG, Z. (2019b). Effects of nitrate on aquaculture production, blood and histological markers and liver transcriptome of *Oplegnathus punctatus* (Temminck et Schlegel, 1846). Aquaculture, 501,387–396.

TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade da água dos tanques de criação de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) no sistema BFT e em diferentes concentrações de nitrato.

Parâmetros	Nitrato (mg NO ₃ -N L ⁻¹)		
	139,51 ± 4,28	333,66 ± 11,94	519,11 ± 18,83
Temperatura (°C)	26,23 ± 0,11	26,41 ± 0,15	26,66 ± 0,10
Oxigênio (mg/L)	7,81 ± 0,05	7,80 ± 0,06	7,97 ± 0,04
pH	8,09 ± 0,02 ^b	8,11 ± 0,02 ^b	8,16 ± 0,02 ^a
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	129,30 ± 4,87	127,5 ± 5,39	134,35 ± 5,64
Amônia Total (mg L ⁻¹)	0,37 ± 0,12	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00
Amônia não ionizada (mg L ⁻¹)	0,02 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Nitrito (mg L ⁻¹)	1,21 ± 0,24	0,83 ± 0,17	0,46 ± 0,07
Nitrato (mg L ⁻¹)	139,51 ± 4,28 ^c	333,66 ± 11,94 ^b	519,11 ± 18,83 ^a
SS (mL L ⁻¹)	19,33 ± 2,43	16,67 ± 1,25	20,41 ± 1,77
SST (mg L ⁻¹)	340,91 ± 48,06	309,09 ± 53,86	327,27 ± 42,83

Os dados são expressos como média ± EP (n = 3). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de nitrato (p < 0,05). SS: Sólidos Suspensos; SST: Sólidos Suspensos Totais.

Tabela 2 – Desempenho zootécnico de juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT e com diferentes concentrações de nitrato.

Parâmetros	Nitrato (mg NO ₃ -N L ⁻¹)		
	139,51 ± 4,28	333,66 ± 11,94	519,11 ± 18,83
PI (g)	31,64 ± 0,27 ^a	31,20 ± 0,28 ^a	31,17 ± 0,29 ^a
PF (g)	61,51 ± 1,76 ^a	60,36 ± 1,81 ^a	54,15 ± 1,82 ^b
CTI (cm)	11,45 ± 0,07 ^a	11,43 ± 0,06 ^a	11,41 ± 0,06 ^a
CTF (cm)	14,54 ± 0,16 ^a	14,52 ± 0,16 ^a	14,95 ± 0,16 ^b
CPI (cm)	9,37 ± 0,04 ^a	9,29 ± 0,04 ^a	9,33 ± 0,04 ^a
CPF (cm)	11,76 ± 0,12 ^a	11,64 ± 0,12 ^a	11,45 ± 0,11 ^a
GP (g)	29,87 ± 1,75 ^a	29,15 ± 1,80 ^a	22,98 ± 1,81 ^b
GPMD (g)	0,66 ± 0,04 ^a	0,65 ± 0,04 ^a	0,51 ± 0,04 ^b
TCE(% dia ⁻¹)	1,45 ± 0,07 ^{ab}	1,44 ± 0,06 ^a	1,20 ± 0,06 ^b
K (g cm ³ *100)	2,00 ± 0,05 ^a	1,97 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,05 ^a
CAA	1,71 ± 0,10 ^a	1,78 ± 0,13 ^a	2,90 ± 0,74 ^b
GBT(g)	1075,5 ± 62,93 ^a	1049,6 ± 64,85 ^a	827,44 ± 65,15 ^b
BI (g)	1138,9	1123,3	1122,1
BF (g)	2210,0	2170,0	1950,0
PR (Kg m ⁻³)	8,86	8,69	7,80

Os dados são expressos como média ± EP (n = 12). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os níveis de nitrato (p < 0,05). Abreviações: PI: Peso Inicial; PF: Peso Final; CTI: Comprimento Total Inicial; CTF: Comprimento Total Final; CPI: Comprimento Padrão Inicial; CPF: Comprimento Padrão Final; GP: Ganho de Peso; GPMD: Ganho de Peso Médio Diário; TCE: Taxa de Crescimento Específico; K: Fator de condição; CAA: Conversão Alimentar Aparente; GBT: Ganho de Biomassa Total; BI: Biomassa Inicial; BF: Biomassa Final; PR: Produtividade.

Tabela 3 – Parâmetros hematológicos de juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT e com diferentes concentrações de nitrato.

Parâmetros	Nitrato (mg NO ₃ -N L ⁻¹)		
	139,51 ± 4,28	333,66 ± 11,94	519,11 ± 18,83
Glicose (mg dL ⁻¹)	65,22 ± 3,14 ^a	69,22 ± 2,93 ^a	69,67 ± 2,79 ^a
pH	7,22 ± 0,01 ^a	7,20 ± 0,01 ^a	7,20 ± 0,01 ^a
Hematócrito (%)	45,30 ± 0,99 ^a	38,60 ± 1,32 ^b	35,90 ± 1,05 ^b
Eritrócito (10 ⁶ µL ⁻¹)	1,68 ± 0,04 ^a	1,67 ± 0,07 ^a	1,46 ± 0,04 ^b
Hb (g dL ⁻¹)	12,76 ± 0,20 ^a	11,73 ± 0,24 ^b	11,77 ± 0,27 ^b
HCM (µg)	76,04 ± 1,28 ^a	70,98 ± 2,94 ^a	74,91 ± 5,35 ^a
VMC (fL)	270,38 ± 7,47 ^a	240,32 ± 8,92 ^a	246,57 ± 9,11 ^a
CHCM (g dL ⁻¹)	28,24 ± 0,66 ^a	30,60 ± 1,03 ^a	30,79 ± 2,17 ^a

Os dados são expressos como média ± EP (n = 9). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os níveis de nitrato (p < 0,05). Abreviações: pH: Potencial Hidrogeniônico; Hb: Hemoglobina; HCM: Hemoglobina corpuscular Média; VMC: Volume Corpuscular Médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1 – Efeito do nitrato nas brânquias de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT - A = Proteína, B = LPO, C = ACAP e D = GST.

Figura 2 – Efeito do nitrato nas brânquias de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT - A = NPSH e B = PSH.

Figura 3 – Efeito do nitrato nas brânquias de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT – A = Glicose, B = Lactato e C = Triglicerídeos.

Figura 4 - Efeito do nitrato no fígado de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT - A = Proteína, B = LPO, C = ACAP e D = GST.

Figura 5 - Efeito do nitrato no fígado de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT - A = NPSH e B = PSH.

Figura 6 - Efeito do nitrato nas fígado de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em sistema BFT – A = Glicose, B = Lactato e C = Triglicerídeos.

Figura 7 – População bacteriana na água de cultivo de pacu, em sistema BFT, com diferentes concentrações de nitrato. Porcentagem total analisada no período inicial (dia 7) e final (dia 43).

Figura 8 – Dados de bactérias Cocoídes (a), Filamentos Agregados (b), Filamentos Livres (c), Bacilos (d) e Víbrio (e) presentes na água de cultivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em sistema BFT com diferentes concentrações de nitrato.

Figura 9 - Floco microbiano com filamentos agregados na água de cultivo de pacu em sistema BFT (seta indica o filamento agregado).

Figura 10 – Filamentos Livre na água de cultivo de pacu em sistema BFT (seta preta indica o filamento Livre e seta branca cocoide).

Figura 11 – Vibrio na água de cultivo de pacu em sistema BFT (seta indica o vibrio).

Figura 1

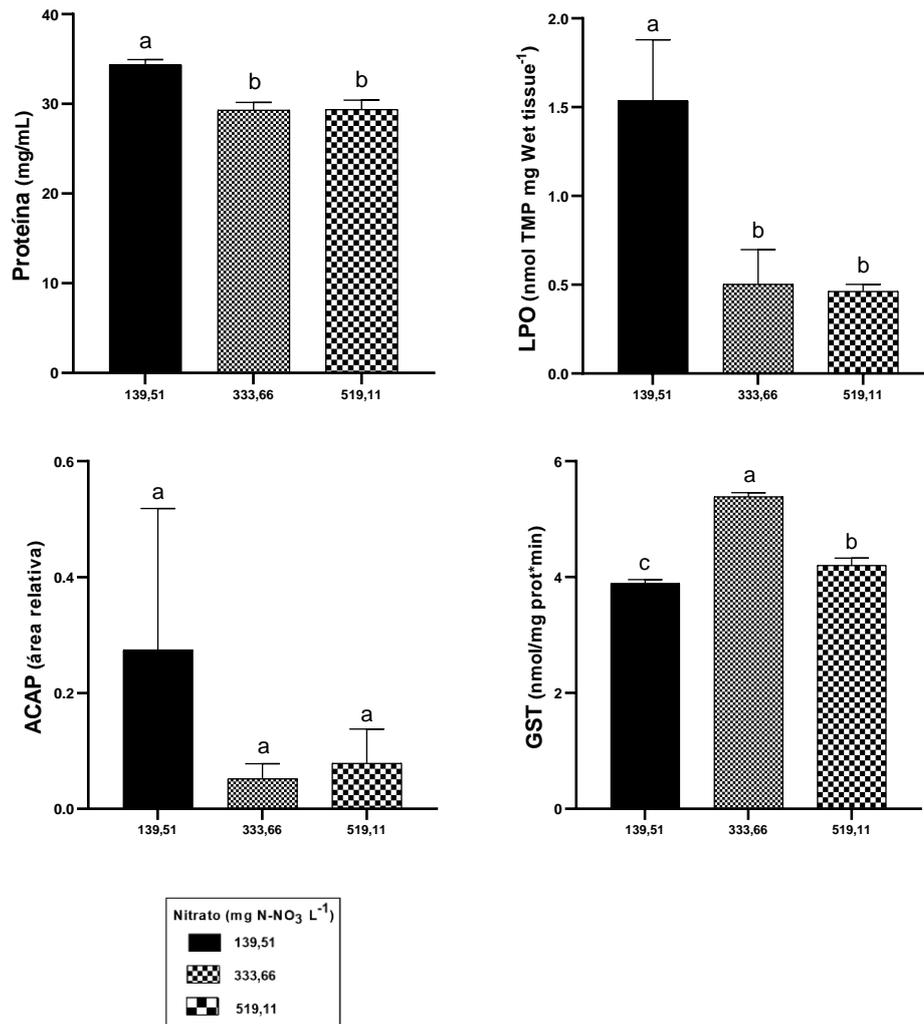


Figura 2

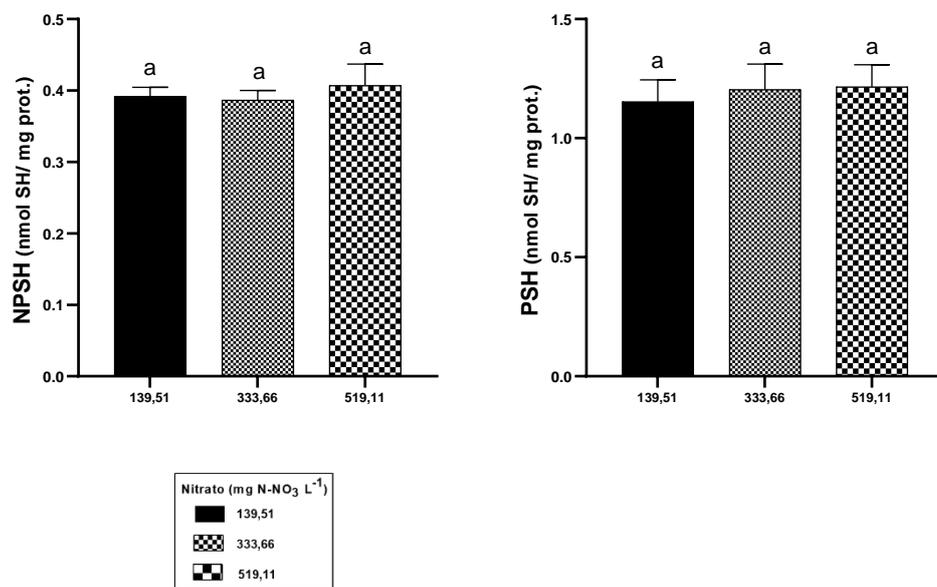


Figura 3

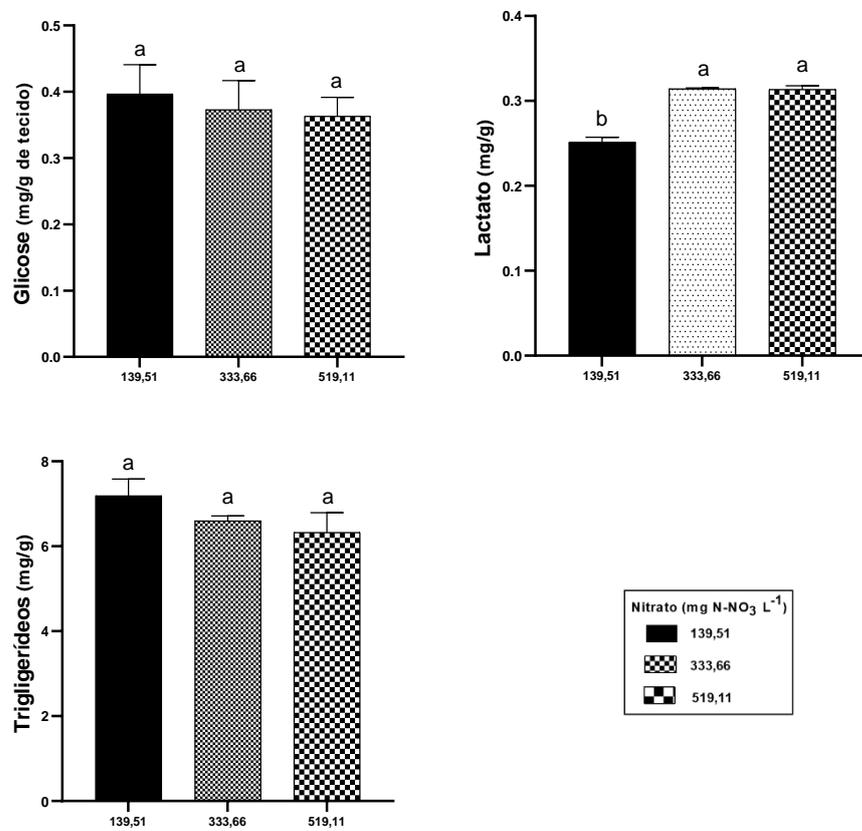


Figura 4

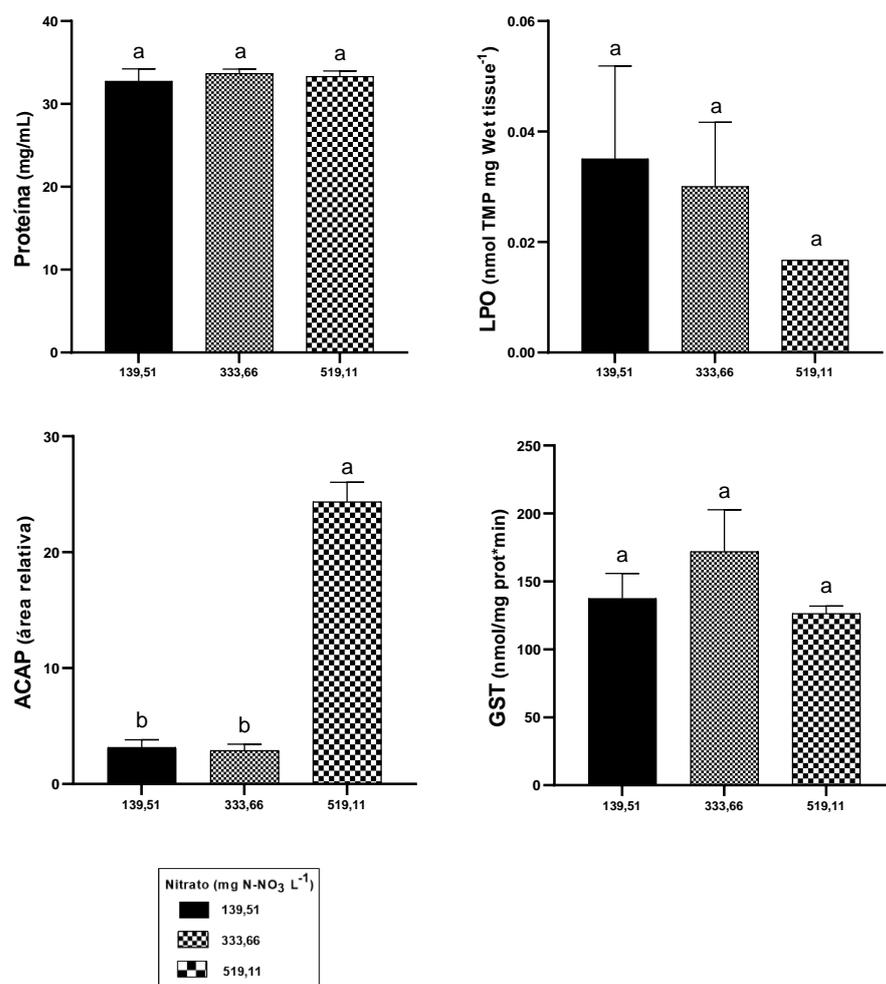


Figura 5

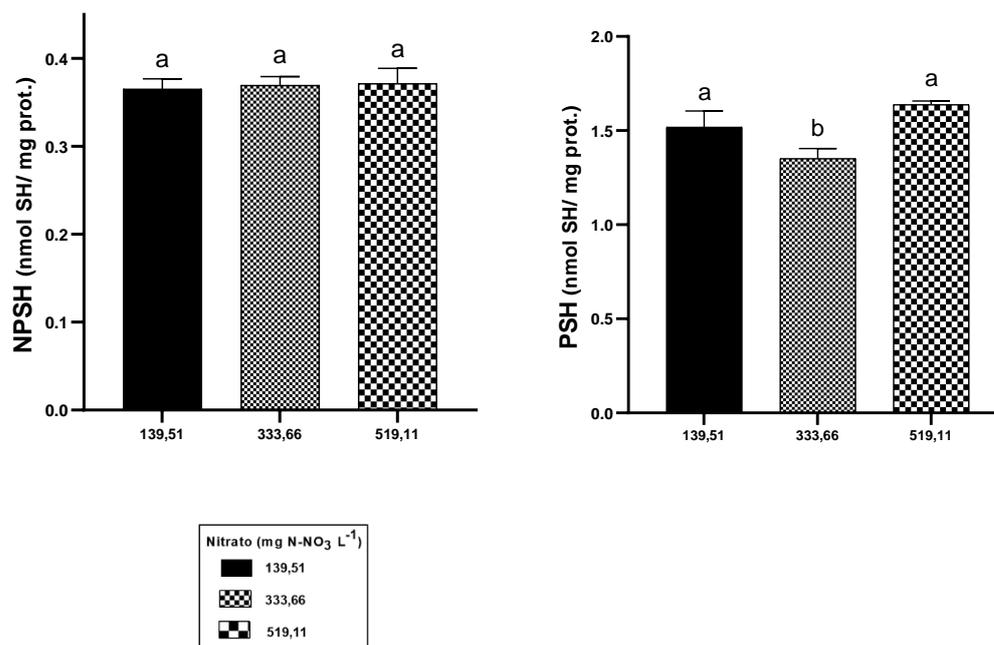


Figura 6

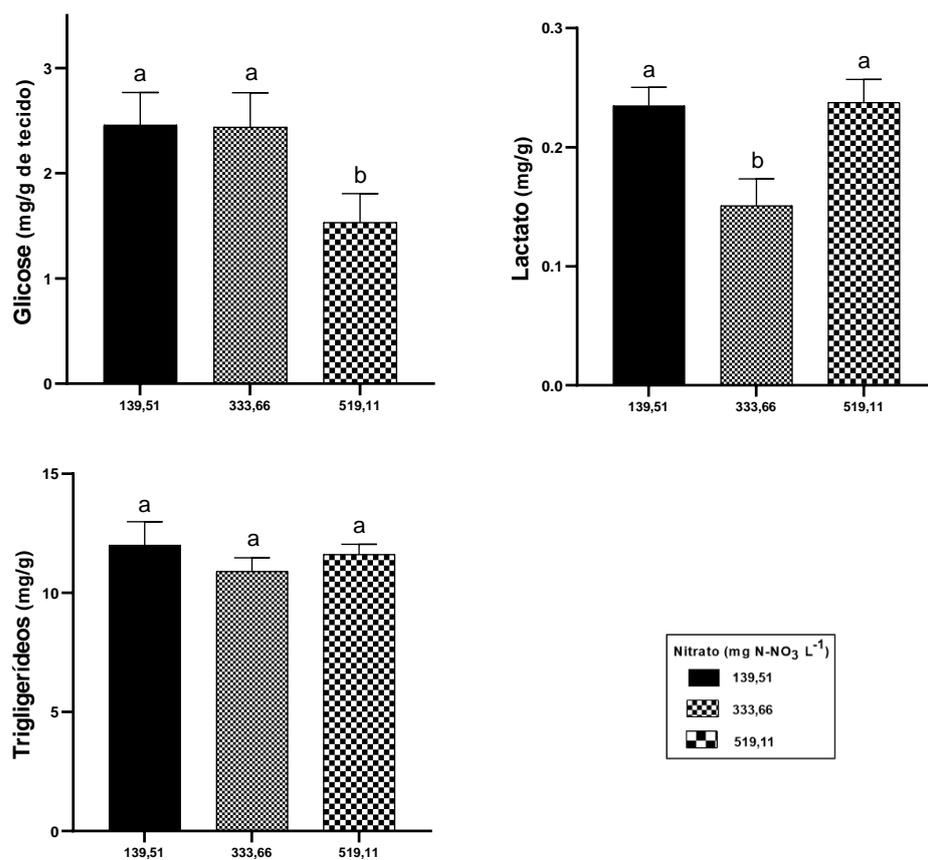


Figura 7

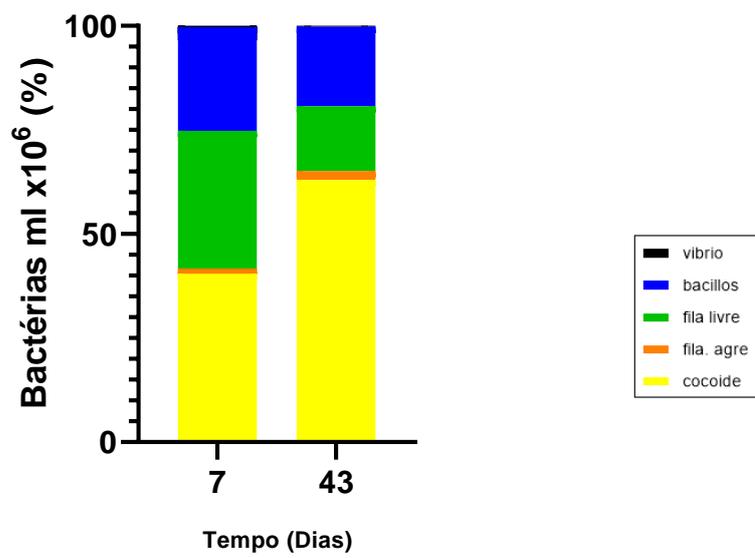


Figura 8

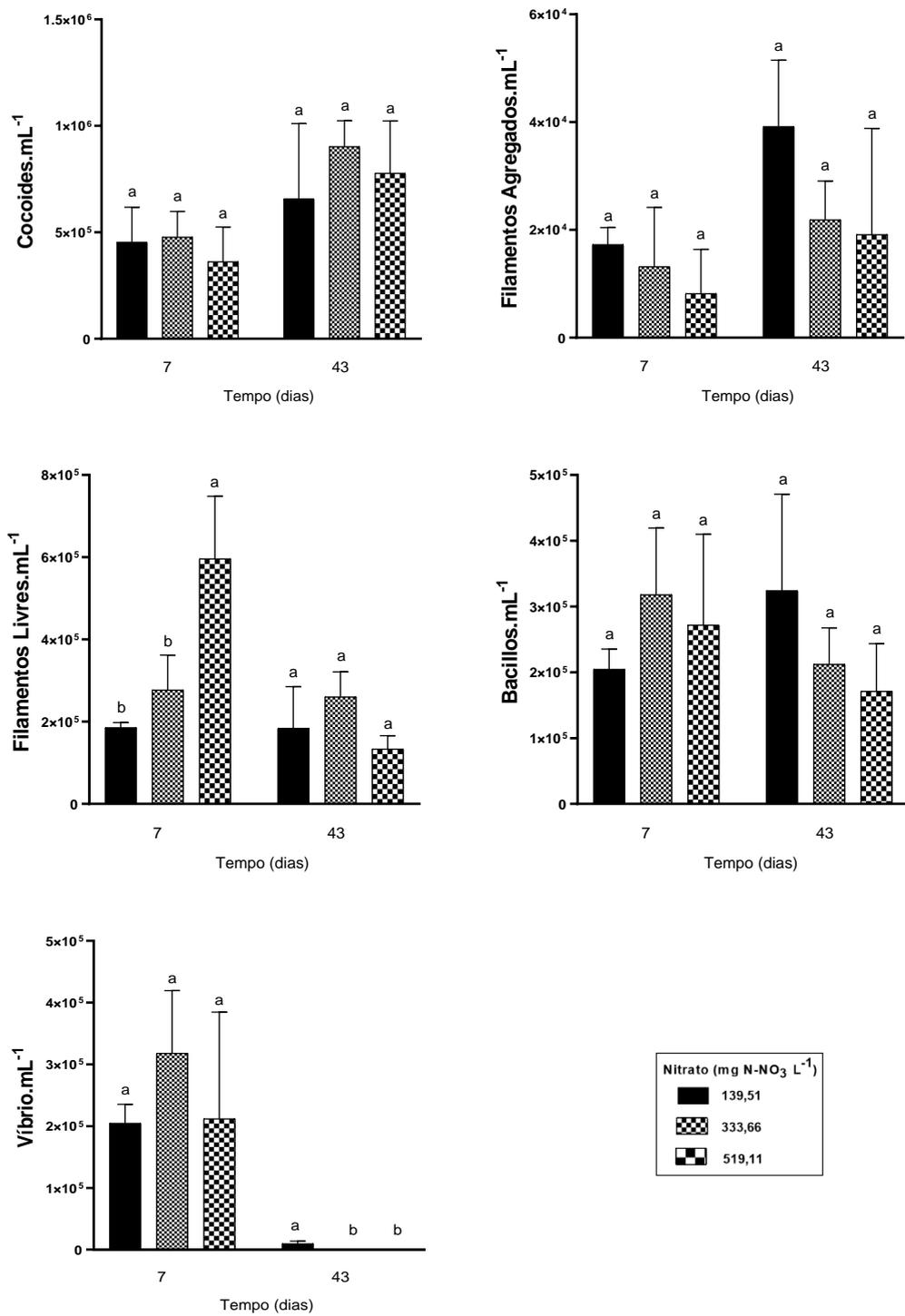
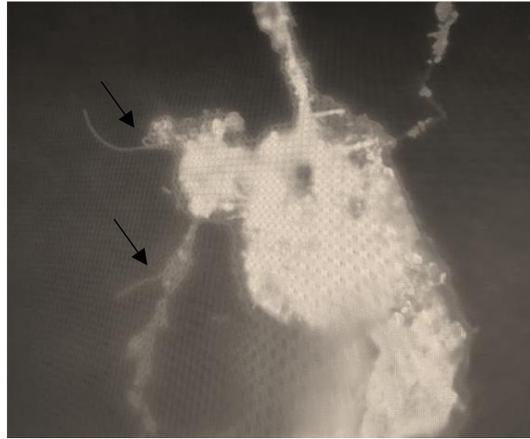


Figura 9



Fonte: A autora (2022)

Figura 10



Fonte: a Autora (2022)

Figura 11



Fonte: A autora (2022)