



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

A faint, stylized background illustration of a Nile tilapia (Oreochromis niloticus) is centered on the page. The fish is depicted in profile, facing right, with a yellow starburst indicating a biofloc. It is positioned above a grey, oval-shaped structure representing a biofloc system, which has several vertical lines extending downwards. A blue curved arrow points from the biofloc towards the fish.

**MANEJO ALIMENTAR NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA
DE BIOFLOCOS: EFEITO DAS ESTRATÉGIAS DE
ALIMENTAÇÃO RESTRITA**

Luciana Kelly Oliveira Silva

Rio Grande – RS, Brasil

Fevereiro, 2023

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

**MANEJO ALIMENTAR NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA
DE BIOFLOCOS: EFEITO DAS ESTRATÉGIAS DE
ALIMENTAÇÃO RESTRITA**

Luciana Kelly Oliveira Silva

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do grau de **Doutora em Aquicultura**
em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação
em Aquicultura da Universidade Federal do Rio
Grande – FURG.

Orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser

Co-orientador: Dr. Wilson Wasielesky

Rio Grande – RS, Brasil

Fevereiro, 2023

Ficha Catalográfica

S586m Silva, Luciana Kelly Oliveira.

Manejo alimentar na produção de juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos: efeito das estratégias de alimentação restrita / Luciana Kelly Oliveira Silva. – 2023.

170 f.

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

Orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser.

Coorientador: Dr. Wilson Wasielesky.

1. BFT 2. Alimentação 3. Sólidos 4. Crescimento compensatório
5. Juvenis 6. Eficiência alimentar I. Tesser, Marcelo Borges
II. Wasielesky, Wilson III. Título.

CDU 639.3.05

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

ATA 02/2023

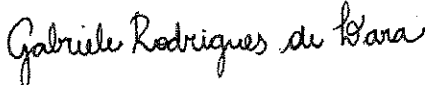
DE DEFESA DA 79ª TESE DE DOUTORADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e vinte e três, às quatorze horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Tese de Doutorado em Aquicultura, da **LUCIANA KELLY OLIVEIRA SILVA**, orientado pelo Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser (orientador – IO/FURG), Prof. Dr. Wilson Wasielesky (coorientador - IO/FURG), Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues (IO/FURG), Dr.^a Gabriele Rodrigues de Lara (PUCV - Chile) e o Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo (UFPel). Título da Tese: “**MANEJO ALIMENTAR NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: EFEITO DAS ESTRATÉGIAS DE ALIMENTAÇÃO RESTRITA.**” Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Tese. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da Tese, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **LUCIANA KELLY OLIVEIRA SILVA** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Tese ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.


PROF. DR. MARCELO BORGES TESSER (ORIENTADOR – IO/FURG)


PROF. DR. WILSON WASIELESKY (COORIENTADOR - IO/FURG)


PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (IO/FURG)



PROF.^a DR.^a GABRIELE RODRIGUES DE LARA (PUCV - Chile)

PROF. DR. RICARDO BERTEAUX ROBALDO (UFPel) 

Documento assinado digitalmente

RICARDO BERTEAUX ROBALDO
Data: 28/02/2023 17:11:04-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

LUCIANA KELLY OLIVEIRA SILVA 

Documento assinado digitalmente

LUCIANA KELLY OLIVEIRA SILVA
Data: 02/03/2023 14:55:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


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

INDICE

RESUMO GERAL.....	vi
GENERAL ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO GERAL	10
OBJETIVOS	15
Objetivo geral	15
Objetivos específicos.....	15
REFERÊNCIAS.....	16
Capítulo I: Fish culture in biofloc technology (BFT): insights on stocking density, carbon sources, C/N ratio, fish nutrition and health	29
ANEXO I: Tabelas	75
Capítulo II: Efeitos da restrição alimentar sobre juvenis de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) mantidos em sistema de bioflocos	81
ANEXO I: Tabelas	111
ANEXO II: Figuras	118
Capítulo III: Os bioflocos são capazes de sustentar o crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) submetidos à restrição alimentar cíclica?.....	122
ANEXO I: Tabelas	157
ANEXO II: Figuras	163
CONCLUSÃO GERAL	166
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	168

“É justo que muito custe o que muito vale”

Santa Teresa de Jesus

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese as pessoas que tanto se dedicam a mim: aos meus pais, **Lucia Oliveira** e **Assis Silva**, ao meu irmão **Lucas Eduardo**, a minha irmã do coração **Verônica Rodrigues** e a minha avó **Djanira Oliveira** *in memoriam*.

Vocês são a “**minha riqueza**”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à força da natureza onipresente, onisciente e onipotente a qual chamamos de Deus. Se há ciência, ela existe por que Deus assim permitiu.

Agradeço a minha família por ser minha fortaleza e minha fonte diária e incondicional de amor. Em especial a minha mãe, minha inspiração de força, coragem, perseverança e determinação. Com vocês eu posso tudo!

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser pelo tempo, paciência, ensinamentos, confiança e orientação, mas principalmente por não me deixar em uma zona de conforto durante esses 4 anos de trabalho juntos. Afinal, *“o fruto não cai longe do pé”*.

Agradeço ao meu co-orientador, Prof. Dr. Wilson Wasielesky pela confiança, conversas e conselhos. Nosso encontro profissional há muito tempo estava escrito.

Agradeço ao meu co-autor, Prof. Dr. Dariano Krumennauer pelo cuidado e a atenção dispensada a mim desde a minha chegada a Estação Marinha de Aquicultura/EMA.

Agradeço aos professores Dr. Luís André Sampaio e Dr. Ricardo Vieira Rodrigues por todo o suporte, atenção, conversas e convivência durante esses anos na EMA.

Um agradecimento especial a Msc. Inghrid Ribeiro, Dra. Olivia Menossi, Dr. Marcelo Okamoto, Msc. Thaíse Zancan e a Anne Gomes pela amizade. Vocês fizeram minha vida ao longo do doutorado muito mais leve, e seguraram a minha mão nos momentos mais difíceis.

Agradeço ao Msc. Ítalo Braga pela amizade, pelo tempo, pela parceria e por de certa forma ser uma referência de família no sul do sul do Brasil.

Agradeço aos queridos Dr. Rafael Buitrago, Msc. Aline Bezerra e Msc. Thaise Zancan que de alguma forma contribuíram muito no esforço de análise nesse último semestre do doutorado.

Agradeço a Enoe Amorim, Luís Arthur Silva, Raquel dos Anjos e a Kelviane Gomes pela amizade de tantos anos, e por me apoiarem em todas as decisões que me trouxeram até aqui. Da UFC pra vida!

Um agradecimento especial ao Dr. Álvaro Bicudo por acreditar em mim, quando eu mesma não acreditava que seria possível, por plantar a semente e por me preparar para trilhar um doutorado.

Agradeço a FURG, e ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura pela oportunidade de formação profissional.

Agradeço a CAPES por resistir a tentativa de desmonte da educação superior e da ciência brasileira nos últimos 4 anos, e manter o incentivo acadêmico o qual contribuiu para o desenvolvimento da presente tese, e para minha formação profissional.

Também não poderia deixar de agradecer ao retirante nordestino, torneiro mecânico, metalúrgico que tantas vezes foi acusado de analfabeto, porém foi o presidente do Brasil

que mais investiu na educação e na ciência brasileira. Obrigada presidente Lula, por sonhar e nos fazer sonhar com a universidade grande, forte, pintada de povo, cheia de mulheres, negras, nordestinas e filhas da classe trabalhadora.

“A gratidão traz junto dela uma série de outros sentimentos, como amor, fidelidade, amizade e muito mais, diz-se que a gratidão é um sentimento muito nobre”.

RESUMO GERAL

A presente tese é composta por três capítulos que abordam a criação de peixes em sistema de bioflocos com ênfase no manejo alimentar de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com o objetivo de determinar a contribuição dos agregados microbianos frente a restrição de alimento inerte. Como primeiro capítulo apresentamos uma revisão sobre a criação de peixes em sistema BFT com *insights* sobre os principais parâmetros de manejo do sistema que influenciam diretamente os peixes, especialmente o uso dos agregados microbianos como alimento. O segundo capítulo aborda a restrição total de alimento inerte ao longo de semanas com o objetivo de avaliar o potencial do bioflocos na manutenção e sustentação do crescimento dos peixes. O terceiro e último capítulo consistiu na avaliação do potencial do bioflocos no desempenho zootécnico dos peixes em ciclos combinando restrição e alimentação. Os estudos experimentais foram conduzidos em sistema de bioflocos estáticos composto por 15 unidade experimentais isoladas afim de avaliar a influência dos diferentes manejos alimentares sobre a concentração dos sólidos, a qualidade nutricional dos bioflocos e a composição da comunidade microbiana. Em ambos, os ensaios durante o período de alimentação os animais receberam ração comercial em três refeições diárias (9h, 13h e 17h) *ad libitum*. Os peixes foram avaliados quanto ao seu desempenho, sua condição corporal e composição química corporal, exceto no capítulo II onde foram adicionalmente avaliados os parâmetros hematológicos. A qualidade da água foi monitorada ao longo do ensaio, e quando necessário, as medidas corretivas foram aplicadas. Com isso manteve-se os parâmetros dentro dos ranges estabelecidos para a espécie e para a operação do sistema. Os bioflocos foram significativamente influenciados pelos manejos empregados, e sua composição nutricional interferiu na capacidade de compensação de crescimento dos peixes, posto que sua composição foi reflexo do

aporte de nutrientes via ração. Contudo, os bioflocos foram capazes de compensar o crescimento totalmente nas seguintes condições: sob restrição total de alimento inerte por até uma semana, e sob restrição parcial em ciclos de 1 dia de restrição/6 dia de alimentação. Nossos resultados demonstram que os bioflocos são aliados importantes no manejo alimentar de juvenis de tilápia, ao contribuir com a melhoria da eficiência alimentar, na economia de ração, em situações de baixa provisão dos estoques de ração e na manutenção estratégica de estoques de juvenis de tilápia para atender uma alta demanda de mercado, especialmente nas regiões sul e sudeste do país.

Palavras-chave: BFT, alimentação; sólidos; crescimento compensatório; juvenis; eficiência alimentar.

GENERAL ABSTRACT

The present thesis is composed of three chapters that address the rearing of fish in a biofloc system with emphasis on the feeding management of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*), with the objective of determining the contribution of microbial aggregates to the restriction of inert food. In the first chapter, we present a review of fish culture in a BFT system, with insights into the main management parameters of the system that directly influence fish, especially the use of microbial aggregates as food. The second chapter addresses the total restriction of inert food over weeks to evaluate the potential of bioflocs to maintain and sustain fish growth. The third and last chapters evaluated the potential of bioflocs in the growth performance of fish in cycles combining restriction and feeding. The experimental studies were carried out in a static biofloc system composed of 15 isolated experimental units to evaluate the influence of different feeding practices on the solids concentration, nutritional quality of the bioflocs, and composition of the microbial community. During the feeding period in both trials, the animals received commercial feed in three daily meals (9:00, 13:00, and 17:00), ad libitum. The fish were evaluated for their performance, body condition, and body chemical composition, except in Chapter II, where hematological parameters were evaluated. Water quality was monitored throughout the trial and corrective measures were applied when necessary. With this, the parameters were maintained within the ranges established for the species and for the operation of the system. The management used significantly influenced the bioflocs, and their nutritional composition interfered with the ability to compensate for the growth of the fish, as their composition was a reflection of the supply of nutrients via the feed. However, the bioflocs were able to fully compensate for growth under the following conditions: total inert feed restriction for up to one week and partial restriction in 1-day restriction/6-day feed cycles. Our

results demonstrate that bioflocs are important allies in the feeding management of tilapia juveniles, by contributing to the improvement of feed efficiency, in feed economy, in situations of low supply of feedstocks, and in the strategic maintenance of tilapia juvenile stocks to meet a high market demand, especially in the southern and southeastern regions of the country.

Keywords: BFT, food; solids; compensatory growth; juveniles; food efficiency.

INTRODUÇÃO GERAL

Em sistemas aquícolas intensivos, a aquisição de rações nutricionalmente completas representa de 40 a 60% dos custos de produção (Arru et al., 2019; Kaleem and Bio Singou Sabi, 2021). Devido à forte influência desse insumo nas despesas de criação, é fundamental a otimização dos regimes alimentares, por meio de programas de manejo que considerem os aspectos nutricionais, econômicos e o próprio sistema de produção. O manejo alimentar pode ser entendido como o ato de fornecer alimento aos animais confinados. As estratégias de manejo alimentar governam a entrega de alimento através de um conjunto de práticas que envolvem a quantidade – taxa de alimentação/arraçoamento –, o número de refeições por dia – frequência de alimentação –, sazonalidade – restrição de alimento – e a qualidade do alimento – tipo de ração – a ser ofertado (An and Anh, 2020; Attia et al., 2012; Busti et al., 2020; Rahman et al., 2022). Essas práticas são importantes para obtenção do máximo crescimento dos organismos criados em cativeiro sem, no entanto, impactar a sustentabilidade da produção (Cadorin et al., 2022; Mihelakakis et al., 2002).

Períodos de privação alimentar são muito comuns no ambiente natural ocasionados por fatores bióticos e abióticos (Mehner and Wieser, 1994) que promovem flutuações na disponibilidade de alimento. Frente a escassez de alimento, os vertebrados ectotérmicos, com suas taxas metabólicas mais baixas são resistentes à períodos prolongados de jejum (Wang et al., 2006). Em condições alimentares restritas, os processos fisiológicos essenciais relacionados à manutenção e conservação do metabolismo basal são priorizados pelo organismo, e recebem a energia anteriormente direcionada ao processo de crescimento e armazenamento (Pujante et al., 2015). Um conjunto de respostas fisiológicas à restrição alimentar ocorrem como por exemplo, a redução do peso dos órgãos, o fator de condição e o crescimento. Em parte, esses

processos são apoiados pela modulação da expressão de uma variedade de genes associados ao sistema GH/IGF-I (hormônio de crescimento/fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo 1) (MacKenzie et al., 1998).

Os peixes exibem três fases comportamentais em resposta a escassez de alimento: a) intensificação da atividade locomotora a fim de ampliar a chance de encontro do alimento; b) redução da locomoção e da atividade metabólica frente a ausência contínua do alimento; e c) com a disponibilidade do alimento realiza a transformação dos nutrientes em substância corporal o mais rápido possível. Quando restabelecidas as condições favoráveis os animais apresentam uma fase de crescimento acelerado, conhecido como crescimento compensatório (Ali et al., 2003; C. Py et al., 2022). Esse fenômeno pode ser classificado em diferentes graus de compensação: a) sobrecompensação, quando os animais submetidos a restrição ultrapassam o crescimento dos animais continuamente alimentados com a mesma idade; b) compensação total, após a realimentação os indivíduos alcançam o tamanho daqueles não restritos durante o mesmo período; c) compensação parcial, refere-se aqueles que não atingem o mesmo tamanho dos contemporâneos continuamente alimentados; e d) não compensação, caracterizada pela não ocorrência de respostas compensatórias durante o período de realimentação, ou seja, os animais não apresentam crescimento algum (Ali et al., 2003; Hornick et al., 2000; Clara Py et al., 2022).

A quantidade e a qualidade dos nutrientes presentes no ambiente influenciam fortemente o crescimento dos organismos, desta forma a privação de alimento pode alterar o desenvolvimento dos animais, assim como seus mecanismos de regulação do crescimento (Bertucci et al., 2019; Chantranupong et al., 2015; Chen et al., 2019). Existem diferentes métodos para a indução do crescimento compensatório como protocolos de restrição, restrição/realimentação e manipulação de nutrientes na dieta

(Ali et al., 2003; Cho and Heo, 2011; de Macêdo et al., 2021). Diferentes fatores podem influenciar essas respostas como espécie, idade, tamanho, estoque energético (Jafari et al., 2019), a intensidade da privação do alimento e a condição nutricional dos peixes (Favero et al., 2020, 2019; McCue, 2010). Os estudos indicam que os órgãos digestivos são muito sensíveis à privação de alimentos. Muitas espécies de vertebrados ectotérmicos expressam mudanças nos órgãos gastrointestinais em resposta ao jejum (Wang et al., 2006), como a atividade enzimática digestiva (Chan et al., 2008; LÓPEZ-Vásquez e Castro-Pérez, 2009), alterações bioquímicas e morfológicas no fígado e intestino (RIOS et al., 2004, 2007, 2009). Além disso, os parâmetros hematológicos podem ser influenciados em função da restrição alimentar (Akbari and Jahanbakhshi, 2016; Kim et al., 2014; Moustafa and El-kader, 2017; Yarmohammadi et al., 2015).

O estudo do crescimento compensatório ultrapassa o campo teórico, podendo ser aplicado na aquicultura (Jobling et al., 1994; Clara Py et al., 2022). No ambiente aquícola a privação de alimentos não é frequente; contudo a adequada exploração desse fenômeno pode proporcionar melhorias na eficiência alimentar, aumento nas taxas de crescimento, otimização da qualidade da carne para consumo humano (Heide et al., 2006; Lippe et al., 2021; Suárez et al., 2010) e consequente redução de custos de produção. Um grande número de trabalhos tem se dedicado a explorar a utilização dos efeitos do jejum e restrição proteica na produção animal, sendo a aquicultura e seus diferentes sistemas um vasto campo a ser pesquisado. A princípio a ocorrência de respostas compensatórias foi explorada principalmente em salmão do Atlântico, *Salmon salar* (Hevrøy et al., 2011) e truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Higgins et al., 2005). No entanto, outras espécies como bacalhau do Atlântico, *Gadus mohua* L. (Olsen et al., 2008), alabote do Atlântico, *Hippoglossus hippoglossus* (Foss et al., 2009; Heide et al., 2006), esturjão siberiano, *Acipenser baerii* (Babaei et al., 2016;

Jafari and Falahatkar, 2018), enguia europeia, *Anguilla anguilla* (Caruso et al., 2010; Gisbert et al., 2011), dourada, *Sparus aurata* (Bavčević et al., 2010), robalo europeu, *Sea bass* (Chatzifotis et al., 2011), atum amarelo, *Seriola rivoliana* (Argüello-Guevara et al., 2018), incluindo peixes neotropicais como a matrinxã, *Brycon amazonicus* (Urbinati et al., 2014), o jundiá, *Rhamdia quelen* (Barcellos et al., 2010), curimatá, *Prochilodus lineatus* (Rios et al., 2011) têm recebido a atenção dos pesquisadores.

Nesse campo de estudo há uma elevada heterogeneidade nos resultados gerados, não havendo um consenso sobre qual protocolo deverá ser empregado para a obtenção de respostas compensatórias. Dentre as espécies estudadas encontra-se a tilápia (*Oreochromis sp.*), um ciclídeo africano introduzido em muitas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (El-Sayed, 2006). Sua escolha como modelo experimental consiste na sua importância como recurso aquícola. Embora seja uma espécie exótica, a *Oreochromis niloticus*, corresponde a 62,3% da piscicultura brasileira (IBGE, 2020). Estudos anteriores demonstram a capacidade dessa espécie em responder a restrição alimentar apresentando diferentes graus de compensação (Abdel-Tawwab et al., 2006; Liu et al., 2019; Sakyi et al., 2020; Wang et al., 2000). No Brasil, a criação de tilápia está amplamente difundida através de diferentes sistemas e regimes de produção como viveiros escavados, tanques-rede de pequeno e grande volume e sistemas de recirculação. Mais recentemente, o emprego da tecnologia de bioflocos (BFT) tem se tornado uma alternativa de sucesso aos sistemas de cultivo tradicionais (Liu et al., 2018), por meio do manejo controlado do ambiente e a dinâmica microbiana que permitem a manutenção da qualidade de água (Wasielesky Jr. et al., 2006), maior densidade de cultivo (Adineh et al., 2019; Battisti et al., 2020; Haridas et al., 2017), melhora na saúde dos animais através do seu efeito probiótico (Hostins et al., 2017).

A comunidade microbiana representa uma fonte considerável de nutrientes como proteínas, lipídios, vitaminas, sais minerais, compostos bioativos e ácidos graxos disponíveis “*in situ*” com potencial valor nutricional para a aquicultura (Khanjani et al., 2023; Oliveira et al., 2022). Essa característica nutricional possibilita a manipulação do aporte de alimento a ser ofertados aos organismos aquáticos, o que favorece a eficiência alimentar e consequentemente a redução nos custos com alimentação (Cavalcanti Nery et al., 2019; Correa et al., 2020; Ekasari et al., 2015; Pérez-Fuentes et al., 2018; Rocha et al., 2019; Wasielesky Jr. et al., 2006). Essa produtividade natural do sistema BFT permite explorar diferentes manejos de alimentação em espécies com potencial para o aproveitamento da matéria orgânica em suspensão como alimento (Cavalcante et al., 2017; Cavalcanti Nery et al., 2019; Correa et al., 2020; Hisano et al., 2021; Lara et al., 2017; Mabroke et al., 2021; Oliveira et al., 2021; Pérez-Fuentes et al., 2018; Rocha et al., 2019; Silva et al., 2020). Em sistema BFT, a criação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem sido amplamente investigada (Khanjani et al., 2022). Entretanto, o manejo alimentar considerando o alimento “*in situ*” proporcionado pelo sistema continua pouco explorado, em especial aos aspectos relacionados a restrição de alimento inerte.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar a contribuição dos agregados microbianos no desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes técnicas de manejo alimentar restritivo em sistema de bioflocos.

Objetivos específicos

- Descrever os aspectos produtivos da criação de peixes em sistema de bioflocos, e a aplicação dos agregados microbianos na nutrição e saúde dos peixes (capítulo I);
- Avaliar os efeitos da restrição alimentar por um período de 28 dias no desempenho zootécnico e hematologia de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos (capítulo II);
- Avaliar a utilização de diferentes ciclos curtos de restrição e realimentação no desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos durante 77 dias (capítulo III);
- Observar se os agregados microbianos estimulam a ocorrência de crescimento compensatório nos peixes quando submetidos a restrição cíclica de alimento inerte em sistema BFT (capítulo III);
- Avaliar a influência restrição alimentar sobre a condição corporal dos peixes e sua composição química (capítulo II e III);
- Avaliar os efeitos dos manejos de alimentação sobre a composição nutricional dos flocos microbianos (capítulo II e III);
- Verificar os efeitos dos manejos de alimentação sobre a composição da comunidade microbiana dos bioflocos (capítulo II e III).

REFERÊNCIAS

- Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H., Shalaby, A.M.E., 2006. Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Journal of Applied Aquaculture 18, 17–36.
- https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1300/J028v18n03_02
- Adineh, H., Naderi, M., Khademi Hamidi, M., Harsij, M., 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. Fish and Shellfish Immunology 95, 440–448. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.057>
- Akbary, P., Jahanbakhshi, A., 2016. Effect of starvation on growth, biochemical, hematological and non-specific immune parameters in two different size groups of grey mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758). Acta Ecologica Sinica 36, 205–211.
- <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2016.04.008>
- Ali, M., Niecieza, A., Woottton, R., 2003. Compensatory growth in fishes. Fish and fishries 4, 147–190.
- An, B.N.T., Anh, N.T.N., 2020. Co-culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red seaweed (*Gracilaria tenuistipitata*) under different feeding rates: effects on water quality, fish growth and feed efficiency. Journal of Applied Phycology 32, 2031–2040. <https://doi.org/10.1007/S10811-020-02110-7/TABLES/5>
- Argüello-Guevara, W., Apolinario, W., Bohórquez-Cruz, M., Reinoso, S., Rodríguez, S., Sonnenholzner, S., 2018. Effects of intermittent feeding on water quality, skin parasites, feed consumption, and growth performance of juvenile longfin yellowtail

170 *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833). Aquaculture Research 49, 3586–3594.
171 <https://doi.org/10.1111/are.13825>

172 Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F., Pulina, P., 2019. The Introduction of Insect
173 Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming.
174 Sustainability 11, 1697. <https://doi.org/10.3390/su11061697>

175 Attia, J., Millot, S., Di-Poï, C., Bégout, M.-L., Noble, C., Sanchez-Vazquez, F.J.,
176 Terova, G., Saroglia, M., Damsgård, B., 2012. Demand feeding and welfare in
177 farmed fish. Fish Physiology and Biochemistry 38, 107–118.
178 <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9538-4>

179 Babaei, S., Abedian Kenari, A., Hedayati, M., Yazdani Sadati, M.A., Metón, I., 2016.
180 Effect of diet composition on growth performance, hepatic metabolism and
181 antioxidant activities in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869)
182 submitted to starvation and refeeding. Fish Physiology and Biochemistry 42,
183 1509–1520. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0236-0>

184 Barcellos, L.J.G., Marqueze, A., Trapp, M., Quevedo, R.M., Ferreira, D., 2010. The
185 effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult
186 jundiá *Rhamdia quelen*. Aquaculture 300, 231–236.
187 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.013>

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

192 Bavčević, L., Klanjšček, T., Karamarko, V., Aničić, I., Legović, T., 2010.

Compensatory growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) compensates weight, but not length. Aquaculture 301, 57–63.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.009>

Bertucci, J.I., Blanco, A.M., Sundarajan, L., Rajeswari, J.J., Velasco, C., Unniappan, S., 2019. Nutrient regulation of endocrine factors influencing feeding and growth in fish. Frontiers in Endocrinology 10, 1–17.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00083>

Busti, S., Bonaldo, A., Dondi, F., Cavallini, D., Yúfera, M., Gilannejad, N., Moyano, F.J., Gatta, P.P., Parma, L., 2020. Effects of different feeding frequencies on growth, feed utilisation, digestive enzyme activities and plasma biochemistry of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with different fishmeal and fish oil dietary levels. Aquaculture 529, 735616.

<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735616>

Cadorin, D.I., da Silva, M.F.O., Masagounder, K., Fracalossi, D.M., 2022. Interaction of feeding frequency and feeding rate on growth, nutrient utilization, and plasma metabolites of juvenile genetically improved farmed Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the World Aquaculture Society 53, 500–515.

<https://doi.org/10.1111/JWAS.12833>

Caruso, G., Maricchiolo, G., Micale, V., Genovese, L., Caruso, R., Denaro, M.G., 2010. Physiological responses to starvation in the European eel (*Anguilla anguilla*): Effects on haematological, biochemical, non-specific immune parameters and skin structures. Fish Physiology and Biochemistry 36, 71–83.

<https://doi.org/10.1007/s10695-008-9290-6>

216 Cavalcante, D.D.H., Lima, F.R.D.S., Rebouças, V.T., Sá, M.V.D.C., 2017. Cultivo de
 217 juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* em sistemas convencional,
 218 bioflocos e biofítton sob restrição alimentar. Acta Scientiarum - Animal Sciences
 219 39, 223–228. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.33574>

220 Cavalcanti Nery, R., Costa, C.B., Rodrigues, F., Soares, R., Bezerra, R.S., Peixoto, S.,
 221 2019. Effect of feeding frequency on growth and digestive enzyme activity in
 222 *Litopenaeus vannamei* during the grow-out phase in biofloc system. Aquaculture
 223 Nutrition 25, 577–584. <https://doi.org/10.1111/anu.12880>

224 Chantranupong, L., Wolfson, R.L., Sabatini, D.M., 2015. Nutrient-sensing mechanisms
 225 across evolution. Cell 161, 67–83. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.02.041>

226 Chatzifotis, S., Papadaki, M., Despoti, S., Roufidou, C., Antonopoulou, E., 2011. Effect
 227 of starvation and re-feeding on reproductive indices, body weight, plasma
 228 metabolites and oxidative enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*).
 229 Aquaculture 316, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.044>

230 Chen, X., Wang, G., Lu, X., Xu, P., Zeng, S., Chen, Z., Zhu, Q., Li, G., 2019.
 231 Molecular characterization and expression profiles of two insulin-like growth
 232 factor 1 receptors during fasting and re-feeding in *Siniperca chuatsi*. Fisheries
 233 Science 85, 349–360. <https://doi.org/10.1007/s12562-019-01290-7>

234 Cho, S.H., Heo, T.Y., 2011. Effect of dietary nutrient composition on compensatory
 235 growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* using different feeding
 236 regimes. Aquaculture Nutrition 17, 90–97. [https://doi.org/10.1111/J.1365-](https://doi.org/10.1111/J.1365-2095.2010.00788.X)
 237 [2095.2010.00788.X](https://doi.org/10.1111/J.1365-2095.2010.00788.X)

238 Correa, A. de S., Pinho, S.M., Molinari, D., Pereira, K. da R., Gutiérrez, S.M., Monroy-
 239 Dosta, M. del C., Emerenciano, M.G.C., 2020. Rearing of Nile tilapia

240 (*Oreochromis niloticus*) juveniles in a biofloc system employing periods of feed
 241 deprivation. Journal of Applied Aquaculture 32, 139–156.
 242 <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1679319>
 243 De Macêdo, É.S., de Almeida, O.C., Lucena, J.E.C., Torres, M.B.A. de M., Bicudo, Á.J.
 244 de A., 2021. Combined effects of dietary starch:Protein ratios and short cycles of
 245 fasting/refeeding on Nile tilapia growth and liver health. Aquaculture Research 52,
 246 1139–1149. <https://doi.org/10.1111/ARE.14971>
 247 Ekasari, J., Rivandi, D.R., Firdausi, A.P.A.P., Surawidjaja, E.H., Zairin, M., Bossier, P.,
 248 De Schryver, P., 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia
 249 (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture 441, 72–77.
 250 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>
 251 El-Sayed, A.F.M., 2006. Tilapia culture, Tilapia culture. CABI Publishing, UK, UK.
 252 <https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>
 253 Favero, G.C., Boaventura, T.P., Ferreira, A.L., Silva, A.C.F., Porto, L.A., Luz, R.K.,
 254 2019. Fasting/re-feeding and water temperature promote the mobilization of body
 255 reserves in juvenile freshwater carnivorous catfish *Lophiosilurus alexandri*.
 256 Aquaculture 511, 734223. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734223>
 257 Favero, G.C., Gimbo, R.Y., Montoya, L.N.F., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2020. A
 258 fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*)
 259 leaner but does not impair growth. Aquaculture 524.
 260 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735242>
 261 Foss, A., Imsland, A.K., Vikingstad, E., Stefansson, S.O., Norberg, B., Pedersen, S.,
 262 Sandvik, T., Roth, B., 2009. Compensatory growth in Atlantic halibut : Effect of

263 starvation and subsequent feeding on growth , maturation , feed utilization and fl
 264 esh quality. *Aquaculture* 290, 304–310.
 265 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.02.021>
 266 Gisbert, E., Fernández, I., Alvarez-González, C.A., 2011. Prolonged feed deprivation
 267 does not permanently compromise digestive function in migrating European glass
 268 eels *Anguilla anguilla*. *Journal of fish biology* 78, 580–592.
 269 <https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.2010.02879.X>
 270 Haridas, H., Verma, A.K., Rathore, G., Prakash, C., Sawant, P.B., Babitha Rani, A.M.,
 271 2017. Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically
 272 Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities.
 273 *Aquaculture Research* 48, 4346–4355. <https://doi.org/10.1111/are.13256>
 274 Heide, A., Foss, A., Stefansson, S.O., Mayer, I., Norberg, B., Roth, B., Jenssen, M.D.,
 275 Nortvedt, R., Imsland, A.K., 2006. Compensatory growth and fillet crude
 276 composition in juvenile Atlantic halibut : Effects of short term starvation periods
 277 and subsequent feeding 261, 109–117.
 278 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.050>
 279 Hevrøy, E.M., Azpeleta, C., Shimizu, M., Lanzén, A., Kaiya, H., Espe, M., Olsvik,
 280 P.A., 2011. Effects of short-term starvation on ghrelin, GH-IGF system, and IGF-
 281 binding proteins in Atlantic salmon. *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 217–
 282 232. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9434-3>
 283 Higgins, A.D., Silverstein, J.T., Engles, J., Wilson, M.E., Rexroad, C.E., Blemings,
 284 K.P., 2005. Starvation Induced Alterations in Hepatic Lysine Metabolism in
 285 Different Families of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and*

286 Biochemistry 31, 33–44. <https://doi.org/10.1007/s10695-005-4587-1>

287 Hisano, H., Pinheiro, V.R., Losekann, M.E., Moura e Silva, M.S.G., 2021. Effect of
 288 feeding frequency on water quality, growth, and hematological parameters of Nile
 289 tilapia *Oreochromis niloticus* reared using biofloc technology. Journal of Applied
 290 Aquaculture 33, 96–110. <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1715909>

291 Hornick, J.L., Van Eenaeme, C., Gérard, O., Dufrasne, I., Istasse, L., 2000. Mechanisms
 292 of reduced and compensatory growth, in: Domestic Animal Endocrinology.
 293 Elsevier, pp. 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(00\)00072-2](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(00)00072-2)

294 Hostins, B., Lara, G., Decamp, O., Cesar, D.E., Wasielesky, W., 2017. Efficacy and
 295 variations in bacterial density in the gut of *Litopenaeus vannamei* reared in a BFT
 296 system and in clear water supplemented with a commercial probiotic mixture.
 297 Aquaculture 480, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.036>

298 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2020. Pesquisa Pecuária Municipal.
 299 Brasília: IBGE.

300 Jafari, N., Falahatkar, B., 2018. Growth performance and plasma metabolites in juvenile
 301 Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) subjected to various feeding
 302 strategies at different sizes 1363–1374.

303 Jafari, N., Falahatkar, B., Sajjadi, M.M., 2019. The effect of feeding strategies and body
 304 weight on growth performance and hematological parameters of Siberian sturgeon
 305 (*Acipenser baerii*, Brandt 1869): Preliminary results. Journal of Applied
 306 Ichthyology 35, 289–295.

307 <https://doi.org/10.1111/jai.13824>

308 Jobling, M., Meløy, O.H., dos Santos, J., Christiansen, B., 1994. The compensatory

growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture International: Journal of the European Aquaculture Society* 2, 75–90.
<https://doi.org/10.1007/BF00128802>

Kaleem, O., Bio Singou Sabi, A.F., 2021. Overview of aquaculture systems in Egypt and Nigeria, prospects, potentials, and constraints. *Aquaculture and Fisheries* 6, 535–547. <https://doi.org/10.1016/J.AAF.2020.07.017>

Khanjani, M.H., Mozanzadeh, M.T., Sharifinia, M., Emerenciano, M.G.C., 2023. Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional properties. *Aquaculture* 562, 738757.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738757>

Khanjani, M.H., Sharifinia, M., Hajirezaee, S., 2022. Recent progress towards the application of biofloc technology for tilapia farming. *Aquaculture* 552, 738021.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738021>

Kim, J.H., Jeong, M.H., Jun, J.C., Kim, T.I., 2014. Changes in hematological, biochemical and non-specific immune parameters of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, following starvation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27, 1360–1367. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14110>

Lara, G., Honda, M., Poersch, L., Wasielesky, W., 2017. The use of biofilm and different feeding rates in biofloc culture system: the effects in shrimp growth parameters. *Aquaculture International* 25, 1959–1970.

<https://doi.org/10.1007/s10499-017-0151-0>

Lippe, G., Prandi, B., Bongiorno, T., Mancuso, F., Tibaldi, E., Faccini, A., Sforza, S., Stecchini, M.L., 2021. The effect of pre-slaughter starvation on muscle protein

degradation in sea bream (*Sparus aurata*): formation of ACE inhibitory peptides and increased digestibility of fillet. European Food Research and Technology 247, 259–271. <https://doi.org/10.1007/S00217-020-03623-8/FIGURES/6>

Liu, G., Zhu, S., Liu, D., Ye, Z., 2018. Effect of the C/N ratio on inorganic nitrogen control and the growth and physiological parameters of tilapia s fingerlings, *Oreochromis niloticus* reared in biofloc systems. Aquaculture Research 49, 2429–2439. <https://doi.org/10.1111/are.13702>

Liu, W., Lu, X., Jiang, M., Wu, F., Tian, J., Yang, C., Yu, L., Wen, H., 2019. Effects of dietary manipulation on compensatory growth of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish physiology and biochemistry 45, 21–32.

<https://doi.org/10.1007/S10695-018-0531-Z>

Mabroke, R.S., Zidan, A.E.-N.F., Tahoun, A.-A., Mola, H.R.A., Abo- State, H., Suloma, A., 2021. Feeding frequency affect feed utilization of tilapia under biofloc system condition during nursery phase. Aquaculture Reports 19, 100625. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100625>

MacKenzie, D.S., VanPutte, C.M., Leiner, K.A., 1998. Nutrient regulation of endocrine function in fish. Aquaculture 161, 3 –25.

[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00253-6)

McCue, M.D., 2010. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology 156, 1–18.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.002>

- Mehner, T., Wieser, W., 1994. Energetics and metabolic correlates of starvation in juvenile perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Fish Biology. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01311.x>
- Mihelakakis, A., Tsoikas, C., Yoshima-tsu, T., 2002. Optimization of Feeding Rate for Hatchery-Produced Juvenile Gilthead Sea Bream *Sparus aurata*. Journal of the World Aquaculture Society 33, 169–175. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00491.x>
- Moustafa, E.M.M., El-kader, M.F.A., 2017. Effects of different starvation intervals and Refeeding on growth and some hematological parameters in *Oreochromis niloticus* Monosex fries. Int. J. of Fisheries and Aquatic Studies 5, 171–175.
- Oliveira, L.K., Pilz, L., Furtado, P.S., Ballester, E.L.C., Bicudo, Á.J. de A., 2021. Growth, nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates. Aquaculture 541. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736830>
- Oliveira, L.K., Wasielesky, W., Tesser, M.B., 2022. Fish culture in biofloc technology (BFT): Insights on stocking density carbon sources, C/N ratio, fish nutrition and health. Aquaculture and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.08.010>
- Olsen, R.E., Sundell, K., Ringø, E., Myklebust, R., Hemre, G.-I., Hansen, T., Karlsen, Ø., 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. Aquaculture 280, 232–241. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2008.05.006>
- Pérez-Fuentes, J.A., Pérez-Rostro, C.I., Hernández-Vergara, M.P., Monroy-Dosta, C.M., 2018. Variation of the bacterial composition of biofloc and the intestine of

378 Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivated using biofloc technology, supplied
 379 different feed rations. *Aquaculture Research* 49, 3658–3668.
 380 <https://doi.org/10.1111/are.13834>

381 Pujante, I.M., Martos-Sitcha, J.A., Moyano, F.J., Ruiz-Jarabo, I., Martínez-Rodríguez,
 382 G., Mancera, J.M., 2015. Starving/re-feeding processes induce metabolic
 383 modifications in thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*, Risso 1827).
 384 *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular*
 385 *Biology* 180, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2014.10.005>

386 Py, C., Elizondo-González, R., Peña-Rodríguez, A., 2022. Compensatory growth:
 387 Fitness cost in farmed fish and crustaceans. *Reviews in Aquaculture* 14, 1389–
 388 1417. <https://doi.org/10.1111/raq.12656>

389 Py, Clara, Elizondo-González, R., Peña-Rodríguez, A., 2022. Compensatory growth:
 390 Fitness cost in farmed fish and crustaceans. *Reviews in Aquaculture* 14, 1389–
 391 1417. <https://doi.org/10.1111/RAQ.12656>

392 Rahman, M.H., Hasan, M.N., Sarkar, M., Nigar, S., Khan, M.A.S., Khan, M.Z.H., 2022.
 393 Effects of Formulated Fish Feed on Water Quality, Growth Performance, and
 394 Nutritional Properties of Catla Fish, *Catla catla*. *Thalassas* 38, 1155–1164.
 395 <https://doi.org/10.1007/S41208-022-00450-4>

396 Rios, F.S.A., Carvalho, C.S., Pinheiro, G.H.D., Donatti, L., Fernandes, M.N., Rantin,
 397 F.T., 2011. Utilization of endogenous reserves and effects of starvation on the
 398 health of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Environmental Biology of*
 399 *Fishes* 91, 87–94. <https://doi.org/10.1007/S10641-010-9762-2/FIGURES/5>

400 Rocha, J.V., Silva, J.F., Barros, C., Peixoto, S., Soares, R., 2019. Compensatory growth

401 and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding
 402 restriction in a biofloc system. Aquaculture Research 50, 3653–3662.
 403 <https://doi.org/10.1111/are.14323>

404 Sakyi, M.E., Cai, J., Tang, J., Xia, L., Li, P., Abarike, E.D., Kuebutornye, F.K.A., Jian,
 405 J., 2020. Short term starvation and re-feeding in Nile tilapia (*Oreochromis*
 406 *niloticus*, Linnaeus 1758): Growth measurements, and immune responses.
 407 Aquaculture Reports 16. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2019.100261>

408 Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Costa, F.F.B. da, Turra, E.M., Alves, G.F. de O.,
 409 Manduca, L.G., Sales, S.C.M., Leite, N.R., Bezerra, V.M., Moraes, S.G. da S.,
 410 Teixeira, E. de A., 2020. Feeding management strategies to optimize the use of
 411 suspended feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in bioflocs.
 412 Aquaculture Research 51, 605–615. <https://doi.org/10.1111/are.14408>

413 Suárez, M.D., Martínez, T.F., Sáez, M.I., Morales, A.E., García-Gallego, M., 2010.
 414 Effects of dietary restriction on post-mortem changes in white muscle of sea bream
 415 (*Sparus aurata*). Aquaculture 307, 49–55.
 416 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.006>

417 Urbinati, E.C., Sarmiento, S.J., Takahashi, L.S., 2014. Short-term cycles of feed
 418 deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish
 419 matrinxã (*Brycon amazonicus*). Aquaculture 433, 430–433.
 420 <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2014.06.030>

421 Wang, T., Hung, C.C.Y., Randall, D.J., 2006. The comparative physiology of food
 422 deprivation: From feast to famine. Annual Review of Physiology 68, 223–251.
 423 <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.105739>

- Wang, Y., Cui, Y., Yang, Y., Cai, F., 2000. Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*, reared in seawater. *Aquaculture* 189, 101–108. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00353-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00353-7)
- Wasielesky Jr., W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>
- Yarmohammadi, M., Pourkazemi, M., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Hassanzadeh Saber, M., Azizzadeh, L., 2015. Effects of starvation and re-feeding on some hematological and plasma biochemical parameters of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus* Borodin, 1897. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 13, 129–140.

CAPÍTULO I

Fish culture in biofloc technology (BFT): insights on stocking density, carbon sources, C/N ratio, fish nutrition and health

¹Luciana Kelly Oliveira, ²Wilson Wasielesky Jr & ^{1*}Marcelo Borges Tesser

¹ Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

² Laboratório de Carcinocultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

* Corresponding author: Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - LANOA, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

E-mail adress: mbtesser@gmail.com (Marcelo Borges Tesser)

Luciana Kelly Oliveira: <https://orcid.org/0000-0003-3381-3975>

Wilson Wasielesky Jr: <https://orcid.org/0000-0002-7267-4755>

Marcelo Borges Tesser: <https://orcid.org/0000-0003-4818-9829>

Artigo publicado no periódico *Aquaculture and Fisheries*.

<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.08.010>

Abstract

The growth of aquaculture demands intense consumption of formulated foods, scarce natural resources such as water and land. The increase in aquaculture production needs to be sustainable in several aspects of the activity, including the use of more sustainable farming systems that provide reduced water demand, less space dependence for increased production, and availability of complementary natural food. In this perspective, the biofloc system (BFT), presents itself as a more friendly cultivation technology as a way to mitigate some impacts of aquaculture production. Much research has been carried out, addressing different aspects important to the production of fish in BFT. In this review, we address how stocking density, carbon sources and carbon nitrogen ration (C/N) affect animal performance and the nutritional value of bioflocs; the use of microbial aggregates as “*in situ*” and “*ex situ*” food and the benefits in feed conversion, and their influence on the immune system and disease resistance.

Keywords: biofloc technology; aquaculture system; natural food; nutritional value; fish health

1. Introduction

In the last few decades, aquaculture has experienced accelerated growth, becoming an important agricultural activity around the world (FAO, 2020). Its expansion and development are based on the development of new technologies, breeding systems and advances in research in animal nutrition and health. The increase in demand for aquaculture products drives the intensification of production, while simultaneously raising concerns about possible impacts on the environment.

High stocking densities demand greater food supply, composed of ingredients considered of high nutritional value such as fishmeal and fish oil (Glencross, 2009). Over the years, the inclusion of these items in *aquafeeds* has declined, due to the fall in fishery production and the variation in supply and prices (FAO, 2020). In practice, the use of these ingredients in the formulation of feed causes dependence on these resources, which is not feasible for maintaining the sustainability of fish stocks, and aquaculture. In conventional cultures, maintaining water quality requires large volumes, competing with other agricultural activities, and with the other multiple uses of water, especially with human consumption. The effluents generated are rich in nutrients with a polluting potential, and a disease spreading in adjacent water bodies (Dauda et al., 2019). Fish escapes can represent an important biological impact, since the use of non-native species can cause the introduction of non-native parasites and the emergence of new diseases in endemic ichthyofauna (Nobile et al., 2019).

The use of more sustainable and more bio-safe farming systems has been gaining ground among researchers to mitigate these impacts. Highlight has been given to the biofloc technology (BFT) system, considered as an environmentally friendly production system for providing water reuse, control of nitrogen compounds, and for being a source of high-quality food (Avnimelech, 2007; Azim and Little, 2008). In this

system, the animal waste and excreta act as substrates that are decomposed by bacteria under a high C/N ratio, achieved by the addition of external sources of carbohydrates, associate constant aeration (Hargreaves, 2006). The organic nitrogen present in the water is incorporated as a microbial protein, to be made available as a potential food source (Ebellling et al., 2006; Avnimelech and Kochba, 2009). Microorganisms can provide important nutrients such as essential amino acids and fatty acids, which are necessary for the nutrition of aquatic organisms (Azim and Little, 2008; Wei et al., 2016).

The use of natural food is conditioned by the quantity, the capacity for regeneration and the quality of the food available, and the ability of the fish to reap, select, digest and assimilate this food (Azim and Little, 2006). As food, bioflocs meet these prerequisites, as they have a high rate of regeneration (Avnimelech and Kochba, 2009) and species that can take advantage of these can benefit from the application of this technology (Ekasari et al., 2014). The consumption of microbial biomass by fish can mitigate production costs by using foods with a lower protein content (Azim and Little, 2008; Hisano et al., 2019); and the use of food management strategies with a view to better efficiency in food use (Hisano et al., 2020; Pérez-Fuentes et al., 2018).

Considerable benefits are demonstrated in the cultivation of fish in bioflocs when compared to clear water. The reduction of feed conversion, improvement in performance (Azim and Little, 2008; Widanarni et al., 2012; Long et al., 2015; Menaga et al., 2019) and the immune response of fish are among them (Kim et al., 2018, 2020). The presence of cellular components, metabolites and other derivatives of microorganisms with immunostimulatory potential (Crab et al., 2012; Kamilya et al., 2017) has improved animal health (Kim et al., 2018; Yu et al., 2020a), digestive enzyme

activity (Ezhilarasi et al., 2019; Long et al., 2015) and reproductive performance (Ekasari et al., 2013, 2016).

During the initial stages, fish need foods with a high protein content to meet their nutritional requirements. In addition, young individuals are more susceptible to diseases, requiring greater biosafety during cultivation. With the reduction in water changes, and the presence of beneficial microorganisms, it is possible to exercise greater control of the presence of pathogens in the cultivation environment. These characteristics present BFT make it favorable for the construction of nurseries (García-Ríos et al., 2019). The objectives of this review are to describe:

- (a) Stocking density;
- (b) How different carbon sources and the C/N ratio affect fish performance;
- (c) Efficacy of bioflocs as a food source;
- (d) Use of alternative ingredients for fish in a biofloc system; and
- (e) Benefits of biofloc on fish health.

2. Stocking density

Stocking density is considered as one of the vital factors determining fish production and profitability in aquaculture practices (Refaey et al., 2018). However, high-density able to intensify aggression, competition for food, increases feed intake, increases nutrient concentration causing rapid water quality degradation (MacIntyre et al., 2008). The chronic stress provide by high-density can compromised fish health. Considering the deleterious effects caused by inadequate storage, it is necessary to determine the stocking density for each species and life stage in different production systems.

Studies have investigated the stocking density at different stages of cultivation in biofloc (Table 1). In this system, Green (2010) started research on stocking density with the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). However, tilapia (*Oreochromis niloticus*) is used as the biological model in 50% of the research until the moment. The practice of farming at higher densities (300 and 800 fish.m⁻³) in the early stages of tilapia was favored by the BFT system (Haridas et al., 2017; Liu et al., 2018; Vieira et al., 2019). The same was observed with fingerlings *Anabas testudineus* presenting better performance when cultivated in 300 to 450 fish.m⁻³ (Debnath et al., 2021).

After 134 g, the increase in stocking density results in a decline in the tilapia body weight (Manduca et al., 2021). With the same species during the grow-out phase, it is possible to achieve a productivity of around 13 to 16 kg.m⁻³ (Lima et al., 2015; Manduca et al., 2020). This production represents approximately 50% of the productivity achieved in net-cages with a stocking density between 250 and 450 fish.m⁻³ (Costa et al., 2017). In BFT, the silver catfish (*Rhamdia quelen*) showed high productivity with increasing stocking density, without affecting survival (Battisti et al., 2020). This trend was observed in channel catfish (*I. punctatus*) showed higher productivity with a storage rate of up to 10.7 fish.m⁻³ during single-phase cultivation (Green, 2010). However, with the pilot scale cultivation in recirculation it obtained better performance using 50 fish.m⁻³ (Refaey et al., 2018). This demonstrates the need to conduct tests in BFT on a pilot scale to confirm the results obtained under controlled conditions. In farming *Labeo rohita*, Mahanand et al. (2013) demonstrated that in BFT it is possible to obtain higher productivity than that achieved in clear waters with similar densities.

The positive effects of BFT about survival rate have been reported at different stocking densities (Widanarni et al., 2012; Yoo & Lee, 2016; Haridas et al., 2017; Park

et al., 2017; Battisti et al., 2020; Poli et al., 2021; Silva et al., 2022). The survival rate for Red tilapia (*Oreochromis sp.*) have been at higher densities (50 and 100 fish.m⁻³) have been above 93% compared to the respective controls in clear water (Widanarni et al., 2012). The survival rate of *Takifugus obscurus* in two weight classes remained above 98% (Yoo & Lee, 2016). Survival above 92% was achieved by increasing the density to 400 fish.m⁻³ in the cultivation of *Pimephales promelas* in BFT, with no difference with the control in green water (100 fish.m⁻³) (Park et al., 2017).

Good responses about survival may be related to reduce competition for food, water quality upkeep and the presence of immunostimulant compounds that can increase resistance to stressors (Crab et al., 2012). At high density, the growth of juvenile African catfish (*C. gariepinus*) was reduced above 2000 fish.m⁻³ (Soedibya et al., 2017). Juveniles of *P. promelas* at a density above 800 fish.m⁻³ show a decline in individual weight (Park et al., 2017). This behavior demonstrates that each species has an optimal density, which, when exceeded, leads to a decline in fish performance (Widanarni et al., 2012; Yoo & Lee, 2016; Park et al., 2017; Soedibya et al., 2017).

In BFT, densities between 89 fish.m⁻³ and 267 fish.m⁻³, the immunological parameters of tilapia (*O. niloticus*) did not change, but the percentage of hematocrit can be altered in this condition (Poli et al., 2021). In some cases, the primary stress response to BFT stocking density appears to be reduced. In *Cyprinus carpio* and *O. niloticus* plasma cortisol levels were reduced (Haridas et al., 2017; Adineh et al., 2019), in addition BFT appears to play a role in serum lysozyme, hemolytic and alkaline phosphatase activities preventing immunosuppression due to high density stress (Adineh et al., 2019). With the use of adequate stocking densities, oxidative responses demonstrate that bioflocs have bioactive compounds that reduce oxidative stress (Haridas et al., 2017; Battisti et al., 2020).

In general, even with the benefits of maintaining water quality and supplementary feeding provided by bioflocs, performance is negatively affected to the detriment of density (Magondou et al., 2013; Lima et al., 2018). Furthermore, in BFT, high stocking densities increase solids levels (Manduca et al., 2020; Debnath et al., 2021). Greater availability of nutrients from animal feed and excreta stimulates an increase in solids production. The presence of organic matter requires a greater demand for oxygen (Silva et al., 2022), which can reduce the levels suitable for the species. In this condition, the operation of the system becomes dependent on mechanisms (decanters/clarifiers) that manage the particulate material efficiently. In research on BFT density, there are gaps between density and other parameters such as carbon-nitrogen ratio, solids concentration, food management and microbial community that are important for the functioning of the BFT system. Furthermore, 66% of the research so far focuses primarily on the early stages of life. Therefore, investigating the grow-out phase for each species is important for the viability of cultivation in BFT.

3. C/N ratio and organic carbon sources

Fish excreta associated with the remains of feed, dead microorganisms (phytoplankton, zooplankton, bacteria, etc.) and organic matter are the main sources of ammonia in the crops. Ammonia has a toxic potential to aquatic organisms causing damage to the branchial epithelium, inhibition of excretion in the gills, loss of ions, elevation of blood pH, decreased hemoglobin affinity to oxygen, among other effects (Boyd, 2020). BFT was initially proposed to solve the problems with ammonia in intensive cultures (Avnimelech et al., 1994). The addition of external sources of organic carbon to adjust the C/N ratio favors the rapid development of heterotrophic bacteria that immobilize dissolved inorganic nitrogen and perform microbial biosynthesis (Avnimelech, 2007; Ebeling et al., 2006).

The carbon sources used to manipulate the C/N ratio, due to the speed with which dissolved organic carbon is available for nitrogen immobilization (Serra et al., 2015), influences the control of ammonia levels. Among the main carbohydrates researched are molasses, sugar and glucose. These carbon sources are widely used because they make carbon available more quickly. The use of carbohydrates can represent an additional cost in the production process, and for this reason, several regional ingredients have been tested in recent years (Table 2). However, some carbohydrates such as vegetable meal can compete with other activities, such as animal feeding and human consumption. In this sense, carbon sources that do not compete with these uses are more suitable for fertilization in the BFT.

In general, the sources of complex carbohydrates are less soluble, leading to slower carbon release (Wei et al., 2016). However, its bioavailability is a relevant aspect in the choice of the source, when maintaining the ammonia concentrations at the appropriate levels for the different species is intended. The speed at which carbon is available allows us to design fertilization strategies using simple or complex carbohydrates, or a mixture of both (Romano et al., 2018; Serra et al., 2015; Rocha et al., 2021). The effectiveness in reducing ammonia levels has been observed in different studies; however, this condition has not always implied improved growth performance (Caipang et al., 2015; Ezhilarasi et al., 2019). This effect is related to the predominance of one microorganism over another (Silva et al., 2017), modifying the composition of the microbial community present in the culture medium and in the digestive tract of fish (Wei et al., 2016; Li et al., 2018). However, this change in the biofloc microbiota is not observed in all studies (Luo et al., 2017); these differences affect its nutritional composition, which justifies the variability in its protein and lipid content for example.

Using sugar, molasses and corn starch as a carbon source, Bakhshi et al. (2018) showed differences in lipid composition and in the content of linoleic (C18:2n6), alpha-linolenic (C18:3n3) fatty acids and in the n3/n6 ratio. Ekasari et al. (2010) showed that the use of glycerol produced bioflocs rich in omega 6 polyunsaturated fatty acids (n-6 PUFA), with a concentration between 19 and 22 mg/g dry weight of floc. This increase may be due to the biosynthesis of microbial fatty acids from the fatty acids made available by glycerol. Other complex carbohydrates such as rice and its by-products, easily found around the globe, can be considered as a cheap carbon source, making it an important candidate for use in the BFT system. In the form of flour and bran, rice improves water quality and results in fish with greater growth, and less feed conversion (Ebrahimi et al., 2020; Romano et al., 2018; Zaki et al., 2020). The use of rice bran resulted in a higher volume of solids, and the authors attributed the occurrence of filamentous bulking (Rocha et al., 2021). This can be a problem, as removal management is time-consuming, costly, and may not be fully efficient. However, it is more efficient in immobilizing nitrogen when combined with simple carbohydrates such as molasses (Ebrahimi et al., 2020).

Many benefits were observed with the use of alternative carbon sources such as tapioca, which promoted an improvement in the non-specific immune response and an increase in the relative percentage of survival in juveniles of rohu carp (*Labeo rohita*) after exposure to *Aeromonas hydrophila* (Ahmad.H et al., 2016). Although benefits are seen in fertilization with complex carbohydrates such as rice, tapioca and cassava flour, these are human food ingredients in many cultures, which makes their use in aquaculture unfeasible. Natural and synthetic biodegradable polymers such as poly- β -hydroxybutyrate (PHB), polycaprolactone (PCL) and others, known as green plastic, have been shown to be efficient in the process of inorganic nitrogen immobilization and

bacterial biosynthesis in the BFT system (Liu et al., 2019, Chen et al., 2020). As a viable carbon source for maintaining water quality, polymers assist in the better development of the fish oxidizing system (Zhang et al., 2016), and with the advantage of being consumed in smaller quantities during this process (Luo et al., 2017).

Initial studies have suggested a C/N ratio between 10-20:1 for good biofloc production (Avnimelech, 1999; De Schryver and Verstraete, 2009). However, different C/N ratios influence the number of bacteria present in the water and the volume of solids produced. These results are corroborated by the most recent studies which demonstrate that the C/N ratio between 10:1 and 15:1 gives better conversion of inorganic nitrogen and animal performance (Aalimahmoudi and Mohammadiazarm, 2019; Liu et al., 2018). However, Amur goldfish (*Opsariichthys kaopingensis*) and goldfish (*Carassius auratus*) obtained the best performance of the with a C/N ratio between 15-25:1 and 20-25:1, resulted in a 13% growth over 10:1 ratios (Wang et al., 2015; Yu et al. 2020d).

The nutritional composition of the bioflocs is influenced by these ratios, as demonstrated in the cultivation of *Opsariichthys kaopingensis*, where ratios of 15-25:1 resulted in an increase of 22% in the protein content of the bioflocs compared to 10.8: 1 (Yu et al., 2020d). However, a higher protein content (47.3% CP) was achieved with a 10:1 C/N ratio in the cultivation of African catfish (*Clarias gariepinus*) (Dauda et al., 2018). These differences are interesting because they reveal the interference of countless factors from the species, the established C/N ratio and the carbon source used in the nutritional composition of bioflocs. Little is known about how the C/N ratio and carbon sources influence the nutritional composition of aggregates, especially the amino acid profile.

Differences in the proximal composition of bioflocs can occur by C/N ratio and for carbohydrate source (Table 3). Carbohydrates that are more complex produce flocs with lower protein content (Dauda et al., 2017; Ekasari et al., 2019). A C/N ratio of 10:1 produced flocs with 13.5 and 27% more protein compared to 15:1 and 20:1 using glycerol as a carbon source (Dauda et al., 2017). However, the 10.8:1 C/N ratio associated with glucose resulted in flocs with lower protein content (Yu et al., 2020c). Factors intrinsic to the crop such as species, density, salinity, consider diet is necessary, and their interactions deserve to be investigate attempt to obtain a pattern in the nutritional profile of the flocs. Furthermore, it is necessary to understand, for example, whether the type of bioflocs (autotrophic or heterotrophic), the use or not of inoculum, the origin of the inoculum, the percentage of carbon present in the carbohydrate and protein content of the feed can impose a gradient in the composition of the flocs.

There is a gradient in the composition of essential amino acids among the carbon sources used in bioflocs (Ekasari et al., 2019; Oliveira et al., 2021; Zhang et al., 2018). Essential amino acids are directly linked to protein quality. Obtaining flocs with an amino acid profile that can meet and/or approach the requirements of farmed animals is interesting to explore its potential as food. The application of different carbohydrates has shown beneficial effects on water quality, productive aspects and fish health in the BFT system. However, the acquisition of these inputs represents a cost to the production process and depends on the availability and variation of prices in each region.

4. Efficacy of bioflocs as a food source

In aquaculture, food normally represents approximately 50% of the operational cost of production (Rego et al., 2017), and therefore, food management can be a critical point of expenditure. In traditional intensive systems, food management is directed towards the exclusive use of exogenous foods. Although the BFT system is recognized

for providing improvements in water quality, it offers other direct or indirect benefits to the target species of cultivation, in addition to playing an important role as a complementary food (Avnimelech, 2007; Robles-Porchas et al., 2020; Xu and Pan, 2012). Not all species are candidates for cultivation in the BFT system (Minaz & Kubilay, 2021). When one intends to take of the nutritional advantage offered by the system, a species is apt to grow in a BFT system, based on its ability to ingest suspended particles. Emerenciano et al. (2013) report that species with filtering capacity (present morphological apparatus and adaptations like gills rakers) and omnivorous feeding habits make the most use of microbial aggregates for food.

The ability of some fish species to take advantage of bioflocs as food has aroused the interest of researchers, aiming to use them in integrated cultivation with shrimp to control solids. The good performance of mullet (*Mugil curema*) grown with white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) when fed with 1% of biomass stored per day, demonstrated that it is possible to keep these fish under food restriction, which suggests the consumption of bioflocs (Legarda et al., 2019). Greater volume of solids favored the obtaining of animals with greater final weight (Martins et al., 2020; Poli et al., 2015), corroborating the result of in the monoculture of Tilapia (Avnimelech, 2007). A greater number of solids, associated with the dietary restriction regime seems to force the consumption of bioflocs by fish, thus justifying their growth.

However, indirect measures of biomass consumption, such as decreased concentration and/or volume of solids, are inaccurate. For this reason, researches using enriched nitrogen (^{15}N) were carried out (Avnimelech, 2007; Avnimelech and Kochba, 2009) in order to determine the contribution of the protein fraction of bioflocs in fish feeding more precisely. The net daily nitrogen absorption of fish kept in a BFT system without the addition of exogenous food is $240 \text{ mg N. kg}^{-1}$ ($1.6 \text{ g protein.kg}^{-1}$),

equivalent to 25% of the protein added to the commercial diet (Avnimelech and Kochba, 2009). Studies that directly investigate the use of bioflocs are important, but the use of techniques such as stable isotopes has a cost limitation despite presenting results that are more reliable. Although direct and indirect methods of biofloc quantification are available (Avnimelech et al., 2007), its use as a tool to assess consumption needs to be better explored, since its consumption depends on species, animal size and floc characteristics (Crab et al., 2012).

Initially, studies evaluating the culture of tilapia (*Oreochromis sp.*) under the BFT system showed a feed conversion ratio above 2:1 (Avnimelech et al., 1994; Azim and Little, 2008). Some studies showed a reduction in feed conversion between 14.4 and 18.7 percentage points compared to controls, these results point to the participation of bioflocs in the diet of different fish species (Mahanand et al., 2013; Luo et al., 2014; Long et al., 2015; Bakhshi et al., 2018). On the other hand, some studies do not corroborate this trend, as observed in the cultivation of pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) under the BFT and RAS. Not showing differences in feed conversion between animals raised in both systems (Poleo et al., 2011). In ponds, the channel catfish (*I. punctatus*) converted the food better (1.6:1), in contrast to 2:1 under the BFT (Green and McEntire, 2017). These differences in results may be associated with species and/or strain, in addition the food management used. The evolution of aquaculture production systems brings with it the need to re-evaluate aquaculture feeding protocols such as feeding rate, feeding frequency and nutritional requirements, especially in the BFT system where is necessary to develop management strategies appropriate to the biofloc system. These strategies can contribute to maximize the consumption of floc, and help to reduce the supply of feed.

In BFT, juvenile's tilapias fed four times per day showed the better weight gain, improvement in efficiency in feed utilization, with a conversion close to 1:1 (Hisano et al., 2020). However, the findings of Mabroke et al. (2021) demonstrate that tilapia juveniles in BFT can be fed once a day without prejudice to weight gain. However, feeding two and four times a day resulted better feed conversion (1:35). In the nursery stage studies (Hisano et al., 2020; Mabroke et al., 2021), the animals were fed rations containing 32% crude protein, provided between 3 and 5% of the biomass. These studies were conducted with differences tank volume ($9000 - 0.055\text{m}^3$), stocking density (80 to 364 fish.m^{-3}) and environmental (*outdoor* and *indoor*). These conditions may have contributed to the discrepancies in the results. In grow-out stage, tilapias can be fed once a day though protein retention was more efficient from two feeding frequencies (Silva et al., 2020). Feeding frequency results can be influenced by the amount of feed, as observed for tilapia in a conventional system, resulting in FCR around 1:1 (Huang et al., 2015). A similar trend was observed during the *L. vannamei* nursery in BFT, although the use of longer feeding intervals favors good performance, more frequent feedings resulted in FCR, close to ideal (Peixoto et al., 2017; Xu et al., 2020). Frequency is not an isolated aspect of food management, and is influenced by the feeding rate and nutritional value of the food (Huang et al., 2015; De Macedo et al., 2021). The divergent results reported above might be due to the experiment scale and the associated feeding conditions such as feed quantity and quality, and biofloc composition.

These results do not differ from the frequencies found in the literature, where smaller animals need food in a shorter period (Ng and Romano, 2013) due to continuous feeding behavior associated with stomach capacity. So far, food frequency studies for fish in BFT are limited to performance responses and protein retention, to the detriment

of physiological responses such as the enzymatic activity. In addition, digestive enzymatic activity can be affected by enzymes present in bioflocs that help break down organic compounds, facilitating the digestion process as demonstrated in food frequency studies in marine shrimp reared in bioflocs (Peixoto et al., 2018; Cavalcanti Nery et al., 2019; Xu et al., 2020).

Although, it is known that the contribution of bioflocs in tilapia feeding is equivalent to 25% of the protein provided by the feed (Avnimelech and Kochba, 2009). That some studies demonstrate the apparent consumption of the aggregates (Legarda et al., 2019), we do not know the interval between meals that could stimulate the animals to actively seek out suspended particles. This aspect remains unexplored, as well as the impact mechanism of biofloc consumption, since the feed conversion calculation is based on the amount of food offered.

Assays with feeding rates showed that it is possible to reduce the daily feed supply for juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.) by 25% and between 15 and 30% for juvenile Nile tilapia in the biofloc system without compromising the growth indexes (Cavalcante et al., 2017; Najdegerami et al., 2016; Pérez-Fuentes et al., 2018). However, this pattern was not maintained for juvenile Nile tilapia weighing 32g, reporting a drop in performance in proportion to the reduction in the feed supply (Silva et al., 2020). Reducing the feed rate by up to 50% resulted in feed conversions close to 1:1 (Perez-Fuentes et al., 2018; Silva et al., 2020; Oliveira et al., 2021). Apparently, protein efficiency is improved by optimizing feed management, but this type of inference is based on the amount of protein offered during the cultivation, which makes it difficult to determine how much microbial biomass contributes to this index.

In production systems exclusively dependent on exogenous food, the use of low rates and feeding frequencies reduces growth, favoring hierarchical processes,

agonistic interactions and mortality (Huang et al., 2015; Fattah et al., 2021). In BFT, lower availability of artificial food does not seem to affect survival (Correa et al., 2019; Mabroke et al., 2011; Oliveira et al., 2021; Perez-Fuentes et al., 2018) possibly natural food available *in situ*. This opens up an opportunity to explore food management from the perspective to apply periods of food deprivation for compensatory growth in different designs. Some authors have demonstrated that it is possible to use cycles of 3 to 12 days without feeding and obtain compensatory gain in Nile tilapia at the end of the cultivation (Correa et al., 2020; Gallardo-Collí et al., 2020). In the composition of nutritionally complete foods, protein is a macronutrient that is present in greater quantity, being the most expensive. In conventional intensive systems, animals depend exclusively on feed as a source of macro and micronutrients. However, the BFT system can represent an important nutritional contribution that makes it possible to reduce the protein levels of the diets.

Different studies showed that bioflocs, as *in situ* food, favor the use of diets with lower protein content. Avnimelech et al (1994, 1999) demonstrated that it is possible to reduce the protein content of the diet for hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*) by 10 percentage points in BFT systems, which represented a 46% decrease in food expenses. A decade later, Azim and Little (2008) confirmed a trend by demonstrating that a reduction of 11 percentage points of protein on attaining similar performance in the cultivation of *Oreochromis niloticus* (80 - 120 g). In addition, the same study demonstrated that a food supply of 24% crude protein in the BFT system resulted in better performance compared to animals fed with 35% CP in clear water. In BFT, the amur goldfish (*Rhynchocypris lagowski*) fed with 29% CP obtained the same growth performance when fed with 37% CP in recirculating system (RAS) (Yu et al. 2020b). In the same assay, fish in BFT showed superior performance than in the control

group, when they were also fed diets containing 37% crude protein. In tests with dietary protein, there is a great variation in the results, which demonstrates the importance of using appropriate diets for the biofloc system. These facts reinforce the need for further studies on determining the nutritional requirements of fish in BFT.

Considering the findings of Furuya et al. (1996) and Botaro et al. (2007), in a conventional system with a post reversal of up to 100g, tilapia has a requirement of 29.7% CP, and a weight $\geq 100\text{g}$ would require 26.8% CP. In the range of 10 to 60g, the protein requirement for tilapia was determined in 28% of CP (Silva et al., 2018; Hisano et al., 2019). The same species with a weight range of 50 - 230g requires 22% CP in BFT. These levels are below the recommended in conditions with no natural food, especially for fish over 100g. It is important to note that, the biofloc system is dynamic, and as previously mentioned, many aspects can influence the nutritional composition of bioflocs.

According to (NRC, 2011), tilapia requires 29% digestible protein (DP) without considering the presence of supplementary food. However, the consumption of bioflocs during the nursery phase seems to favor the use of diets with a lower percentage (26%) of digestible protein (Durigon et al., 2019; Sgnaulin et al., 2020). In environments with brackish water, the requirement for digestible energy ($3150 \text{ kcal.kg}^{-1}$) for the species is slightly higher than that required ($3000 \text{ kcal.kg}^{-1}$) in fresh water (Sgnaulin et al., 2020), nevertheless, below the $3400 \text{ kcal.kg}^{-1}$ recommended in the National Research Council (2011).

In a BFT system, the supply of exogenous food with 30% CP, associated with a combination of carbon sources (rice bran and molasses) significantly increased the performance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*), demonstrating that it is possible to reduce protein concentration by 5 points percentage (Ebrahimi et al., 2020).

Thus far, the different assays have shown that protein reduction is a possible food management for the BFT. In nutritional terms, the amino acids define the quality of the protein, it is essential to maintain adequate levels for each cultivated species (NRC, 2011; Ekasari et al., 2014). However, the influence of many factors can interfere with the quality of the endogenous food produced, making it necessary to seek solutions to correct possible nutritional deficiencies.

5. Use of alternative ingredients for fish in BFT

Nutrition experiments comprising the inclusion and substitution of ingredients are the latest step in research on fish nutrition in the biofloc system. The mechanical removal of suspended solids, producing a residue rich in proteins, minerals and bioactive compounds is part of the management of the BFT system. Its nutritional profile has attracted researchers seeking to evaluate its application as food or ingredient in diets for aquatic organisms.

The supply of artificial food and wet biofloc biomass in the 1:1 ratio promoted maximum growth in juveniles of rohu (*Labeo rohita*) (Mahanand et al. 2013). In Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), the best performance was expressed by the replacement of 25% of artificial food with wet bioflocs biomass at the expense of dry biofloc biomass (Caldini et al., 2015). This pattern was maintained for the same species to the detriment of partial restriction on artificial food (Caldini et al., 2018).

As the only source of food, bioflocs are not able to sustain the regular growth of animals, and dehydrated, they are conducive to chemical changes resulting from the drying process such as lipid and vitamin oxidation, pigment degradation and protein denaturation. To some extent, these reactions may compromise the nutritional quality of the dehydrated bioflocs to the detriment of maintaining the nutritional properties of the

bioflocs *in natura*. The performance of the African catfish (*Clarias gariepinus*) was improved with the inclusion of up to 20% of biofloc flour in the formulation of its diet (Ekasari et al., 2019). The inclusion of dry microbial biomass marketed as NovacqTM improved the growth of fish fed with little or no fishmeal in the feed, in addition to improving their palatability (Simon et al., 2019). However, a better growth response is achieved with *in-situ* bioflocs, when the source is the system itself (Menaga et al., 2019).

In a BFT, the performance of the animals was sustained at all levels of fishmeal substitution by beer yeast. On the other hand, in clear water, the animals showed a performance decrease with 100% substitution (Nhi et al., 2018). Conversely, the inclusion of pizzeria residue above 20% and larva meal of *Tenebrio molitor* above 10% in diets for juvenile Nile tilapia led to a decline in performance in BFT (Sousa et al., 2019; Tubin et al., 2020). In the assay of substitution of fish oil for cameline oil (*Camelina sativa*) in diets for Nile tilapia (*O. niloticus*) in the BFT system, it was observed that the alpha-linolenic acid (ALA) contained in the bioflocs was involved in the synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA n-3) in fish muscle (Toyes-Vargas et al., 2020). These results demonstrate that to some extent bioflocs can nutritionally complement or supplement the effects of the tested ingredients. However, changes in the composition of diets can interfere with the carbon-nitrogen ratio, which would alter the composition of the microbial community and the biofloc nutritional content.

Precision nutrition is a trend in animal feed research. Thus, the inclusion of additives and functional foods in the formulations is researched to enhance the use of nutrients, and to strengthen animal immunity. Bioactive compounds such as pectin can be extracted from residues from agro-industrial processes, and their use was researched

in a biofloc system. Pectin is also contained in the powder of the watermelon peel, and the inclusion (40g.Kg⁻¹) of this residue in the feed increased the immunity of Nile tilapia serum and mucus from the fourth week of feeding, and resulted in 83.3% survival after challenge with *Streptococcus agalactiae* (Doan et al., 2020).

The inclusion of 10g.kg⁻¹ of pectin extracted from the orange peel alone or combined with 10⁸ CFU.L⁻¹ of *Lactobacillus plantarum* (CR1T5) promoted better performance of Nile tilapia juveniles (Doan et al., 2018; Doan et al., 2019). In both studies, there was a strengthening of the physiological state and an increase in survival (77.5 to 81.82%) of the fish after infection by *S. agalactiae*. Being a soluble fiber, pectin has a prebiotic potential, and its ability to resist well in the gastric environment makes it efficient in the delivery of probiotics such as *L. plantarum* (Naqash, 2017). Nile tilapia juveniles fed with diets supplemented with *L. plantarum* (KC426951) obtained a 20% higher final weight in the BFT system compared to the control, furthermore, the BFT with probiotic interaction increased the innate immune response of the fish (Mohammadi et al., 2020).

The inclusion of 2g.kg⁻¹ of polyphenols extracted from the Portuguese chestnut (*Castanea sativa*) increased the growth and immune response of *O. niloticus* in BFT (Van Doan et al., 2020). In the same study, the use of polyphenols resulted in 58.3% of average survival after health challenge with *S. agalactiae*, being higher (75%) with the supplementation of 2g.kg⁻¹. These results demonstrate that the inclusion of food additives in diets can improve fish performance and immunity, especially in the BFT system. However, the interaction between "*in-situ*" bioflocs and bioactive compounds needs to be further studied. Bioactive compounds such as poly-β-hydroxybutyrate (PHB) are present in the composition of bioflocs (De Schryver and Verstraete, 2009). The inclusion of PHB extracted from bioflocs in the diet produced positive effects on

immunity and resistance to cyprinid Herpesvirus 2 (CyHV-2) in carp (*C. auratus gibelio*) (Qiao et al., 2020).

The findings so far indicate that better nutritional responses are achieved when bioflocs are made available by the system itself (*in situ*). Certainly, the process of transforming wet material into dry causes important nutritional losses. The nutritional quality of microbial biomass contributes to enhance the results with alternative ingredients. However, future trials should consider the inclusion of treatments in clear water in the experimental design so that the interaction between bioflocs and the test ingredient is demonstrated.

6. Influence of bioflocs on fish health

In the intensive fish farming routine, management problems and the densification of animals are the main path for the presence of important pathogens that can compromise the well-being of fish. In addition, emerging diseases are increasingly present in the reality of fish farming, generating economic losses that significantly affect the sustainability of the activity.

Studies show that the immune system, antioxidant capacity, resistance to disease and stress conditions are enhanced in fish grown in BFT systems (Ahmad et al., 2016; Ebrahimi et al., 2020). Bioflocs contain bioactive compounds such as vitamins, phytosterols, carotenoids (Xu and Pan, 2013) that may contribute to improve the immune function of fish and resistance to diseases. The increase in the activity of the antioxidant system enzymes seems to be a pattern in fish grown in a BFT. Greater activity of the enzymes glutathione peroxidase (GSH), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) were observed in fish grown in BFT (Adineh et al., 2019; Long et al., 2015; Luo et al., 2014; Mansour and Esteban, 2017; Menaga et al., 2019). Common

carp (*Cyprinus carpio*) showed greater antioxidant capacity in the BFT system, especially with the use of cornstarch as a carbon source (Bakhshi et al., 2017).

An important protective mechanism against diseases is the leukocyte burst, an oxidative burst, which comprises the production of oxygen radicals by phagocytes. In fish, the increased phagocytosis activity of neutrophils indicates the immunostimulatory potential of “*in situ*” and “*ex-situ*” bioflocs (Ahmad.H et al., 2016; Kamilya et al., 2017; Kheti et al., 2017; Menaga et al., 2019). In fact, this increase is related to the abundance of microorganisms, exogenous enzymes and bioactive compounds present in bioflocs. This gain can be intensified by the influence of the origin of organic carbon, and the C/N ratio, among other variables that imply differences in the composition of the microbial community and in the other compounds present in the culture medium (Liu et al., 2018).

Assays with the BFT system based on different sources carbon have demonstrated important results in improving the immune status of fish (Bakhshi et al., 2017; Mansour and Esteban, 2017). Greater resistance against infections was observed when fish grown in bioflocs were submitted to a health challenge (Ahmad et al., 2016; Bakhshi et al., 2017; Haridas et al., 2017; Fauji et al., 2018; Liu et al., 2018). The use of starches from corn and tapioca resulted in greater resistance to infection by *Aeromonas hydrophila* (ASRT897) in juveniles of *Labeo rohita* and *Cyprinus carpio* (Ahmad et al., 2016; Bakhshi et al., 2017). This pattern was maintained for Nile tilapia juveniles challenged with *Vibrio harveyi* and *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966), which in both situations showed survival above 60% compared to the control in clear water (Liu et al., 2018; Haridas et al., 2017).

These benefits follow a similar pattern with the application of “*ex-situ*” bioflocs, as observed when *Labeo rohita* juveniles fed on diets containing 4% biofloc

flour. After 21 days of challenge with *Edwardsiella tarda* (ET-PG-29), a survival rate of around 63% was observed, against 55% of the group without the inclusion of the test ingredient (Kheti et al., 2017). The high survival rate after challenge may be related to the regulation of virulence provided by the quorum sensing mechanism, bacterial cell-to-cell communication (Fatimah et al., 2019).

The protective and attenuating effect of bioflocs after a copper (Cu) stress challenge was demonstrated in the “*in situ*” and “*ex-situ*” conditions. After 96 hours of acute exposure, juveniles of the amur goldfish (*Rhynchocypris lagowski*) showed a reduction in copper accumulation in C/N ratios between 20-25:1 (Yu et al., 2020e). In addition, a decline in the accumulation of copper in the gills, brain, kidney, spleen, liver, intestine and muscle of juveniles of the same species was observed after 64 days of diet with a 12% inclusion of bioflocs (Yu et al. 2020a).

In numerous assays, fish have shown declines in levels of stress indicators such as glucose and cortisol compared to animals grown in clear water (Azim and Little, 2008; Liu et al., 2018; Menaga et al., 2019; Zhang et al., 2018). These results confirm the positive effect of bioflocs on the immunity and survival of fish, considering the presence of immunostimulatory compounds from bacteria and their products (Crab et al., 2010). It is necessary to elucidate the mechanisms that occur in the biofloc system that directly or indirectly contribute to increase the immune response of fish. As well as the interaction and/or existence of a synergistic effect between microbial flocs and compounds, that are recognized for acting within the animal immune system.

7. Conclusion

As a research line, the BFT has been highlighted mainly in research with crustaceans. For fish species, major studies evaluated some factors that affect fish

production in a biofloc system as stocking density, carbon-nitrogen ratio (C/N), organic carbon source, and diet protein content. But studies on fish farming in this system have gaps mainly related to water quality management, use of artificial substrates, reuse of water, photoperiod and light intensity, microbial community dynamics and solids levels. The effects of different types of bioflocs (autotrophic, chemoautotrophic and heterotrophic) on fish growth and feed conversion still need to be explored considering possible differences in the nutritional quality of the produced flocs. At different stages of rearing, solid levels could be explored, especially for filter species that make better use of natural food. Studies on the cultivation of fish in BFT are mostly carried out on a laboratory scale, being necessary to carry out studies on a pilot or commercial scale on the aspects that operationally influence the system.

With a very dynamic system, it is difficult to establish a pattern in the nutritional composition of bioflocs that can be affected by the composition of the feed, amount of food, and carbon source used. This variation in the nutritional profile (protein, lipid, amino acid, and fatty acid profile) of microbial aggregates can make it difficult to establish dietary protocols that consider the natural food provided by the system, in addition to becoming an obstacle to the use of bioflocs dried in substitution or inclusion as an ingredient in the feed formulation. Furthermore, nutritional aspects such as digestibility and amino acid composition are little explored in BFT studies. There are species that, due to their eating habits, do not benefit directly from the complimentary food provided by BFT, but bioactive compounds, exogenous enzymes, microorganisms present in bioflocs, have benefits for the immunity of fish. However, the mechanisms that provide this positive effect on health need to be investigated.

The BFT system still has a high cost of installation and operation, which can be an obstacle for its consolidation. Economic information that presents a comparison of

the production of the main fish species in bioflocs and in other conventional systems would be important in solving the obstacles and decision-making by the productive sector.

Acknowledgements

The first author thanks the Coordination for the Improvement of Higher-Level Personnel (CAPES) for granting the PhD scholarship (Finance Code 001). The second and last author thanks the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the Research Productivity Grant.

References

- Aalimahmoudi, M., Mohammadiarm, H. (2019). Dietary protein level and carbon/nitrogen ratio manipulation in bioflocs rearing of *Cyprinus carpio* juvenile: Evaluation of growth performance, some blood biochemical and water parameters. *Aquaculture*, 513, 734408. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734408>
- Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M.K., Harsij, M. (2019). Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish Shellfish Immunology*, 95, 440–448. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.057>
- Ahmad, H. I., Verma, A.K., Babitha Rani, A.M., Rathore, G., Saharan, N., Gora, A.H. (2016). Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. *Aquaculture*, 457, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.011>
- Aparicio-Simón, B., Real-Moreno, E., Espinosa-Chaurand, D., García-Morales, R., Garza-Torres, R., Cortés-Sánchez, A.D.J., Lora-Sanchez, D., Maeda-Martínez, N.A. (2020). Giant bladder kelp (*Macrocystis pyrifera*) and maize (*Zea mays*) meals as nucleation sites for biofloc formation. *Aquaculture Reports*, 16, 100289. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100289>
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264, 140–147.

- 1097 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- 1098 Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
1099 systems. *Aquaculture*, 176, 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0044-](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
1100 [8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
- 1101 Avnimelech, Y., Diab, S., Kochva, M., Mokady, S. (1994). Development of controlled
1102 intensive aquaculture systems. *Proc. 4TH Ger. Isr. Semin. EAS PUBLIC*, 17, 21–
1103 37.
- 1104 Avnimelech, Y., Kochba, M. (2009). Evaluation of nitrogen uptake and excretion by
1105 tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. *Aquaculture*, 287, 163–168.
1106 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.009>
- 1107 Azim, M.E., Little, D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water
1108 quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis*
1109 *niloticus*). *Aquaculture*, 283, 29–35.
1110 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>
- 1111 Azim, M.E., Little, D.C. (2006). Intensifying aquaculture production through new
1112 approaches to manipulating natural food. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci.*
1113 *Nutr. Nat. Resour.* 062, 1- 22. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20061062>
- 1114 Bakhshi, F., Najdegerami, E.H., Manaffar, R., Tokmechi, A., Farah, K.R., Shalizar
1115 Jalali, A. (2017). Growth performance, haematology, antioxidant status, immune
1116 response and histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed biofloc grown on
1117 different carbon sources. *Aquaculture Research*, 49, 393–403.
1118 <https://doi.org/10.1111/are.13469>
- 1119 Bakhshi F., Najdegerami, E.H., Manaffar, R., Tukmechi, A., Farah, K.R. (2018). Use of
1120 different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of
1121 common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture*, 484, 259–267.
1122 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.036>
- 1123 Battisti, E.K., Rabaioli, A., Uczay, J., Sutili, F.J., Lazzari, R. (2020). Effect of stocking
1124 density on growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant
1125 status of silver catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system.
1126 *Aquaculture*, 524, 735213. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735213>

- 1127 Besen, K.P., Cunha, L., Delziovo, F.R., Melim, E.W.H., Cipriani, L.A., Gomes, R.,
1128 Skoronski, E., Fabregat, T.E.H.P. (2021). Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture
1129 in biofloc systems: Level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of
1130 the bioflocs. *Aquaculture*, 540, 736738.
1131 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736738>
- 1132 Brol, J., Pinho, S.M., Sgnaulin, T., Pereira, K.R., Thomas, M.C., Mello, G.L., Miranda-
1133 Baeza, A., Emerenciano, M.G.C. (2017). Tecnologia de bioflocos (BFT) no
1134 desempenho zootécnico de tilápias: Efeito da linhagem e densidades de estocagem.
1135 *Archivos de Zootecnia*. 66, 229–235. <https://doi.org/10.21071/az.v66i254.2326>
- 1136 Boyd, C. (2020). *Water Quality – An introduction* (3rd ed.). Springer.
1137 <https://doi.org/10.1007/978-3-030-23335-8>
- 1138 Caipang, C.M.A., Choo, H.X., Bai, Z., Huang, H., Lay-yag, C.M. (2015). Viability of
1139 sweet potato flour as carbon source for the production of biofloc in freshwater
1140 culture of tilapia, *Oreochromis sp.* *International Aquatic Reserach*. 7, 329–336.
1141 <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0117-7>
- 1142 Caldini, N.N., Capistrano, H.H., Rocha Filho, P.R.N., Sá, M.V.C. (2018). Partial
1143 replacement of artificial diets by wet bioflocs biomass in nile tilapia culture tanks.
1144 *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 40, e42426.
1145 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.42426>
- 1146 Caldini, N.N., Cavalcante, D.H., Rocha Filho, P.R.N., Sá, M.V.C. (2015). Feeding Nile
1147 tilapia with artificial diets and dried bioflocs biomass | Alimentação da tilápia do
1148 Nilo com dietas artificiais e biomassa seca de bioflocos. *Acta Scientiarum. Animal*
1149 *Sciences*. 37, 335–341. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v37i4.27043>
- 1150 Cavalcante, D.H., Lima, F.R.S., Rebouças, V.T., Sá, M.V.C. (2017). Cultivo de juvenis
1151 de tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* em sistemas convencional, bioflocos e
1152 biofítton sob restrição alimentar. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 39, 223–228.
1153 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.33574>
- 1154 Cavalcante, D.H., Lima, F.R.S., Rebouças, V.T., Sá, M.V.C. (2017). Integration
1155 between bioflocs and periphyton in nile tilapia culture tanks | Integração entre
1156 bioflocos e perifítton em tanques de cultivo da tilápia do Nilo. *Acta*

1157 Scientiarum.Technology. 39, 601–607.

1158 <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i0.30123>

1159 Cavalcanti Nery, R., Costa, C.B., Rodrigues, F., Soares, R., Bezerra, R.S., Peixoto, S.
 1160 (2019). Effect of feeding frequency on growth and digestive enzyme activity in
 1161 *Litopenaeus vannamei* during the grow-out phase in biofloc system. Aquaculture
 1162 Nutrition. 25, 577–584. <https://doi.org/10.1111/anu.12880>

1163 Chen, X., Luo, G., Tan, J., Tan, H., Yao, M. (2020). Effects of carbohydrate supply
 1164 strategies and biofloc concentrations on the growth performance of African catfish
 1165 (*Clarias gariepinus*) cultured in biofloc systems. Aquaculture. 517, 734808.
 1166 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734808>

1167 Correa, A.S., Pinho, S.M., Molinari, D., Pereira, K.R., Gutiérrez, S.M., Monroy-Dosta,
 1168 M.C., Emerenciano, M.G.C. (2020). Rearing of Nile tilapia (*Oreochromis*
 1169 *niloticus*) juveniles in a biofloc system employing periods of feed deprivation.
 1170 Journal of Applied Aquaculture. 32, 139–156.
 1171 <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1679319>

1172 Costa, Â.A.P., Roubach, R., Dallago, B.S.L., Bueno, G.W., McManus, C., Bernal,
 1173 F.E.M. (2017). Influence of stocking density on growth performance and welfare
 1174 of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cages. Arquivo Brasileiro de
 1175 Medicina Veterinária e Zootecnia. 69, 243–251. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8939>

1176

1177 Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in
 1178 aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture. 356–357, 351–
 1179 356.
 1180 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

1181 Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., Avnimelech, Y. (2009). Bio-flocs technology
 1182 application in over-wintering of tilapia. Aquacultural Engineering. 40, 105–112.
 1183 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2008.12.004>

1184 Dauda, A.B., Ajadi, A., Tola-Fabunmi, A.S., Akinwole, A.O. (2019). Waste production
 1185 in aquaculture: Sources, components and managements in different culture

1186 systems. Aquaculture and Fisheries. 4, 81–88.

1187 <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.10.002>

1188 Dauda, A.B., Romano, N., Ebrahimi, M., Karim, M., Natrah, I., Kamarudin, M.S.,
 1189 Ekasari, J. (2017). Different carbon sources affects biofloc volume, water quality
 1190 and the survival and physiology of African catfish *Clarias gariepinus* fingerlings
 1191 reared in an intensive biofloc technology system. Fisheries Science. 83, 1037–
 1192 1048.

1193 <https://doi.org/10.1007/s12562-017-1144-7>

1194 Dauda, A.B., Romano, N., Ebrahimi, M., The, J.C., Ajadi, A., Chong, C.M., Karim, M.,
 1195 Natrah, I., Kamarudin, M.S. (2018). Influence of carbon/nitrogen ratios on biofloc
 1196 production and biochemical composition and subsequent effects on the growth,
 1197 physiological status and disease resistance of African catfish (*Clarias gariepinus*)
 1198 cultured in glycerol-based biofloc systems. Aquaculture. 483, 120–130.
 1199 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.10.016>

1200 Day, S.B., Salie, K., Stander, H.B. (2016). A growth comparison among three
 1201 commercial tilapia species in a biofloc system. Aquaculture International. 24,
 1202 1309–1322.

1203 <https://doi.org/10.1007/s10499-016-9986-z>

1204 De Schryver, P., Verstraete, W. (2009). Nitrogen removal from aquaculture pond water
 1205 by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors.
 1206 Bioresource Technology. 100, 1162–1167.
 1207 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.043>

1208 Debnath, S., Ahmed, M.U., Parvez, M.S., Karmokar, A.K., Ahsan, M.N. (2021). Effect
 1209 of stocking density on growth performance and body composition of climbing
 1210 perch (*Anabas testudineus*) in biofloc system. Aquaculture International.

1211 <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00812-4>

1212 Doan, H.V., Lumsangkul, C., Hoseinifar, S.H., Hung, T.Q., Stejskal, V., Ringø, E.,
 1213 Dawood, M.A.O., Esteban, M.Á. (2020). Administration of watermelon rind
 1214 powder to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture under biofloc system: Effect
 1215 on growth performance, innate immune response, and disease resistance.

- 1216 Aquaculture. 528, 735574.
- 1217 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735574>
- 1218 Doan, H.V., Hoseinifar, S.H., Elumalai, P., Tongsiri, S., Chitmanat, C., Jaturasitha, S.,
 1219 Doolgindachbaporn, S. (2018). Effects of orange peels derived pectin on innate
 1220 immune response, disease resistance and growth performance of Nile tilapia
 1221 (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc system. Fish Shellfish
 1222 Immunology. 80, 56–62.
- 1223 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.049>
- 1224 Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Lopes, D.L.A., Jerônimo, G.T., Sgnaulin, T.,
 1225 Emerenciano, M.G.C. (2019). Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of
 1226 digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in
 1227 brackish water. Aquaculture and Fisheries. 5, 42–51.
- 1228 <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>
- 1229 Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the
 1230 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of
 1231 ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture. 257, 346–358.
- 1232 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- 1233 Ebrahimi, A., Akrami, R., Najdegerami, E.H., Ghiasvand, Z., Koohsari, H. (2020).
 1234 Effects of different protein levels and carbon sources on water quality, antioxidant
 1235 status and performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles raised in
 1236 biofloc based system. Aquaculture. 516, 734639.
- 1237 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734639>
- 1238 Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., De
 1239 Schryver, P. (2014). The size of biofloc determines the nutritional composition and
 1240 the nitrogen recovery by aquaculture animals. Aquaculture. 426–427, 105–111.
- 1241 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>
- 1242 Ekasari, J., Rivandi, D.R., Firdausi, A.P., Surawidjaja, E.H., Zairin, M., Bossier, P., De
 1243 Schryver, P. (2015). Biofloc technology positively affects Nile tilapia
 1244 (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture. 441, 72–77.

1245 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>

1246 Ekasari, J., Zairin, M., Putri, D.U., Sari, N.P., Surawidjaja, E.H., Bossier, P. (2013).
 1247 Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L.
 1248 broodstock. Aquaculture Research. 46, 509–512. <https://doi.org/10.1111/are.12185>

1249 El-Shafiey, M.H.M., Mabroke, R.S., Mola, H.R.A., Hassaan, M.S., Suloma, A. (2018).
 1250 Assessing the suitability of different carbon sources for Nile tilapia, *Oreochromis*
 1251 *niloticus* culture in BFT system. Aquaculture, Aquarium, Conservation &
 1252 Legislation - International Journal of the Bioflux Society. 11, 782–795.

1253 Ezhilarasi, V., Verma, A.K., Babitharani, A.M., Harikrishna, V., Chandrakant, M.H.,
 1254 Ahmad, I., Nageswari, P. (2019). Effect of different carbon sources on growth,
 1255 non-specific immunity and digestive enzyme activity of amur carp (*Cyprinus*
 1256 *rubrofasciatus* lacepede 1803) fingerlings in biofloc based rearing system using
 1257 inland saline groundwater. Indian Journal of Fisheries. 66, 85–92.
 1258 <https://doi.org/10.21077/ijf.2019.66.3.86206-11>

1259 FAO - Food and Agriculture Organization. (2020). The State of World Fisheries and
 1260 Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.
 1261 <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

1262 Fatimah, N., Pande, G.S.J., Natrah, F.M.I., Meritha, W.W., Widanarni, Sucipto, A.,
 1263 Ekasari, J. (2019). The role of microbial quorum sensing on the characteristics and
 1264 functionality of bioflocs in aquaculture systems. Aquaculture. 504, 420–426.
 1265 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.022>

1266 Fauji, H., Budiardi, T., Ekasari, J. (2018). Growth performance and robustness of
 1267 African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in biofloc-based nursery production
 1268 with different stocking densities. Aquaculture Research. 49, 1339–1346.
 1269 <https://doi.org/10.1111/are.13595>

1270 Gallardo-Collí, A., Pérez-Fuentes, M., Pérez-Rostro, C.I., Hernández-Vergara, M.P.
 1271 (2020). Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, L. subjected
 1272 to cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. Aquaculture
 1273 Research. 51, 1813–182.
 1274 <https://doi.org/10.1111/are.14530>

1275 García-Ríos, L., Miranda-Baeza, A., Coelho-Emerenciano, M.G., Huerta-Rábago, J.A.,
1276 Osuna-Amarillas, P. (2019). Biofloc technology (BFT) applied to tilapia
1277 fingerlings production using different carbon sources: Emphasis on commercial
1278 applications. *Aquaculture*. 502, 26–31.
1279 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.057>

1280 Glencross, B.D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by
1281 aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*. 1, 71–124.
1282 <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x>

1283 Green, B.W., McEntire, M.E. (2017). Comparative water quality and channel catfish
1284 production in earthen ponds and a biofloc technology production system. *Journal*
1285 *of Applied Aquaculture*. 29, 1–15.
1286 <https://doi.org/10.1080/10454438.2016.1261751>

1287 Green, B.W., Rawles, S.D., Webster, C.D., McEntire, M.E. (2018). Effect of Stocking
1288 Rate on Growing Juvenile Sunshine Bass, *Morone chrysops* × *M. saxatilis* , in an
1289 Outdoor Biofloc Production System. *Journal of World Aquaculture Society*. 49,
1290 827–836. <https://doi.org/10.1111/jwas.12491>

1291 Green, B.W. (2010). Effect of Channel Catfish Stocking Rate on Yield and Water
1292 Quality in an Intensive, Mixed Suspended-Growth Production System. *North*
1293 *American Journal of Aquaculture*. 72, 97–106. <https://doi.org/10.1577/a09-020.1>

1294 Green, B.W., Schrader, K.K., Perschbacher, P.W. (2012). Effect of stocking biomass on
1295 solids, phytoplankton communities, common off-flavors, and production
1296 parameters in a channel catfish biofloc technology production system. *Aquaculture*
1297 *Research*. 45, 1442–1458. <https://doi.org/10.1111/are.12096>

1298 Green, B.W. (2015). Performance of a temperate-zone channel catfish biofloc
1299 technology production system during winter. *Aquacultural Engineering*. 64, 60–67.
1300 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.11.001>

1301 Hargreaves, J.A. (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture.
1302 *Aquacultural Engineering*. 34, 344–363.
1303 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.009>

- Haridas, H., Verma, A.K., Rathore, G., Prakash, C., Sawant, P.B., Babitha Rani, A.M. (2017). Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. *Aquaculture Research*. 48, 4346–4355. <https://doi.org/10.1111/are.13256>
- Hisano, H., Parisi, J., Cardoso, I.L., Ferri, G.H., Ferreira, P.M.F. (2019). Dietary protein reduction for Nile tilapia fingerlings reared in biofloc technology. *Journal of World Aquaculture Society*. 1-11. <https://doi.org/10.1111/jwas.12670>
- Hisano, H., Pinheiro, V.R., Losekann, M.E., Moura e Silva, M.S.G. (2020). Effect of feeding frequency on water quality, growth, and hematological parameters of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared using biofloc technology. *Journal of Applied Aquaculture*. 33, 96–110. <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1715909>
- Kamilya, D., Debbarma, M., Pal, P., Kheti, B., Sarkar, S., Singh, S.T. (2017). Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. *Chemosphere*. 182, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.021>
- Kheti, B., Kamilya, D., Choudhury, J., Parhi, J., Debbarma, M., Singh, S.T. (2017). Dietary microbial floc potentiates immune response, immune relevant gene expression and disease resistance in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings. *Aquaculture*. 468, 501–507. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.018>
- Kim, J.H., Sohn, S., Kim, S.K., Hur, Y.B. (2020). Effects on hematological parameters, antioxidant and immune responses, AChE, and stress indicators of olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater challenged by *Edwardsiella tarda*. *Fish Shellfish Immunology*. 97, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.011>
- Kim, J.H., Kim, S.K., Kim, J.H. (2018). Bio-floc technology application in flatfish *Paralichthys olivaceus* culture: Effects on water quality, growth, hematological parameters, and immune responses. *Aquaculture*. 495, 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.034>
- Klanian, M.G., Díaz, M.D., Solís, M.J.S., Aranda, J., Moral, P.M. (2020). Effect of the

content of microbial proteins and the poly- β -hydroxybutyric acid in biofloc on the performance and health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed on a protein-restricted diet. Aquaculture. 519, 734872.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734872>

Legarda, E.C., Poli, M.A., Martins, M.A., Pereira, S.A., Martins, M.L., Machado, C., De Lorenzo, M.A., Do Nascimento Vieira, F. (2019). Integrated recirculating aquaculture system for mullet and shrimp using biofloc technology. Aquaculture. 512, 734308.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734308>

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

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

Lima, E.C.R., Souza, R.L., Wambach, X.F., Silva, U.L., Correia, E.S. (2015). Culture of the Nile tilapia “*Oreochromis niloticus*” in biofloc system with different stocking densities. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 16, 948–957.

<https://doi.org/10.1590/s1519-99402015000400018>

Lima, P.C.M., Abreu, J.L., Silva, A.E.M., Severi, W., Galvez, A.O., Brito, L.O. (2019). Nile tilapia fingerling cultivated in a low-salinity biofloc system at different stocking densities. Spanish Journal of Agricultural Research. 16, e0612.

<https://doi.org/10.5424/sjar/2018164-13222>

Lima, E.C.R., Souza, R.L., Girão, P.J.M., Braga, Í.F.M., Correia, E.S. (2018). Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of carbon. Revista Ciência Agronômica. 49, 458–466. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180052>

Liu, G., Deng, Y., Verdegem, M., Ye, Z., Zhu, S. (2019). Using poly(β -hydroxybutyrate- β -hydroxyvalerate) as carbon source in biofloc-systems: Nitrogen dynamics and shift of *Oreochromis niloticus* gut microbiota. Science of The Total Environment. 694, 133664.

1363 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133664>

1364 Liu, G., Ye, Z., Liu, D., Zhao, J., Sivaramasamy, E., Deng, Y., Zhu, S. (2018).
 1365 Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune
 1366 responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems.
 1367 Fish Shellfish Immunology. 81, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.047>

1368 Liu, G., Ye, Z., Liu, D., Zhu, S. (2018). Influence of Stocking Density on Growth,
 1369 Digestive Enzyme Activity, Immunity, and Cortisol Levels of Subadult Half-
 1370 smooth Tongue Sole *Cynoglossus semilaevis* in a Recirculating Aquaculture
 1371 System. North American Journal of Aquaculture. 80, 286–293.
 1372 <https://doi.org/10.1002/naaq.10030>

1373 Liu, G., Zhu, S., Liu, D., Ye, Z. (2018). Effect of the C/N ratio on inorganic nitrogen
 1374 control and the growth and physiological parameters of tilapia s fingerlings,
 1375 *Oreochromis niloticus* reared in biofloc systems. Aquaculture Reserch. 49, 2429–
 1376 2439.
 1377 <https://doi.org/10.1111/are.13702>

1378 Liu, W., Luo, G., Chen, W., Tan, H., Wu, S., Zhang, N., Yu, Y. (2018). Effect of no
 1379 carbohydrate addition on water quality, growth performance and microbial
 1380 community in water-reusing biofloc systems for tilapia production under high-
 1381 density cultivation. Aquaculture Reserch. 49, 2446–2454.
 1382 <https://doi.org/10.1111/are.13704>

1383 Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C.C., Kandaswamy, E., Zhou, T., Zuo, L. (2018).
 1384 Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. Frontiers Physiology.
 1385 9, 1–14.
 1386 <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00477>

1387 Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F. (2015). Effect of biofloc technology on
 1388 growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of
 1389 genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 448,
 1390 135–141.
 1391 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.017>

1392 Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H. (2014). Growth, digestive

1393 activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed
 1394 tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and
 1395 an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 422–423, 1–7.

1396 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

1397 Luo, G., Zhang, N., Cai, S., Tan, H., Liu, Z. (2017). Nitrogen dynamics, bacterial
 1398 community composition and biofloc quality in biofloc-based systems cultured
 1399 *Oreochromis niloticus* with poly- β -hydroxybutyric and polycaprolactone as
 1400 external carbohydrates. *Aquaculture*. 479, 732–741.

1401 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.017>

1402 Mabroke, R.S., Zidan, A.E.N.F.A., Tahoun, A.A., Mola, H.R.A., Abo-State, H.,
 1403 Suloma, A., (2021). Feeding frequency affect feed utilization of tilapia under
 1404 biofloc system condition during nursery phase. *Aquaculture Reports*. 19, 100625.

1405 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100625>

1406 Magondu, E.W., Charo-Karisa, H., Verdegem, M.C.J. (2013). Effect of C/N ratio levels
 1407 and stocking density of *Labeo victorinus* on pond environmental quality using
 1408 maize flour as a carbon source. *Aquaculture*. 410–411, 157–163.

1409 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.021>

1410 Mahanand, S.S., Moulick, S., Rao, P.S. (2013). Water Quality and Growth of Rohu,
 1411 *Labeo rohita*, in a Biofloc System. *Journal of Applied Aquaculture*. 25, 121–131.

1412 <https://doi.org/10.1080/10454438.2013.788898>

1413 Mahanand, S.S., Moulick, S., Rao, P.S. (2013). Optimum formulation of feed for rohu,
 1414 *Labeo rohita* (Hamilton), with biofloc as a component. *Aquaculture International*.
 1415 21, 347–360.

1416 <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9557-x>

1417 Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Alves, G.F.O., Ferreira, N.H., Teixeira,
 1418 E.A., Fernandes, A.F.A., Silva, M.A., Turra, E.M. (2021). Effects of different
 1419 stocking densities on Nile tilapia performance and profitability of a biofloc system
 1420 with a minimum water exchange. *Aquaculture*. 530, 735814.

1421 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735814>

- 1422 Manduca, L.G., Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Alves, G.F.O., Fernandes, A.F.A.,
 1423 Assumpção, A.F., Cardoso, A.C., Sales, S.C.M., Teixeira, E.A., Silva, M.A.,
 1424 Turra, E.M. (2020). Effects of a zero exchange biofloc system on the growth
 1425 performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. *Aquaculture*
 1426 521, 7358064.
 1427 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735064>
- 1428 Mansour, A.T., Esteban, M.Á. (2017). Effects of carbon sources and plant protein levels
 1429 in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status
 1430 of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunology*. 64, 202–209.
 1431 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>
- 1432 Martins, M.A., Poli, M.A., Legarda, E.C., Pinheiro, I.C., Carneiro, R.F.S., Pereira, S.A.,
 1433 Martins, M.L., Gonçalves, P., Schleder, D.D., Vieira, F.N. (2020). Heterotrophic
 1434 and mature biofloc systems in the integrated culture of Pacific white shrimp and
 1435 Nile tilapia. *Aquaculture*. 514, 734517.
 1436 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734517>
- 1437 Menaga, M., Felix, S., Charulatha, M., Gopalakannan, A., Panigrahi, A. (2019). Effect
 1438 of in-situ and ex-situ biofloc on immune response of Genetically Improved Farmed
 1439 Tilapia. *Fish Shellfish Immunology*. 92, 698–705.
 1440 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.06.031>
- 1441 Minaz, M., Kubilay, A. (2021). Operating parameters affecting biofloc technology:
 1442 carbon source, carbon/nitrogen ratio, feeding regime, stocking density, salinity,
 1443 aeration, and microbial community manipulation. *Aquaculture International*. 29,
 1444 1121–1140. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00681-x>
- 1445 Mirzakhani, N., Ebrahimi, E., Jalali, S.A.H., Ekasari, J. (2019). Growth performance,
 1446 intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia
 1447 (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon
 1448 sources and input C:N ratios. *Aquaculture*. 512, 734235.
 1449 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734235>
- 1450 Mohammadi, G., Rafiee, G., Abdelrahman, H.A. (2020). Effects of dietary
 1451 *Lactobacillus plantarum* (KC426951) in biofloc and stagnant-renewal culture
 1452 systems on growth performance, mucosal parameters, and serum innate responses

1453 of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Fish Physiology and Biochemistry. 46,
 1454 1167–1181.

1455 <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00777-w>

1456 Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B. (2016). Effects of biofloc on growth
 1457 performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp
 1458 (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. Fish Physiology
 1459 and Biochemistry. 42, 457–465. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0151-9>

1460 Naqash, F., Masoodi, F.A., Rather, S.A., Wani, S.M., Gani, A. (2017). Emerging
 1461 concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin – a review.
 1462 Carbohydrate Polymers. 168, 227-239.
 1463 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.058>

1464 Ng, W.K., Romano, N. (2013). A review of the nutrition and feeding management of
 1465 farmed tilapia throughout the culture cycle. Reviews in Aquaculture. 5, 220–254.
 1466 <https://doi.org/10.1111/raq.12014>

1467 Nhi, N.H.Y., Da, C.T., Lundh, T., Lan, T.T., Kiessling, A. (2018). Comparative
 1468 evaluation of Brewer’s yeast as a replacement for fishmeal in diets for tilapia
 1469 (*Oreochromis niloticus*), reared in clear water or biofloc environments.
 1470 Aquaculture. 495, 654–660.

1471 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.035>

1472 Nobile, A.B., Cunico, A.M., Vitule, J.R.S., Queiroz, J., Vidotto-Magnoni, A.P., Garcia,
 1473 D.A.Z., Orsi, M.L., Lima, F.P., Acosta, A.A., Silva, R.J., Prado, F.D., Porto-
 1474 Foresti, F., Brandão, H., Foresti, F., Oliveira, C., Ramos, I.P. (2019). Status and
 1475 recommendations for sustainable freshwater aquaculture in Brazil. Reviews in
 1476 Aquaculture. 1–23. <https://doi.org/10.1111/raq.12393>

1477 NRC (2011). Nutrients requirements of fish and shrimp. The National Academies Press,
 1478 Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/13039>

1479 Oliveira, L.K., Pilz, L., Furtado, P.S., Ballester, E.L.C., Bicudo, Á.J.A. (2021). Growth,
 1480 nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile tilapia
 1481 (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates.
 1482 Aquaculture. 541, 73683.

- 1483 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736830>
- 1484 Park, J., Roy, L.A., Renukdas, N., Luna, T. (2017). Evaluation of a Biofloc System for
 1485 Intensive Culture of Fathead Minnows, *Pimephales promelas*. Journal of World
 1486 Aquaculture Society. 48, 592–601.
- 1487 <https://doi.org/10.1111/jwas.12387>
- 1488 Peixoto, S., Silva, E., Costa, C.B., Nery, R.C., Rodrigues, F., Silva, J.F., Bezerra, R.,
 1489 Soares, R. (2018). Effect of feeding frequency on growth and enzymatic activity of
 1490 *Litopenaeus vannamei* during nursery phase in biofloc system. Aquaculture
 1491 Nutrition. 24, 579–585.
- 1492 <https://doi.org/10.1111/anu.12591>
- 1493 Pérez-Fuentes JA, Pérez-Rostro CI, Hernández-Vergara MP, Monroy-Dosta MC (2018)
 1494 Variation of the bacterial composition of biofloc and the intestine of Nile tilapia
 1495 *Oreochromis niloticus*, cultivated using biofloc technology, supplied different feed
 1496 rations. Aquaculture Research. 49, 3658–3668. <https://doi.org/10.1111/are.13834>
- 1497 Pérez-Fuentes JA, Hernández-Vergara MP, Pérez-Rostro CI, Fogel I (2016) C:N ratios
 1498 affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised
 1499 in a biofloc system under high density cultivation. Aquaculture. 452, 247–251.
- 1500 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>
- 1501 Poleo, G., Aranbarrio, J.V., Mendoza, L., Romero, O. (2011). Cultivo de cachama
 1502 blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. Pesquisa Agropecuária
 1503 Brasileira. 46, 429–437.
- 1504 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000400013>
- 1505 Poli, M.A., Schweitzer, R., Nuñez, A.P.O. (2015). The use of biofloc technology in a
 1506 South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in
 1507 the performance of larvae. Aquacultural Engineering. 66, 17–21.
- 1508 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2015.01.004>
- 1509 Qiao, G., Chen, P., Sun, Q., Zhang, M., Zhang, J., Li, Z., Li, Q. (2020). Poly-β-
 1510 hydroxybutyrate (PHB) in bioflocs alters intestinal microbial community structure,
 1511 immune-related gene expression and early Cyprinid herpesvirus 2 replication in

gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Shellfish Immunology. 97, 72–82.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.045>

Refaey, M.M., Li, D., Tian, X., Zhang, Z., Zhang, X., Li, L., Tang, R. (2018). High stocking density alters growth performance, blood biochemistry, intestinal histology, and muscle quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture. 492, 73–81.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.003>

Rego, M.A.S., Sabbag, O.J., Soares, R., Peixoto, S. (2017). Financial viability of inserting the biofloc technology in a marine shrimp *Litopenaeus vannamei* farm: a case study in the state of Pernambuco, Brazil. Aquaculture International. 25, 473–483.

<https://doi.org/10.1007/s10499-016-0044-7>

Rocha, A. F., Barbosa, V. M., Wasielesky Jr, W., Abreu, P. C., Lisboa, V., Cavalli, L., Tesser, M.B. (2021). Water quality and juvenile development of mullet *Mugil liza* in a biofloc system with an additional carbon source: Dextrose, liquid molasses or rice bran?. Aquaculture Research. 53, 870-883. <https://doi.org/10.1111/are.15628>

Romano, N., Dauda, A.B., Ikhsan, N., Karim, M., Kamarudin, M.S. (2018). Fermenting rice bran as a carbon source for biofloc technology improved the water quality, growth, feeding efficiencies, and biochemical composition of African catfish *Clarias gariepinus* juveniles. Aquaculture Research. 49, 3691–3701.

<https://doi.org/10.1111/are.13837>

Sandoval-Vargas, L.Y., Jiménez-Amaya, M.N., Rodríguez-Pulido, J., Guaje-Ramírez, D.N., Ramírez-Merlano, J.A., Medina-Robles, V.M. (2020). Applying biofloc technology in the culture of juvenile of *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): Effects on zootechnical performance and water quality. Aquaculture Research. 51, 3865–3878.

<https://doi.org/10.1111/are.14734>

Sgnaulin, T., Durigon, E.G., Pinho, S.M., Jerônimo, G.T., Lopes, D.L.A., Emerenciano, M.G.C. (2020). Nutrition of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) in biofloc technology system: Optimization of digestible protein and digestible

energy levels during nursery phase. *Aquaculture*. 521, 734998.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734998>

Silva, B.C. da, Massago, H., Andrade, J.I.A. de, Serafini, R. de L., Jatobá, A. (2022). Tilapia nursery stocking densities in a chemoautotrophic biofloc system. *Ciência e Agrotecnologia* 46, 2022.

<https://doi.org/10.1590/1413-7054202246022321>

Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Costa, F.F.B., Turra, E.M., Alves, G.F.O., Manduca, L.G., Sales, S.C.M., Leite, N.R., Bezerra, V.M., Moraes, S.G.S., Teixeira, E.A. (2020). Feeding management strategies to optimize the use of suspended feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in bioflocs. *Aquaculture Research*. 51, 605–615. <https://doi.org/10.1111/are.14408>

Silva, U.L., Falcon, D.R., Pessôa, M.N.D.C., Correia, E.D.S. (2017). Carbon sources and C: N ratios on water quality for Nile tilapia farming in biofloc system. *Revista Caatinga*. 30, 1017–1027. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n423rc>

Silva, U.L., Vieira, L.C., Mello, M.V.L., França, E.J., Falcon, D.R., Correia, E.S. (2018). Response of phytoplankton to different carbon sources and C: N ratios in Tilapia fingerling culture with bioflocs. *Boletim do Instituto de Pesca*. 44, e255. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.255>

Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Alves, G.F.O., Manduca, L.G., Turra, E.M., Brito, T.S., Sales, S.C.M., Silva Junior, A.F., Borges, W.J.M., Teixeira, E.A. (2018). Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. *Aquaculture Research*. 49, 2693–2703. <https://doi.org/10.1111/are.13730>

Simon, C.J., Blyth, D., Ahmad Fatan, N., Suri, S. (2019). Microbial biomass (NovacqTM) stimulates feeding and improves the growth performance on extruded low to zero-fishmeal diets in tilapia (GIFT strain). *Aquaculture*. 501, 319–324.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.052>

Soedibya, P.H.T., Pramono, T.B., Listiowati, E. (2017). Growth performance of African catfish *Clarias gariepinus* cultured in biofloc system at high stocking density. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 16, 244.

1572 <https://doi.org/10.19027/jai.16.2.244-252>

1573 Sousa, A.A., Pinho, S.M., Rombenso, A.N., Mello, G.L., Emerenciano, M.G.C. (2019).
 1574 Pizzeria by-product: A complementary feed source for Nile tilapia (*Oreochromis*
 1575 *niloticus*) raised in biofloc technology? *Aquaculture*. 501, 359–367.

1576 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.055>

1577 Toyés-Vargas, E.A., Parrish, C.C., Viana, M.T., Carreón-Palau, L., Magallón-Servín,
 1578 P., Magallón-Barajas, F.J. (2020). Replacement of fish oil with camelina
 1579 (*Camelina sativa*) oil in diets for juvenile tilapia (var. GIFT *Oreochromis*
 1580 *niloticus*) and its effect on growth, feed utilization and muscle lipid composition.
 1581 *Aquaculture*. 523, 735177.

1582 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735177>

1583 Tubin, J.S.B., Paiano, D., Hashimoto, G.S.O., Furtado, W.E., Martins, M.L., Durigon,
 1584 E., Emerenciano, M.G.C. (2020). Tenebrio molitor meal in diets for Nile tilapia
 1585 juveniles reared in biofloc system. *Aquaculture*. 519, 734763.

1586 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734763>

1587 Van Doan H, Hoseinifar SH, Hung TQ, Lumsangkul C, Jaturasitha S, El-Haroun E,
 1588 Paolucci M (2020). Dietary inclusion of chestnut (*Castanea sativa*) polyphenols to
 1589 Nile tilapia reared in biofloc technology: Impacts on growth, immunity, and
 1590 disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish Shellfish Immunology*.
 1591 105:319–326.

1592 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.010>

1593 Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Naraballobh, W., Jaturasitha, S., Tongsiri, S.,
 1594 Chitmanat, C., Ringø, E. (2019). Dietary inclusion of Orange peels derived pectin
 1595 and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under
 1596 indoor biofloc systems. *Aquaculture*. 508, 98–105.

1597 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.067>

1598 Vieira, R.B., Barreto, L.M., Fonseca, K.Z., Lordelo, M.S., Souza, F.R., Evangelista-
 1599 Barreto, N.S. (2019). Zootechnical performance evaluation of the use of biofloc
 1600 technology in Nile tilapia fingerling production at different densities. *Boletim do*
 1601 *Instituto de Pesca* 45, e505. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.4.505>

- Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L., Zheng, Z. (2015). Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aquaculture*. 443, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.015>
- Wei, Y., Liao, S.A., Wang, A.L. (2016). The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*. 465, 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>
- Widanarni, 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. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>
- Yoo, G.Y., Lee, J.Y. (2016). The effect of feeding frequency, water temperature, and stocking density on the growth of river puffer *Takifugu obscurus* reared in a zero-exchange water system. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 19, 23. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0024-x>
- Yu, Z., Dai, Z.Y., Qin, G.X., Li, M.Y., Wu, L.F. (2020a). Alleviative effects of dietary microbial floc on copper-induced inflammation, oxidative stress, intestinal apoptosis and barrier dysfunction in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski. *Fish Shellfish Immunology*. 106, 120–132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.070>
- Yu, Z., Huang, Z.Q., Du, H.L., Li, H.J., Wu, L.F. (2020b). Influence of differential protein levels of feed on growth, copper-induced immune response and oxidative stress of *Rhynchocypris lagowski* in a biofloc-based system. *Aquaculture Nutrition*., 1–14. <https://doi.org/10.1111/anu.13158>
- Yu, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Duan, J., Wang, J.Y., Liu, Y.H., Wu, L.F. (2020c). Monitoring of growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of Golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero-water

exchange tanks of biofloc systems. Aquaculture Reports. 16.

<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100283>

Yu, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Wu, L. (2020d). Effects of bioflocs with different C/N ratios on growth, immunological parameters, antioxidants and culture water quality in *Opsariichthys kaopingensis* Dybowski. Aquaculture Research. 51:805–815.

<https://doi.org/10.1111/are.14430>

Yu, Z., Zheng, Y., Du, H.L., Li, H.J., Wu, L.F. (2020e). Bioflocs protects copper-induced inflammatory response and oxidative stress in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski through inhibiting NF- κ B and Nrf2 signaling pathways. Fish Shellfish Immunology. 98, 466–476.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.048>

Xu, W., Xu, Y., Su, H., Hu, X., Xu, Y., Li, Z., Wen, G., Cao, Y., (2020). Effects of feeding frequency on growth, feed utilization, digestive enzyme activity and body composition of *Litopenaeus vannamei* in biofloc-based zero-exchange intensive systems. Aquaculture. 522, 735079.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735079>

Xu, W.J., Pan, L.Q. (2012). Effects of bioflocs on growth performance, digestive nzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture. 356, 147 – 152.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.022>

Xu, W.J., Pan, L.Q. (2013). Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture. 412, 117 – 124.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.017>

Zaki, M.A.A., Alabssawy, A.N., Nour, A.E.A.M., El Basuini, M.F., Dawood, M.A.O., Alkahtani, S., Abdel-Daim, M.M. (2020). The impact of stocking density and dietary carbon sources on the growth, oxidative status and stress markers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under biofloc conditions. Aquaculture Reports. 16, 100282. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100282>

Zhang, M., Li, Y., Xu, D.H., Qiao, G., Zhang, J., Qi, Z., Li, Q. (2018). Effect of different water biofloc contents on the growth and immune response of gibel carp cultured in zero water exchange and no feed addition system. *Aquaculture Research*. 49, 1647–1656.

<https://doi.org/10.1111/are.13620>

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

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.013>

1691

ANEXO I – TABELA

1692

Table 1. Fish stocking densities practiced in BFT system.

Species	Density (fish.m ⁻³)	Initial weight (g. fish ⁻¹)	Reference
<i>Clarias gariepinus</i>	4000 – 8000	0.96	Fauji et al. 2018
<i>Cyprinus carpio</i>	714 – 1428	8.41	Adineh et al. 2019
<i>Ictalurus punctatus</i>	3.6 – 10.7	13	Green 2010
<i>Ictalurus punctatus</i>	31.4 – 52.3	48	Green et al. 2012
<i>Labeo rohita</i>	1.6 – 4.9	50	Mahanand et al. 2013
<i>Labeo victorianus</i>	10 – 25	4.75 – 9.45	Magundu et al. 2013
<i>M. chrysops</i> × <i>M. saxatilis</i>	65.3 – 326.4	2.9	Green et al. 2018
<i>Oreochromis niloticus</i>	15 – 45	123	Lima et al. 2015
<i>Oreochromis niloticus</i>	75	38.4	Pérez-Fuentes et al. 2016
<i>Oreochromis niloticus</i>	400 - 800	3.06	Brol et al. 2017
<i>Oreochromis niloticus</i>	200 – 350	0.98	Haridas et al. 2017
<i>Oreochromis niloticus</i>	50 – 180	0.51	Liu et al. 2018
<i>Oreochromis niloticus</i>	500 – 1250	1.02	Lima et al. 2019
<i>Oreochromis niloticus</i>	200 – 1000	1.0	Vieira et al. 2019
<i>Oreochromis niloticus</i>	20 - 80	96.8	Manduca et al. 2020
<i>Oreochromis niloticus</i>	20 – 60	50.47	Zaki et al. 2020
<i>Oreochromis niloticus</i>	18.75 – 75	133.9	Manduca et al. 2021
<i>Oreochromis sp.</i>	25 - 100	77.89	Widanarni et al. 2012
<i>Oreochromis sp.</i>	400 - 800	3.06	Brol et al. 2017
<i>Piaractus brachypomus</i>	20 - 40	5.4	Sandoval-Vargas et al. 2020
<i>Pimephales promelas</i>	100 – 800	0.95	Park et al. 2017
<i>Rhamdia quelen</i>	775 – 2325	12.9	Battisti et al. 2020
<i>Takifugu obscurus</i>	15 - 30	10.5	Yoo and Lee 2016
<i>Takifugu obscurus</i>	15 - 30	41.2	Yoo and Lee 2016

1693

1694

1695

1696 Table 2. Different carbon sources and C/N ratios in BFT based aquaculture

Carbon source	C/N	Species	CP ** (%)	IW (g)	FW (g)	FCR (kg/kg)	days	Reference
Broken rice flour	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.43	50.4 7	130	1.92	84	Zaki et al. 2020
Broken wheat grain flour	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.43	50.5	118	2.09	84	Zaki et al. 2020
Brown sugar	20:1	<i>Cyprinus rubrofuscus</i>	32	*	*	1.77	45	Ezhilarasi et al. 2019
By-product of milling wheat	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	20-30	48	*	1.80	70	Mansour e Esteban 2017
Cellulose	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.2	9.14	14.24	2.13	30	El-Shafiey et al. 2018
Cassava starch	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45	1.7	12.4	2.1	63	Silva et al. 2018
Cassava starch	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	13.4	2.5	60	Silva et al. 2017
Cassava starch	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	13.8	1.7	60	Silva et al. 2017
Corn	15:1	<i>Labeo horita</i>	28	4.80	*	1.76	60	Ahmad et al. 2016
Corn flour	12:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	35	0.05	0.40	1.46	31	García-Ríos et al. 2019
Corn starch	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	22.5	52.5	1.3	70	Bakhshi et al. 2018
Corn starch	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	20.9	51.7	1.3	70	Bakhshi et al. 2018a
Fermented rice	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	43	9.68	*	0.82	42	Romano et al. 2018
Glicerol	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	32	5.07	22.63	*	42	Dauda et al. 2017
Glucose	16:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	13.6	228.13	0.78	120	Zhang et al. 2016
Glucose	16,8:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	13.6	*	0.78	120	Luo et al. 2017
Glucose	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.2	9.14	12.57	2.61	30	El-Shafiey et al. 2018
Glucose	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	40	99.6	263.30	1.19	56	Liu et al. 2018
Glucose	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>						
Glucose	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>						
Glucose	10.8:1	<i>Opsariichthys kaopingensis</i>	36	7.1	12.39	1.86	28	Yu et al. 2020
Liquid molasses	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	36 - 32	72.6	339.21	1.74	145	Lima et al. 2018
Longan seed powder	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	*	0.50	8.39	1.12	90	Liu et al. 2019
Molasses	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	14.7	1.7	60	Silva et al. 2017

Molasses	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	13.2	1.1	60	Silva et al. 2017
Molasses	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.2	9.14	11.12	6.5	30	El-Shafiey et al. 2018
Molasses	10:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45	1.7	13.0	2.1	63	Silva et al. 2018
Molasses	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	40	2.7	*	1.21	56	Mirzakhani et al. 2019
Molasses	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	20 - 30	30.5	55.3	2.7	60	Ebrahimi et al. 2020
Polycaprolactone (PCL)	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	13.6	*	0.87	120	Luo et al. 2017
Policaprolactone (PCL)	< 20:1	<i>Clarias gariepinus</i>	33	6.99	149.62-167.44	1.17-1.37	140	Chen et al. 2020
Poly-β-hydroxybutyrate	10.6:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	13.6	192.3	0.92	120	Zhang et al. 2016
Poly-β-hydroxybutyrate	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	13.6	*	0.92	120	Luo et al. 2017
Poly (β-hydroxybutyrate-β-hydroxivalerate)	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	*	0.50	8.45	1.12	90	Liu et al. 2019
Poly (β-hydroxybutyrate-β-hydroxivalerate) + Longan seed powder	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	*	0.50	8.77	1.11	90	Liu et al. 2019
Powdered molasses	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	36 - 32	72.6	350.08	1.75	145	Lima et al. 2018
Pure cane sugar	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	43-40.9	0.2	16.2	1.0	73	Lopez-Betancur et al. 2020
Raw rice bran	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	43	9.68	*	0.92	42	Romano et al. 2018
Rice bran	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	32	5.0	23.46	*	42	Dauda et al. 2017
Rice bran	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	20-30	48	*	1.80	70	Mansour e Esteban 2017
Rice bran	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	20 - 30	30.5	65.8	2.6	60	Ebrahimi et al. 2020
Rice bran	20:1	<i>Cyprinus rubrofuscus</i>	32	11.17	*	2.02	45	Ezhilarasi et al. 2019
Rice bran + (<i>Bacillus</i> species)	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	43	9.68	*	1.10	42	Romano et al. 2018
Rice bran + sugarcane	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	20 - 30	30.5	62.1	2.6	60	Ebrahimi et al. 2020

molasses							
Starch	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	30.2	9.14	11.85	3.32	El-Shafiey et al. 2018
Sucrose	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	32	5.07	24.13	*	42 Dauda et al. 2017
Sugar	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	14.2	1.6	60 Silva et al. 2017
Sugar	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45.5	1.7	15.7	1.6	60 Silva et al. 2017
Sugar	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	22.5	*	1.4	70 Bakhshi et al. 2017
Sugar	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	26.8	49.6	1.4	70 Bakhshi et al. 2018a
Sugar	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	36 - 32	72.6	353.3	1.89	145 Lima et al. 2018
Sugar	10:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	45	1.7	13.5	1.6	63 Silva et al. 2018
Sugar	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	35	0.05	0.49	1.28	31 García-Ríos et al. 2019
Sugar beet molasses	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	22.5	*	1.4	70 Bakhshi et al. 2018
Sugar beet molasses	20:1	<i>Cyprinus carpio</i>	35	20.9	49.9	1.4	70 Bakhshi et al. 2018a
Sugarcane bagasse	15:1	<i>Labeo horita</i>	28	4.80	*	2.07	60 Ahmad et al. 2016
Sweet potatoes	16:1	<i>Oreochromis sp.</i>	35	15	28.5	0.44	30 Caipang et al. 2015
Tapioca	15:1	<i>Labeo horita</i>	28	4.80	*	1.86	60 Ahmad et al. 2016
Tapioca flour	20:1	<i>Cyprinus rubrofasciatus</i>	32	11.17	20.73	2.5	45 Ezhilarasi et al. 2019
Wheat	15:1	<i>Labeo horita</i>	28	4.80	*	1.67	60 Ahmad et al. 2016
Wheat flour	16:1	<i>Oreochromis sp.</i>	35	15	32.7	0.34	30 Caipang et al. 2015
Wheat flour	20:1	<i>Cyprinus rubrofasciatus</i>	32	11.17	19.44	2.15	45 Ezhilarasi et al. 2019
Wheat flour	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	40	2.7	*	0.96 – 1.01	56 Mirzakhani et al. 2019
Wheat flour	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	35	0.05	0.30	1.51	31 García-Ríos et al. 2019

1697 * no informed; ** crude protein feed

1698

1699

1700

1701

1702 Table 3 Bioflocs composition

Carbon source	C/N	Species	CP (%)	CL (%)	References
Glycerol	10:1	**	30 – 31	8 - 9	Ekasari et al. 2010
Glycerol	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	33.3	0.83	Dauda et al. 2017
Glycerol	10:1	<i>Clarias gariepinus</i>	44.27	5.84	Dauda et al. 2018a
Glycerol	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	38.65	7.85	Dauda et al. 2018a
Glycerol	20:1	<i>Clarias gariepinus</i>	32.64	10.78	Dauda et al. 2018a
Glycerol	15:1	<i>H. wetmorei</i> ♂ × <i>B. gonionotus</i> ♀	34.2 – 45.7	0.42 – 0.65	Dauda et al. 2018b
Glycerol	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	30.5 – 44.5	0.57 – 1.06	Dauda et al. 2018b
Glucose	10:1	**	28 – 33	6 - 9	Ekasari et al. 2010
Glucose	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	38.53	6.06	Zhang et al. 2016
Glucose	10.8:1	<i>O. kaopingensis</i>	29.94	2.13	Yu et al 2020
Glucose	15:1	<i>O. kaopingensis</i>	35.23	2.13	Yu et al 2020
Glucose	20:1	<i>O. kaopingensis</i>	37.46	2.15	Yu et al 2020
Glucose	25:1	<i>O. kaopingensis</i>	37.09	2.37	Yu et al 2020
Liquid molasses	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	16.36 – 19.47	2.11-2.88	Martins et al. 2019
Molasses	15:1	<i>Oreochromis sp</i>	39.7 – 48.1	15.6 – 24.3	Widarnani et al. 2012
Molasses	15:1	<i>Carassius auratus</i>	29.8	3.2	Zhang et al. 2018
Molasses	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	33.8	2.4	Ekasari et al. 2019
Molasses	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	59.9	13.3	Mirzakhani et al. 2019
Molasses	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	60.3	8.5	Mirzakhani et al. 2019
Molasses	6:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	25.4 – 28.0	*	Manduca et al. 2021
Molasses powder	12:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	23.3	3.16	Tubin et al. 2020
Molasses powder	20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	33.7	5.1	Oliveira et al. 2021
Molasses + Bacillus	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	31.64 – 31.99	6.47-14.92	Yusuf et al. 2015
Molasses (25%) + Wheat flour (75%)	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	62.2 – 64.2	8.8 – 4.5	Mirzakhani et al. 2019

Molasses (50%) + Wheat flour (50%)	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	61.7 – 63.7	7.1 – 9.5	Mirzakhani et al. 2019
Molasses (75%) + Wheat flour (25%)	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	61.1 – 62.4	16.1 – 6.2	Mirzakhani et al. 2019
Poly-β- hydroxybutyrate	*	<i>Oreochromis niloticus</i>	34.06	6.58	Zhang et al. 2016
Rice bran	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	11.4	0.67	Dauda et al. 2017
Starch	20:1	<i>Cyprinus carpio L.</i>	21.8	5.3	Bakhshi et al. 2018
Sucrose	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	31.3	0.51	Dauda et al. 2017
Sugar	20:1	<i>O.niloticus</i> × <i>O.mossambicus</i>	23.7-25.4	2.6-3.5	López-Elías et al. 2015
Sugar	20:1	<i>Cyprinus carpio L.</i>	24.5	2.7	Bakhshi et al. 2018
Sugar beet molasses	20:1	<i>Cyprinus carpio L.</i>	25.0	3.0	Bakhshi et al. 2018
Tapioca	15:1	<i>Clarias gariepinus</i>	18.1	9.9	Ekasari et al. 2019
Wheat flour	15:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	37.93 – 38.41	3.16 – 3.23	Azim & Little. 2008
Wheat flour	15:1 20:1	<i>Oreochromis niloticus</i>	62.4-66.0	10.4 –5.4	Mirzakhani et al. 2019

1703 * no informed; **no animals

1704

1705

1706

1707

1708

1709

1710

1711

1712

1713

1714

1715

1716

1717

CAPÍTULO II

Efeitos da restrição alimentar sobre juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos em sistema de bioflocos

Luciana Kelly Oliveira ^a, Dariano Krumennauer ^b, Wilson Wasielesky Jr ^c, & Marcelo Borges Tesser ^a *

^a Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil

^b Laboratório de Ecologia de microrganismos Aplicado a Aquicultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG – C.P. 474, (RS) CEP 96201-900, Rio Grande, Brasil

^c Laboratório de Carcinocultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil

*Autor correspondente: Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil. E-mail: mbtesser@gmail.com

Resumo

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da restrição (0, 1, 2, 3 e 4 semanas de restrição) na performance de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias. Um total de 450 peixes ($4.39 \pm 0.00\text{g}$) foram distribuídos aleatoriamente em 15 unidades experimentais (250L de volume útil). O crescimento foi influenciado pela intensidade da restrição alimentar ($p < 0.05$), mas não a sobrevivência, a densidade final e a eficiência alimentar ($p > 0.05$). A Restrição alimentar de quatro semanas (4SW) comprometeu severamente o crescimento e a condição corporal, mas produziu lotes com peixes mais homogêneos (96% de uniformidade). A capacidade de retenção de nutrientes (proteínas e lipídios) reduziu com o incremento da restrição alimentar ($p < 0.05$). A série eritrocitária foi influenciada pelos diferentes manejos de alimentação, mas não a contagem diferencial de leucócitos ($p > 0.05$). Entretanto, a contagem de leucócitos e trombócitos totais foi reduzida pela intensidade da subalimentação. Manejos mais restritivos impactaram os níveis de sólidos ($p < 0.05$), o que gerou uma correlação positiva entre concentração de sólidos e o total de microrganismos ($p < 0.05$, $R = 0.67$). Nossos resultados demonstram que a qualidade nutricional dos bioflocos são reflexo da entrada de nutrientes no sistema, e impactam a capacidade dos bioflocos auxiliar na sustentação do crescimento dos peixes. Contudo, os bioflocos são capazes de sustentar a ausência de alimento inerte por uma semana sem prejuízos ao bem-estar dos juvenis de tilápia.

Palavras-chave: BFT, sólidos, condição corporal, retenção de nutrientes, hematologia, manejo alimentar.

Abstract

This study was conducted with the objective of evaluating the effects of restriction (0, 1, 2, 3, and 4 weeks of restriction) on the performance of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system (BFT) for 28 days. A total of 450 fish ($4.39 \pm 0.00\text{g}$) were randomly distributed into 15 experimental units (250L of useful volume). Growth was influenced by the intensity of food restriction ($p < 0.05$), but not by survival, final density, and feed efficiency ($p > 0.05$). Four weeks of food restriction severely compromised growth and body condition, but resulted in batches with more homogeneous fish (96% uniformity). Nutrient retention capacity (proteins and lipids) decreased with increasing food restriction ($p < 0.05$). The erythrocyte series was influenced by different feeding management, but not by differential leukocyte count ($p > 0.05$). However, total leukocyte and thrombocyte counts were reduced by the intensity of underfeeding. More restrictive management impacted solids levels ($p < 0.05$), generating a positive correlation between solids concentration and total microorganisms ($p < 0.05$, $R = 0.67$). Our results demonstrate that the nutritional quality of bioflocs reflects the entry of nutrients into the system and impacts the ability of bioflocs to assist in sustaining fish growth. However, bioflocs can sustain the absence of inert food for a week without compromising the well-being of Nile tilapia juveniles.

Keywords: BFT, solids, body condition, nutrient retention, hematology, feeding management.

1. Introdução

Na natureza, os peixes passam por diferentes níveis de jejum durante suas fases de desenvolvimento, o que causa variações nas taxas de crescimento (Ali et al., 2003; Broekhuizen et al., 1994). Longos períodos de jejum podem reduzir a síntese de proteínas e impactar negativamente o processo de crescimento. Os peixes possuem mecanismos para lidar com as flutuações do alimento natural e garantir o seu potencial de crescimento. Essa condição, é conhecida como crescimento compensatório e está bem documentada para diferentes espécies de peixes teleósteos em ampla gama de táxons (Abolfathi et al., 2012; Ali et al., 2003; Chatzifotis et al., 2011; Gao and Lee, 2012; Thongprajukaew and Rodjaroen, 2017).

A indução artificial do jejum na criação de peixes pode ser executada como estratégia de manejo alimentar para obtenção de respostas compensatórias. Na aquicultura esse fenômeno pode ser explorado para incrementar a produtividade e melhorar a eficiência alimentar das criações. Esses aspectos são relevantes devido à alimentação representar 50 a 60% dos custos de produção (Rego et al., 2017). A indução ao jejum está bem documentada em sistemas de produção convencionais, onde o alimento natural é inexistente ou irrisório. Entretanto, em sistemas superintensivos os quais exercem o controle da qualidade da água através do estabelecimento de uma comunidade microbiana que serve de alimento aos organismos aquáticos, o conhecimento ainda é escasso. Poucos estudos se dedicaram a compreender como os bioflocos influenciam os organismos aquáticos sob restrição de alimento inerte (Gallardo-Collí et al., 2020a; Lara et al., 2017; Oliveira et al., 2021; Rocha et al., 2019).

O sistema de bioflocos (BFT) se destaca como uma tecnologia de cultivo ambientalmente amigável – tecnologia verde –, pois entrega redução do uso de água, otimização do espaço, redução de efluentes que são aspectos importantes para a

sustentabilidade da atividade aquícola. Os bioflocos são agregados formados por microrganismos (bactérias, ciliados, flagelados, rotíferos, amebas, diatomáceas entre outros (Khanjani and Sharifinia, 2020). No BFT, ocorrem interações que estimulam as bactérias a utilizarem o nitrogênio na forma de amônia para a síntese de novas células bacterianas (Robles-Porchas et al., 2020), atuando como um sumidouro de nitrogênio mais rápido do que a nitrificação. Esse processo ocorre a partir da manipulação da relação carbono/nitrogênio, onde uma fonte exógena de carbono orgânico é adicionada para atingir uma elevada relação carbono/ nitrogênio (Avnimelech, 2007; Ebeling et al., 2006a). Além de auxiliar na manutenção da qualidade da água, a biotransformação da amônia em agregados microbianos disponibiliza uma fonte de alimento a ser considerada (Avnimelech, 2007; Avnimelech and Kochba, 2009; Robles-Porchas et al., 2020). Os bioflocos são uma fonte de proteína, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e micronutrientes (Khanjani et al., 2023) que podem servir de alimento para as espécies criadas (Azim et al., 2008; de Oliveira et al., 2019; El-Sayed, 2021; Gallardo-Collí et al., 2020; Khanjani and Sharifinia, 2020).

A produtividade natural do BFT permite explorar diferentes manejos de alimentação em espécies com potencial para o aproveitamento da matéria orgânica em suspensão. A criação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema BFT tem sido amplamente investigada (Khanjani et al., 2022a). Entretanto, o manejo alimentar considerando o alimento “*in situ*” proporcionado pelo sistema continua pouco explorado, em especial relacionado a restrição de alimento inerte. Embora, alguns estudos tenham se dedicado a utilizar a tilápia em condição de subalimentação afim de utilizá-la no controle de sólidos – clarificador biológico – em sistemas BFT (Holanda et al., 2022; Poli et al., 2019), os efeitos da restrição sobre o desempenho, condição corporal e saúde dos animais não constituíam o principal foco desses estudos. Portanto,

o objetivo desse estudo foi avaliar como manejo alimentar restritivo afeta o desempenho, a condição corporal, a capacidade de retenção de nutrientes e os parâmetros hematológicos de juvenis de *O. niloticus* mantidos em sistema BFT.

2. Material e métodos

2.1 Declaração de ética animal

Os procedimentos experimentais adotados no presente estudo foram previamente aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal da Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil (Licença nº 003/2020).

2.2 Procedimento experimental

O experimento foi conduzido na Estação Marinha de Aquacultura da Universidade Federal do Rio Grande – EMA/FURG. Pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram adquiridos em criadouro comercial, transportados até o laboratório e foram aclimatadas às condições laboratoriais por 15 dias até o início do ensaio. Durante esse período foram mantidos em sistema de recirculação de água composto por 6 tanques de 300L, os quais eram providos de aeração constante. Diariamente, os animais eram alimentados com ração comercial (Aqua line, Supra®, Brasil) em 3 refeições (9 h, 13 h e 17h) até a saciedade aparente.

O ensaio foi conduzido em 15 tanques circulares de polietileno (250L de volume útil), providos com aeração constante através de mangueiras microperfuradas conectadas ao compressor radial de 7.5 HP (Ibram™, São Paulo, Brasil) e mantidos sob controle de temperatura e fotoperíodo (12h claro:12h escuro). As unidades experimentais foram abastecidas com água salobra (~17‰), e adicionados 63L de bioflocos (25% volume de trabalho) proveniente do cultivo de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) para acelerar a formação do bioflocos (Krummenauer et al.,

2014). A manutenção da relação carbono-nitrogênio foi realizada utilizando melaço de cana líquido (25% de carbono) como fonte de carbono orgânico. Os cálculos para as fertilizações foram realizados assumindo que é necessário 6 g de carbono para converter 1 g de amônia, considerando a manutenção da relação C/N de 15:1 (Avnimelech, 1999; Ebeling et al., 2006a).

Após o período de aclimação, os peixes (4.39 ± 0.00 g) foram transferidos dos tanques de manutenção para as unidades experimentais. Em cada tanque os peixes foram distribuídos aleatoriamente (30 peixes por tanque) com uma densidade de estocagem de 200 peixes m^{-3} . O delineamento experimental foi composto por 5 regimes alimentares com 3 repetições, onde os animais foram submetidos a 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de restrição (SW) de alimento inerte (0SW, 1SW, 2SW, 3SW e 4SW). O período de alimentação foi estabelecido no início do experimento, onde os peixes foram alimentados com ração comercial (Aqua line, Supra[®], Brasil) contendo (composição analisada: g kg^{-1}): 436g de proteína bruta; 85g de lipídios; 99g de fibra bruta; 90g de cinza, 54g de umidade e 4453.7 kcal kg^{-1} de energia bruta calculada através dos valores fisiológicos (NRC, 2011). A ração foi distribuída em 3 refeições (9 h, 13 h e 17h) até à saciedade aparente.

2.3 Monitoramento da água

Diariamente em cada unidade experimental foram mensurados o oxigênio dissolvido, temperatura (550A, YSI[™], USA) e pH (Seven2Go, Mettler Toledo[™], Brasil) pela manhã e ao final da tarde. Amônia (UNESCO, 1983), o nitrito (Aminot and Chausseple, 1983) e a alcalinidade (APHA, 2012) foram monitorados duas vezes por semana. Por fim, a salinidade (RTP-20ATC, ATC[™], Brasil), o nitrato (García-Robledo et al., 2014) e o fosfato (Aminot and Chausseple, 1983) foram analisados semanalmente.

2.4 Característica dos bioflocos

Os sólidos sedimentáveis (APHA, 2012) e os sólidos suspensos totais (Strickland and Parsons, 1972) foram analisados semanalmente. A partir dos dados coletados, calculou-se a porosidade (espaços entre os flocos que são ocupados pela água) de acordo com Smith e Coackley (1984) seguindo a fórmula: Porosidade (%) = $(1 - \text{sólidos sedimentados/volume de água}) \times 100$. O índice de volume do floco (FVI) foi mensurado de acordo com Mohlman, (1934) seguindo a fórmula: $\text{FVI (ml/g)} = \text{sólidos sedimentados (ml)} / \text{sólidos suspensos totais (g)}$. O índice de densidade floco (FDI) foi calculado da seguinte forma: $\text{FDI} = 100/\text{FVI}$, segundo centro de referência internacional da Organização Mundial de Saúde (1978).

2.5 Desempenho zootécnico

No final do experimento, após 24h de jejum de alimento inerte (considerando o regime de alimentação) todos os peixes foram anestesiados (benzocaína, 50 mg L⁻¹), contados, pesados e medidos para determinação os seguintes parâmetros de desempenho:

Ganho de peso = (peso final – peso inicial)

Unidade Térmica de Crescimento = $[(\text{peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}) / (\text{temperatura da água} \times \text{dias de experimento})] \times 100$

Taxa de sobrevivência (%) = $[(\text{número final de peixes} - \text{número inicial de peixes}) / \text{número inicial de peixes}] \times 100$

Produtividade = $(\text{biomassa final/volume de água}) \times 1000$

Densidade final = $\text{número final de peixe/volume de água}$

Eficiência alimentar = $(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{consumo total de ração}$

1912 Taxa de alimentação (%) = [(consumo total de ração/dias de alimentação) / ((peso final
1913 + peso inicial) / 2)] × 100

1914 Consumo diário de ração (%) = consumo de ração / [(peso inicial do peixe + peso final
1915 do peixe) × dias alimentados / 2]} × 100

1916 Índice hepatossomático (%) = (peso do fígado/peso corporal total) × 100

1917 Índice viscerossomático (%) = (peso das vísceras/peso corporal total) × 100

1918 Índice de massa corporal (g/cm²) = peso corporal total/ comprimento total²

1919 Fator de condição = peso final/ (comprimento total³) × 100

1920 Retenção da eficiência proteica (%) = (peso final × proteína corporal final) – (peso
1921 inicial × proteína corporal inicial) × 100/ ingestão de proteína

1922 Uniformidade (%) = [(N±20% x (Nt)-1) × 100]

1923 Onde: N±20 = nº de animais com peso total ± 20% em torno da média da unidade
1924 experimental e Nt = número total de animais em cada unidade experimental (Couto et
1925 al., 2018).

1926 **2.6 Análise centesimal dos peixes e do bioflocos**

1927 Uma amostra da população inicial foi coletada aleatoriamente, e os peixes
1928 foram eutanasiados (benzocaína a 100 mg. L⁻¹), macerados, secos em estufa de
1929 recirculação de ar forçado (MA-035/3, MarconiTM, Brasil) a 60°C por 24 horas e
1930 mantidos sob refrigeração para posterior análise. A composição centesimal do corpo
1931 inteiro, dos bioflocos e da ração foi analisada de acordo com a AOAC, (2007). O
1932 conteúdo de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl (MA-036,
1933 MarconiTM, Brasil). Os lipídeos foram estimados pelo método Bligh e Dyer, (1959). As

cinzas foram determinadas por queima simples em forno mufla (MA-385, MarconiTM, Brasil) a 600°C por 5 horas, e a umidade determinada pelo método gravimétrico em estufa de ar forçado (MA-035/3, MarconiTM, Brasil) a 105°C até peso constante. Finalmente, a energia bruta foi calculada a partir dos valores fisiológicos (NRC, 2011).

2.7 Análise hematológica

Ao final dos 28 dias de experimento, três peixes de cada unidade experimental (9 por tratamento) foram aleatoriamente selecionados e anestesiados (benzocaína, 50 mg L⁻¹) para coleta de sangue por punção caudal com o auxílio de seringas (1 ml) embebidas em heparina. Foi realizada a análise da série eritrocitária. A taxa de hemoglobina (Hb, g.dL⁻¹) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (Collier, 1944) utilizando-se reagente específico (Drabkin) com leitura em espectrofotômetro a 540nm. O hematócrito (HTC, %) foi determinado através do método do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971) em centrífuga a 12.000 rpm por cinco minutos, com leitura em escala graduada. Manualmente foi realizada a contagem total de eritrócitos (RBC, 10⁶/μL) utilizando solução de formol-citrato com azul de toluidina (Oliveira-Júnior et al., 2009) com leitura em câmara de Neubauer com o auxílio de microscópio óptico (NikonTM, Eclipse E200, Tóquio, Japão) na objetiva de 40×.

A partir desses dados foram calculados os seguintes índices hematimétricos absolutos de acordo com Wintrobe (1934): volume corpuscular médio (VCM, fL) = (hematócrito × 10) / número de eritrócitos; hemoglobina corpuscular média (HCM, μg) = hemoglobina × 10 / número de eritrócitos e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM, g.dL) = (hemoglobina × 100) / hematócrito. Esfregaços sanguíneos foram confeccionados em lâminas de vidro, secos ao ar e submetidos à coloração com kit panótico rápido (Laborclin®, Pinhais, PR, Brasil) para a análise da série branca e

1959 trombócitos. A leitura da extensão sanguínea foi realizada com o auxílio de microscópio
1960 óptico (NikonTM, Eclipse E200, Tóquio, Japão) na objetiva de imersão (1000×).

1961 **2.8 Abundância de microrganismos**

1962 Amostras do inóculo e da água do cultivo (18mL) foram coletadas no início e
1963 ao final do experimento, mantidas em frasco âmbar e fixadas em formol a 4% para a
1964 contagem de protozoários e outros organismos. Alíquotas das amostras foram colocadas
1965 em câmara de sedimentação e levadas ao microscópio invertido (IX51, Olympus TM)
1966 com magnificação final de 200×, onde 30 campos aleatórios foram contados de acordo
1967 com Utermöhl (1958).

1968 **2.9 Análise estatística**

1969 Os dados obtidos no experimento foram testados quanto à normalidade (teste
1970 de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Após atendidos os
1971 pressupostos, foi aplicada a análise de variância (*Anova de uma via*) complementada
1972 com o teste *post-hoc* Tukey para a comparação das médias. Quando os pressupostos não
1973 foram atendidos, recorreu-se ao teste de Kruskal-Wallis da estatística não paramétrica
1974 de acordo com Zar (2010). As análises foram realizadas utilizando o software
1975 estatístico SAS OnDemand for Academics.

1976 **3. Resultados**

1977 **3.1. Qualidade de água**

1978 Os parâmetros de qualidade de água ao longo do experimento não foram
1979 influenciados pelos manejos de alimentação ($P>0.05$), exceto pelo nitrato e a
1980 alcalinidade (Tabela 1). Uma maior entrada de nutrientes (0SW) proporcionou maior

acúmulo de nitrato ($P<0.05$), enquanto o menor aporte de alimento inerte resultou em maior concentração de alcalinidade ($P<0.05$).

3.2 Características dos bioflocos

As características dos bioflocos foram significativamente influenciadas pelos tratamentos ($P<0.05$), exceto o índice de densidade do floco ($P>0.05$). E suas médias $\pm$ DP estão apresentadas na Tabela 2. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) foi significativamente mais elevada em 0SW, enquanto que nos tratamentos com maior restrição alimentar ela foi significativamente reduzida (Figura 1). Uma maior concentração de sólidos sedimentáveis (SS) ocorreu entre 0SW e 2SW ($P<0.05$), a partir desse ponto foi reduzida em resposta à menor entrada de alimento. Enquanto, os flocos produzidos em 3SW e 4SW apresentaram uma menor porosidade ($P<0.05$). A ausência de alimento resultou em um menor índice de volume de flocos ($P<0.05$).

3.3 Parâmetros de desempenho

Os resultados do desempenho de juvenis de tilápia estão apresentados na Tabela 3. O crescimento dos animais seguiu um comportamento decrescente com aumento das semanas de restrição ($p<0.05$) a partir de 2SW. Onde, o peso final, ganho de peso e unidade térmica de crescimento foram comprometidas especialmente nos animais submetidos a total restrição de alimento inerte (4SW). Em decorrência da restrição alimentar, o ganho de biomassa e a produtividade foram significativamente mais elevadas no tratamento controle (0SW), enquanto 4SW apresentou perda de biomassa importante e baixa produtividade ($p<0.05$). A taxa de sobrevivência e a densidade final não foram influenciadas pelos tratamentos ($p>0.05$), entretanto, maior restrição alimentar (4SW) produziu lotes mais uniformes ($p<0.05$). Os diferentes manejos de alimentação não resultaram em diferenças significativas na taxa de

alimentação aparente e na eficiência de utilização de alimento. Como esperado, o consumo de alimento inerte por peixe/dia foi reduzindo a partir de 2SW com o incremento na intensidade da restrição de alimento ($p<0.05$). O índice hepatossomático e de massa corpórea (Tabela 4), assim como o fator de condição apresentaram um declínio à medida que aumentaram as semanas de restrição de alimento ($p<0.05$). Entretanto, o índice viscerossomático não foi influenciado pelos manejos de alimentação ($p>0.05$).

3.4 Composição química e retenção de nutrientes

A composição química corporal dos peixes foi significativamente influenciada pelos tratamentos, exceto pelo conteúdo de lipídeos (Tabela 5). Os grupos 0SW e 1SW apresentaram elevado conteúdo de proteína corporal, enquanto que nos animais expostos a restrição alimentar mais intensa (4SW) foi significativamente reduzido ($p<0.05$). Este grupo, apresentou a umidade corporal mais elevada ($p<0.05$). O conteúdo de cinzas corporal do grupo controle foi menor em relação aos tratamentos submetidos a diferentes semanas de restrição ($p<0.05$). O conteúdo de energia bruta corporal foi reduzido a partir de 2SW ($p<0.05$), assim como a capacidade de retenção de nutrientes importantes como proteína e lipídeos (Figura 2 e 3). Os resultados da composição proximal dos bioflocos estão apresentados na Tabela 6. O conteúdo proteico e lipídico dos bioflocos foram influenciados pelos tratamentos ($p<0.05$). O teor de proteína dos flocos foi reduzindo a partir de duas semanas de restrição (2SW), enquanto o maior conteúdo lipídico foi registrado nesse tratamento, diferindo apenas de 3WS.

3.5 Hematologia

Os níveis de restrição alimentar exerceram influência sobre os parâmetros hematológicos (Tabela 7), exceto pela hemoglobina corpuscular média (HCM) e a

concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ($p>0.05$). O hematócrito (Hct) e a hemoglobina (Hb) foram reduzidos significativamente a partir do tratamento 2SW. Os peixes do grupo 4SW apresentaram menor concentração de eritrócitos (RBC), mostrando que a total ausência de alimento inerte tem um efeito significativo sobre esse parâmetro ($p<0.05$). Os diferentes manejos de restrição alimentar não influenciaram a contagem diferencial de leucócitos ($p>0.05$) como exposto na Tabela 8. No entanto, a contagem total de leucócitos apresentou um comportamento decrescente com a intensidade da restrição de alimento (Figura 4). A ausência de alimento inerte afetou significativamente a concentração de trombócitos no grupo 4SW (Figura 5).

3.6 Microrganismos

Os resultados da abundância de microrganismos durante os 28 dias de ensaio estão expostos na Figura 6. No geral, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com 7 e 28 dias ($p>0.05$). Contudo, o total de microrganismos ao final do ensaio apresentou um comportamento quadrático decrescente com o aumento da intensidade da restrição alimentar (Figura 7). Ademais, o total de microrganismos nos diferentes tratamentos apresentou uma correlação positiva moderada com a concentração média de sólidos suspensos totais (Figura 8).

4. Discussão

Em nosso estudo, a escassez semanal de alimento por curtos períodos de tempo (28 dias) não afetou os parâmetros de qualidade de água que permaneceram dentro do recomendado para o desenvolvimento da espécie (El-Sayed, 2006). Em sistemas de troca mínima de água, naturalmente ocorre o acúmulo de nitrato como produto do processo de nitrificação, e funciona como indicativo da ciclagem do nitrogênio oriundo das excretas dos animais e restos de alimento. Desta forma, a maior oferta de alimento

proporcionou o incremento da concentração de nitrato, como observado em nosso estudo.

A manutenção da alcalinidade acima 100mg/L de CaCO₃ favorece o processo de nitrificação (Ebeling et al., 2006b), como observado em nossos resultados. Entretanto, a alcalinidade mais elevada no grupo 4SW pode estar relacionada a baixa concentração de sólidos neste grupo. Apenas a excreção dos animais não é suficiente para estimular a formação de novos agregados em maior quantidade, ou seja, a ausência da entrada de nutrientes via ração diminui a concentração de agregados especialmente nos grupos 3SW e 4SW. Em paralelo, a subalimentação parece estimular a busca ativa pelo alimento natural, o que impacta a concentração de sólidos suspensos totais e a concentração de microrganismos (Figura 8). Logo, é implícito se a baixa concentração de sólidos é produto apenas da falta de nutrientes ou da intensidade do forrageamento. Ademais, uma consequência do aumento do consumo dos bioflocos possivelmente seria a diminuição do tamanho dos agregados (Dilling e Alldredge, 2000).

Em nosso estudo não foi mensurado o tamanho dos bioflocos, entretanto a porosidade dos bioflocos pode ser considerada um indicativo do tamanho das partículas (Yuvarajan, 2021). A redução da concentração dos bioflocos em 3SW e 4SW, resultou em flocos mais porosos indicando que a predação dos peixes sobre o bioflocos resultou em partículas de flocos menores. Os peixes ao consumirem os flocos exerceram controle principalmente sobre a população de rotíferos e nematoides; associado a isso, os rotíferos são predominantes em ambientes com elevado aporte nutricional (0SW e 1SW), e podem atuar como indicador do estado trófico do ambiente (Serafim-Júnior et al., 2010).

Os peixes em geral, podem apresentar comportamento competitivo principalmente frente a escassez de recursos alimentares (Jobling, 1983). Os ciclídeos

como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresentam comportamento agonístico e territorial (Volpato et al., 1989), e esse comportamento de disputa por alimento pode afetar a sua sobrevivência. Contudo, em nosso estudo os diferentes períodos de inanição de alimento inerte, resultaram em altas taxas de sobrevivência em todos os grupos. Esse resultado corrobora com os achados de Oliveira et al. (2021), que ao submeter os animais ao longo período de restrição total de alimento inerte alcançaram elevada sobrevivência e densidade final. Esses resultados são interessantes, uma vez que durante a fase de juvenis a comercialização ocorre de forma unitária, onde o número de indivíduos se destaca em detrimento a produtividade. Além disso, manejos mais restritivos produziram lotes mais uniformes devido à ausência de competição entre os indivíduos por alimento. Já que na maior parte do tempo a fonte de nutrientes vem especialmente pelo processo de filtração (Turker et al., 2003).

Como fonte de nutrientes, os bioflocos sustentaram o crescimento dos animais restritos de alimentação inerte durante uma semana (1SW). Contudo, mesmo ocorrendo indicativo de consumo dos agregados (Figura 1) e dos microrganismos (Figura 7) ou o reduzido mesmo com o *input* reduzido de nutrientes, os bioflocos não foram suficientes para sustentar o crescimento ou auxiliar na manutenção do peso inicial no grupo totalmente restrito (4SW). Segundo a Lei de Liebig, essa condição é explicada pela limitação de nutrientes dos bioflocos, especialmente a proteína (21% PB) abaixo da necessidade nutricional da espécie (Gorban et al., 2011). As células do organismo estão em constante estado de degradação e síntese, e o fornecimento de proteína dietética alimenta esse sistema complexo altamente dinâmico de interação entre síntese e degradação de proteínas, um fenômeno conhecido como “*protein turnover*” (Chou et al., 2012). Em nosso estudo, a limitação de um nutriente importante como a proteína conduziu a degradação dos tecidos fazendo pressão negativa sobre o crescimento. Logo,

a restrição de alimento inerte limita a ingestão de nitrogênio, ocorrendo um desbalanço negativo entre ingestão e excreção resultando na perda de peso no grupo 4SW, mesmo com o consumo aparente da proteína microbiana oriunda dos bioflocos.

Porém, esse resultado diverge dos achados de Oliveira et al. (2021), nos quais juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cresceram em condição de restrição total de alimento inerte (70 dias) em sistema de bioflocos. Essa divergência, pode estar relacionada aos baixos valores de proteína e energia dos bioflocos no tratamento 4SW. Em verdade, os bioflocos são muito dinâmicos e sua composição química é influenciada por vários fatores resultando em uma ampla variação nutricional (Khanjani et al., 2022b; Oliveira et al., 2022). O estado de fome/inanição independente da fase de desenvolvimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resulta na perda de peso corporal (Sakyi et al., 2020, 2019), devido a deficiências na alimentação de manutenção (Gao and Lee, 2012). Essa condição demonstra que os bioflocos como alimento natural necessitam de uma composição nutricional mínima para auxiliar na manutenção fisiológica dos animais aquáticos criados, do contrário à sua utilização não resultará em ganhos adicionais do ponto de vista nutricional.

Com maiores períodos de restrição alimentar a eficiência na retenção de nutrientes sofreu declínio, e até foi perdida. E embora em alguns casos, os animais tendem a utilizar o alimento com mais eficiência frente a escassez de alimentos, a capacidade de reter nutrientes é limitada pela intensidade da restrição (Abdel-Tawwab et al., 2006). Após o consumo das reservas energéticas, os nutrientes retidos foram igualmente consumidos, em especial a proteína como observado no grupo 3SW que apresentou retenção proteica negativa (Figura 2), ou seja, não ocorreu retenção. Uma baixa retenção de nutrientes, especialmente a proteína, indica a incapacidade de alcançar a compensação de crescimento (Elbialy et al., 2022a).

O tamanho relativo do fígado pode ser correlacionado ao estado nutricional dos peixes, e a sua redução é indicativo de problemas nutricionais importantes. Assim como o fator de condição, o HSI pode ser uma medida simples do nível de reservas energéticas por ser um importante sítio de deposição de glicogênio e gorduras (Rios et al., 2002), e alterações nesse índice é reflexo da utilização de proteína e glicogênio (Collins and Anderson, 1995). Na tilápia, a mobilização de nutrientes armazenados no fígado para atender as necessidades energéticas metabólicas afeta o tamanho da estrutura hepática durante os períodos de restrição alimentar (Elbialy et al., 2022b). Mesmo com alimento natural *in situ* disponível, ocorreu diminuição significativa do HSI, indicando que os organismos acionaram os processos de glicogenólise e gliconeogênese em resposta ao desafio nutricional. Além disso, o IMC e FC que demonstram a condição corporal dos animais é um importante indicador quantitativo do estado de bem-estar dos peixes (Salam and Davies, 1994), e assim como os índices de crescimento demonstraram que o grupo totalmente restrito se encontrava em estado nutricional crítico.

A saúde dos peixes é predominantemente dependente da ingestão de alimento (Ahmed et al., 2020). Logo, o estado nutricional dos peixes reduziu os parâmetros hematológicos da série eritrocitária, como o hematócrito e a hemoglobina. Esse declínio, pode ser causado pela perda da capacidade dos peixes em produzir hemácias em função da deficiência de nutrientes causada pela restrição de alimento (Vosylienė, 1999). Além disso, a redução da hemoglobina pode estar associada a uma possível diminuição da exigência de oxigênio (Falahatkar, 2012). Existe um gradiente de respostas hematológicas em peixes submetidos a restrição alimentar (Yarmohammadi et al., 2015). O hematócrito é considerado um bom indicador de estresse, e o seu declínio demonstra o estabelecimento de uma condição estressante com o aumento da

intensidade da restrição alimentar. Além disso, hematócritos abaixo de 20% em peixes teleósteos estão associados à anemia (Clauss et al., 2008). De fato, como fonte alimentar os bioflocos em nosso estudo não foram suficientes para suprir as demandas nutricionais mínimas para a manutenção dos animais. Embora os parâmetros da série leucocitária não tenham apresentado diferenças estatisticamente significativas, a concentração de alguns dos seus componentes está inclusa no intervalo de referência estabelecido para a espécie (Hrubec et al., 2000; Tavares-Dias, 2015). Por outro lado, a concentração de leucócitos totais (figura 6) nos peixes em total restrição de alimento inerte está abaixo dos valores de referência (Hrubec et al., 2000; Tavares-Dias, 2015). Esse decréscimo na contagem de leucócitos pode ser atribuído ao enfraquecimento do sistema imunológico (Vosylienė, 1999). Uma das principais causas da depressão imunológica nos peixes é a desnutrição proteico-energética que resulta em alteração na imunidade e mais especificamente depleção de linfócitos e alteração de suas funções (Trichet, 2010). A diminuição do número de linfócitos – linfocitopenia – pode ser caracterizada também como resposta ao estresse (Mazeaud et al., 1977), o que diminui a resistência às doenças. Um cenário nutricional ao qual os animais mais restritos (4SW) estavam submetidos, em vista que os bioflocos foi negativamente afetado em sua qualidade nutricional pela ausência de nutrientes, a fome é considerada como um fator que leva à diminuição dos perfis hematológicos de diferentes espécies de peixes (Ahmed et al., 2020). Em excesso, os trombócitos indicam a existência de processo infeccioso nos peixes, pois estes aparecem em maior quantidade em tecidos inflamatórios. Por outro lado, a redução de trombócitos – trombocitopenia – pode ser causada pela deficiência em nutrientes (Vosylienė, 1999), como observado nos animais sem acesso a ração (4SW).

5. Conclusão

É importante não só que o animal sobreviva durante o período de restrição, mas também que ele tenha a mesma capacidade de crescimento, e atinja peso similar aos peixes não privados de alimento. Em nosso estudo, os bioflocos sustentaram o crescimento na ausência de alimento inerte por uma semana. Em BFT, a qualidade nutricional dos bioflocos é determinante na utilização de manejos alimentares mais restritivos. No entanto, a própria restrição pode afetar diretamente a qualidade nutricional dos bioflocos como reflexo do menor aporte de nutrientes no sistema. Ensaios, devem ser realizados para avaliar períodos de restrição seguidos de realimentação e a possível influência dos bioflocos na ocorrência de ganho compensatório nos peixes.

Referências

- Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H., Shalaby, A.M.E., 2006. Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Journal of Applied Aquaculture 18, 17–36.
- https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1300/J028v18n03_02
- Abolfathi, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Zamani, A., 2012. Compensatory growth in juvenile roach *Rutilus caspicus*: Effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area. Journal of Fish Biology 81, 1880–1890.
- <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03407.x>
- Ahmed, I., Reshi, Q.M., Fazio, F., 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. Aquaculture International 2020 28:3 28, 869–899. <https://doi.org/10.1007/S10499->

- 2202 [019-00501-3](#)
- 2203 Ali, M., Nicieza, A., Woottton, R., 2003. Compensatory growth in fishes. Fish and
2204 fisheries, 147–190.
- 2205 Álvarez, D., Nicieza, A.G., 2005. Compensatory response “defends” energy levels but
2206 not growth trajectories in brown trout, *Salmo trutta* L. Proceedings of the Royal
2207 Society B: Biological Sciences 272, 601–607.
- 2208 <https://doi.org/10.1098/RSPB.2004.2991>
- 2209 Aminot, A., Chausseple, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin.
2210 CNEXO, Paris.
- 2211 AOAC, 2007. Official Methods of Analysis., 18th ed. Association of Official Analytical
2212 chemists, Gaithersburg.
- 2213 APHA, A.P.H.A., 2012. Standard methods for the examination of water and
2214 wastewater, 22 ed. ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- 2215 Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
2216 systems. Aquaculture 176, 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
- 2217 Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge
2218 bio-flocs technology ponds. Aquaculture 264, 140–147.
- 2219 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- 2220 Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by
2221 tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. Aquaculture 287, 163–168.
2222 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.009>
- 2223 Azim, M.E., Little, D.C., Bron, J.E., 2008. Microbial protein production in activated

2224 suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish
 2225 culture. *Bioresource Technology* 99, 3590–3599.
 2226 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.063>

2227 Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification.
 2228 *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911–917.
 2229 <https://doi.org/10.1139/o59-099>

2230 Broekhuizen, N., Gurney, W.S.C., Jones, A., Bryant, A.D., Bryantt, A.D., 1994.
 2231 *Modelling Compensatory Growth. Ecology* 8, 770–782.

2232 Chatzifotis, S., Papadaki, M., Despoti, S., Roufidou, C., Antonopoulou, E., 2011. Effect
 2233 of starvation and re-feeding on reproductive indices, body weight, plasma
 2234 metabolites and oxidative enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*).
 2235 *Aquaculture* 316, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.044>

2236 Chou, C.J., Affolter, M., Kussmann, M., 2012. A Nutrigenomics View of Protein
 2237 Intake, in: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. pp. 51–74.
 2238 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398397-8.00003-4>

2239 Clauss, T.M., Dove, A.D.M., Arnold, J.E., 2008. Hematologic Disorders of Fish.
 2240 *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* 11, 445–462.
 2241 <https://doi.org/10.1016/J.CVEX.2008.03.007>

2242 Collier, H.B., 1944. Standardization of Blood Haemoglobin Determinations. *Canadian*
 2243 *Medical Association journal* 50, 550–2.

2244 Collins, A.L., Anderson, T.A., 1995. The regulation of endogeneous energy stores
 2245 during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch. *Journal*
 2246 *of Fish Biology* 47, 1004–1015. <https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.1995.TB06024.X>

2247 de Oliveira, R.L.M., dos Santos, L.B.G., Neto, N.G. da S., da Silva, S.P.A., Silva, F. dos
 2248 S., Melatti, E., Cavalli, R.O., 2019. Feeding rate and feeding frequency affect
 2249 growth performance of common snook (*Centropomus undecimalis*) juveniles
 2250 reared in the laboratory. Revista Brasileira de Zootecnia 48.
 2251 <https://doi.org/10.1590/rbz4820170292>
 2252 Dilling, L., Alldredge, A.L., 2000. Fragmentation of marine snow by swimming
 2253 macrozooplankton: A new process impacting carbon cycling in the sea. Deep Sea
 2254 Research Part I: Oceanographic Research Papers 47, 1227–1245.
 2255 [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(99\)00105-3](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(99)00105-3)
 2256 do Couto, M.V.S., Sousa, N. da C., Abe, H.A., Dias, J.A.R., Meneses, J.O., Paixão,
 2257 P.E.G., Cunha, F. dos S., Ramos, F.M., Maria, A.N., Carneiro, P.C.F., Fujimoto,
 2258 R.Y., 2018. Effects of live feed containing *Panagrellus redivivus* and water depth
 2259 on growth of *Betta splendens* larvae. Aquaculture Research 49, 2671–2675.
 2260 <https://doi.org/10.1111/are.13727>
 2261 Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006a. Engineering analysis of the
 2262 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of
 2263 ammonia–nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture 257, 346–358.
 2264 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
 2265 El-Sayed, A.F.M., 2006. Tilapia culture, Tilapia culture. CABI Publishing, UK.
 2266 <https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>
 2267 El-Sayed, A.M., 2021. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a
 2268 comprehensive review, with emphasis on the last decade. Reviews in Aquaculture
 2269 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
 2270 Elbialy, Zizy I, Gamal, Shrouk, Al-Hawary, Ibrahim I, Shukry, Mustafa, Salah,

2271 Abdallah S, Aboshosha, Ali A, Doaa, ·, Assar, H., Elbially, Z I, Gamal, S, Al-
 2272 Hawary, I I, Shukry, M, Salah, A S, Aboshosha, A A, Assar, D.H., 2022.
 2273 Exploring the impacts of different fasting and refeeding regimes on Nile tilapia
 2274 (*Oreochromis niloticus* L.): growth performance, histopathological study, and
 2275 expression levels of some muscle growth-related genes. Fish Physiol Biochem 48,
 2276 973–989.
 2277 <https://doi.org/10.1007/s10695-022-01094-0>
 2278 Falahatkar, B., 2012. The metabolic effects of feeding and fasting in beluga *Huso huso*.
 2279 Marine Environmental Research 82, 69–75.
 2280 <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.09.003>
 2281 Gallardo-Collí, A., Pérez-Fuentes, M., Pérez-Rostro, C.I., Hernández-Vergara, M.P.,
 2282 2020a. Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* , L. subjected
 2283 to cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. Aquaculture
 2284 Research 51, 1813–1823. <https://doi.org/10.1111/are.14530>
 2285 Gao, Y., Lee, J.Y., 2012. Compensatory responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*
 2286 under different feed-deprivation regimes. Fisheries and Aquatic Sciences 15, 305–
 2287 311. <https://doi.org/10.5657/FAS.2012.0305>
 2288 García-Robledo, E., Corzo, A., Papaspyrou, S., 2014. A fast and direct
 2289 spectrophotometric method for the sequential determination of nitrate and nitrite at
 2290 low concentrations in small volumes. Marine Chemistry 162, 30–36.
 2291 <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.03.002>
 2292 Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F. P.; Hall, E.; Brosious, E., 1971. Reproducibility in the
 2293 Hematology Laboratory: The Microhematocrit Determination. American Journal of
 2294 Clinical Pathology 56, 35–39.

2295 Gorban, A.N., Pokidysheva, L.I., Smirnova, E. V., Tyukina, T.A., 2011. Law of the
 2296 Minimum Paradoxes. Bulletin of Mathematical Biology 73, 2013–2044.
 2297 <https://doi.org/10.1007/S11538-010-9597-1/METRICS>

2298 Holanda, M., Wasielesky, W., de Lara, G.R., Poersch, L.H., 2022. Production of Marine
 2299 Shrimp Integrated with Tilapia at High Densities and in a Biofloc System:
 2300 Choosing the Best Spatial Configuration. Fishes 2022, Vol. 7, Page 283 7, 283.
 2301 <https://doi.org/10.3390/FISHES7050283>

2302 Hornick, J.L., Van Eenae, C., Gérard, O., Dufrasne, I., Istasse, L., 2000. Mechanisms
 2303 of reduced and compensatory growth, in: Domestic Animal Endocrinology.
 2304 Elsevier, pp. 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(00\)00072-2](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(00)00072-2)

2305 Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., Smith, S.A., 2000. Hematology and Plasma Chemistry
 2306 Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). Veterinary
 2307 Clinical Pathology 29, 7–12. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x>

2308 Jobling, M., 1983. Effect of feeding frequency on food intake and growth of Arctic
 2309 charr, *Salvelinus alpinus* L. Journal of Fish Biology 23, 177–185.
 2310 <https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.1983.TB02892.X>

2311 Khanjani, M.H., Sharifinia, M., 2020. Biofloc technology as a promising tool to
 2312 improve aquaculture production. Reviews in Aquaculture 12, 1836–1850.
 2313 <https://doi.org/10.1111/raq.12412>

2314 Khanjani, M.H., Sharifinia, M., Hajirezaee, S., 2022. Recent progress towards the
 2315 application of biofloc technology for tilapia farming. Aquaculture 552, 738021.
 2316 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738021>

2317 Khanjani, M.H., Mozanzadeh, M.T., Sharifinia, M., Emerenciano, M.G.C., 2023.
 2318 Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional

2319 properties. Aquaculture 562, 738757.
 2320 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738757>
 2321 Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., Wasielesky, W., 2014. The
 2322 Reuse of Water on the Culture of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* , in
 2323 BFT System. Journal of the World Aquaculture Society 45, 3–14.
 2324 <https://doi.org/10.1111/jwas.12093>
 2325 Lara, G., Hostins, B., Bezerra, A., Poersch, L., Wasielesky, W., 2017. The effects of
 2326 different feeding rates and re-feeding of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc culture
 2327 system. Aquacultural Engineering 77, 20–26.
 2328 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.02.003>
 2329 Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., Donaldson, E.M., 1977. Primary and Secondary Effects
 2330 of Stress in Fish: Some New Data with a General Review. Transactions of the
 2331 American Fisheries Society 106, 201–212.
 2332 [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1977\)106<201:paseos>2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1977)106<201:paseos>2.0.co;2)
 2333 Mohlman, F.W., 1934. The sludge index. Sewage Works Journal 6, 119–122.
 2334 <https://doi.org/10.2307/25028375>
 2335 NRC, N.R.C., 2011. Nutrients requirements of fish and shrimp. The National
 2336 Academies Press, Washington, D.C.
 2337 Oliveira-Júnior, A.A., Tavares-Dias, M., Marcon, J.L., 2009. Biochemical and
 2338 hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa*
 2339 (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. Research
 2340 in Veterinary Science 86, 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.015>
 2341 Oliveira, L.K., Pilz, L., Furtado, P.S., Ballester, E.L.C., Bicudo, Á.J. de A., 2021.

2342 Growth, nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile
 2343 tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates.
 2344 Aquaculture 541. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736830>

2345 Oliveira, L.K., Wasielesky, W., Tesser, M.B., 2022. Fish culture in biofloc technology
 2346 (BFT): Insights on stocking density carbon sources, C/N ratio, fish nutrition and
 2347 health. Aquaculture and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.08.010>

2348 Poli, M.A., Legarda, E.C., de Lorenzo, M.A., Martins, M.A., do Nascimento Vieira, F.,
 2349 2019. Pacific white shrimp and Nile tilapia integrated in a biofloc system under
 2350 different fish-stocking densities. Aquaculture 498, 83–89.
 2351 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.045>

2352 Py, C., Elizondo-González, R., Peña-Rodríguez, A., 2022. Compensatory growth:
 2353 Fitness cost in farmed fish and crustaceans. Reviews in Aquaculture 14, 1389–
 2354 1417. <https://doi.org/10.1111/raq.12656>

2355 Rego, M.A.S., Sabbag, O.J., Soares, R., Peixoto, S., 2017. Financial viability of
 2356 inserting the biofloc technology in a marine shrimp *Litopenaeus vannamei* farm: a
 2357 case study in the state of Pernambuco, Brazil. Aquaculture International 25, 473–
 2358 483. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0044-7>

2359 Rios, F.S., Kalinin, A.L., Rantin, F.T., 2002. The effects of long-term food deprivation
 2360 on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*.
 2361 Journal of Fish Biology 61, 85–95. [https://doi.org/10.1111/J.1095-](https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.2002.TB01738.X)
 2362 [8649.2002.TB01738.X](https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.2002.TB01738.X)

2363 Robles-Porchas, G.R., Gollas-Galván, T., Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova,
 2364 L.R., Miranda-Baeza, A., Vargas-Albores, F., 2020. The nitrification process for
 2365 nitrogen removal in biofloc system aquaculture. Reviews in Aquaculture 12, 2228–

2366 2249. <https://doi.org/10.1111/raq.12431>

2367 Rocha, J.V., Silva, J.F., Barros, C., Peixoto, S., Soares, R., 2019. Compensatory growth
 2368 and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding
 2369 restriction in a biofloc system. Aquaculture Research 50, 3653–3662.
 2370 <https://doi.org/10.1111/are.14323>

2371 Sakyi, M.E., Cai, J., Tang, J., Xia, L., Li, P., Abarike, E.D., Kuebutornye, F.K.A., Jian,
 2372 J., 2020. Short term starvation and re-feeding in Nile tilapia (*Oreochromis*
 2373 *niloticus*, Linnaeus 1758): Growth measurements, and immune responses.
 2374 Aquaculture Reports 16. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2019.100261>

2375 Salam, A., Davies, P.M.C., 1994. Body composition of northern pike (*Esox lucius* L.) in
 2376 relation to body size and condition factor. Fisheries Research 19, 193–204.
 2377 [https://doi.org/10.1016/0165-7836\(94\)90038-8](https://doi.org/10.1016/0165-7836(94)90038-8)

2378 Serafim-Júnior, M., Perbiche-Neves, G., de Brito, L., Ghidini, A.R., Casanova, S.M.C.,
 2379 2010. Variação espaço-temporal de Rotífera em um reservatório eutrofizado no sul
 2380 do Brasil. Iheringia. Série Zoologia 100, 233–241.
 2381 <https://doi.org/10.1590/S0073-47212010000300008>

2382 Smith, P., Coackley, P., 1984. Diffusivity, tortuosity and pore structure of activated
 2383 sludge. Water Research 18, 117–122. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(84\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(84)90056-3)

2384 Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A Practical Handbook of seawater analysis, 2nd
 2385 ed, Fisheries research board of Canada. Ottawwa.

2386 Tavares-Dias, M., 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes
 2387 cultivados, in: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.. (Ed.), Aquicultura No Brasil:
 2388 Novas Perspectivas Volume 1 Aspectos Biológicos, Fisiológicos e Sanitários de

2389 Organismos Aquáticos. Pedro & João, São Carlos.

2390 Thongprajukaew, K., Rodjaroen, S., 2017. Intermittent feeding induces compensatory
 2391 growth of juvenile yellow mystus (*Hemibagrus nemurus*). Aquatic Living
 2392 Resources 30. <https://doi.org/10.1051/alr/2017001>

2393 Trichet, V.V., 2010. Nutrition and immunity: An update. Aquaculture Research 41,
 2394 356–372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02374.x>

2395 Turker, H., Eversole, A.G., Brune, D.E., 2003. Filtration of green algae and
 2396 cyanobacteria by Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in the Partitioned
 2397 Aquaculture System. Aquaculture 215, 93–101. [https://doi.org/10.1016/S0044-](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00133-3)
 2398 [8486\(02\)00133-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00133-3)

2399 Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik.
 2400 SIL Communications, 1953-1996 9, 1–38.

2401 <https://doi.org/10.1080/05384680.1958.11904091>

2402 Volpato, G.L., Frioli, P.M.A., Carrieri, M.P., 1989. Heterogeneous growth in fishes:
 2403 Some new data in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, and a general view about
 2404 the causal mechanisms. Boletim de Fisiologia Animal 13, 7–22.

2405 Vosylienė, M.Z., 1999. The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish
 2406 (Survey). Acta Zoologica Lituanica 9, 76–82.

2407 <https://doi.org/10.1080/13921657.1999.10512290>

2408 Wintrobe, M.M., 1934. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes
 2409 in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica 51, 32–49.

2410 Yarmohammadi, M., Pourkazemi, M., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Hassanzadeh
 2411 Saber, M., Azizzadeh, L., Saber, M.H., Azizzadeh, L., 2015. Effects of starvation

2412 and re-feeding on some hematological and plasma biochemical parameters of
2413 juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus* Borodin, 1897. Caspian Journal of
2414 Environmental Sciences 13, 129–140.

2415 Yuvarajan, P., 2021. Study on flocc characteristics and bacterial count from
2416 biofloc-based genetically improved farmed tilapia culture system. Aquaculture
2417 Research 52, 1743–1756. <https://doi.org/10.1111/are.15030>

2418 Zar, J.H., 2010. Biostatistical Analysis, 5th ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey.

2419 **ANEXO I - TABELAS**

2420

2421 Tabela 1 – Parâmetros físico e químicos de qualidade de água na criação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)
 2422 com diferentes regimes alimentares em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Parâmetros	Regime alimentar					<i>p</i> -valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
T (°C)	27.2±0.15	27.3±0.05	27.3±0.03	27.3±0.06	27.3±0.01	0.1226
DO (mg/L)	6.22±0.11	6.22±0.08	6.16±0.05	6.24±0.01	6.36±0.13	0.2252
pH	7.84±0.03	7.83±0.03	7.90±0.05	7.94±0.09	7.97±0.06	0.1445
N – NH ₄ (mg/L)	0.14±0.02	0.11±0.02	0.12±0.02	0.11±0.00	0.11±0.01	0.1648
N – NO ₂ (mg/L)	1.96±1.25	1.80±1.02	1.81±0.40	2.03±0.51	1.81±0.85	0.9953
N – NO ₃ (mg/L)	67.42±3.00 ^a	60.58±9.79 ^{ab}	58.17±2.25 ^{ab}	48.58±1.26 ^b	48.58±1.26 ^b	0.0026
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	120.05±4.65 ^{ab}	116.33±2.52 ^{ab}	115.00±11.36 ^b	129.72±6.59 ^{ab}	137.72±11.75 ^a	0.0306
P – PO ₄ ³⁻ (mg/L)	4.52±0.14	4.39±0.40	4.53±0.10	4.25±0.13	4.19±0.41	0.4715
Salinidade	17.33±0.81	17.17±0.49	16.93±0.81	16.80±0.87	17.05±0.93	0.5915

2423 *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2424

2425

2426 Tabela 2 – Características dos bioflocos na criação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com
 2427 diferentes regimes alimentares durante 28 dias.

Parâmetros	Regime alimentar					<i>p</i> -valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
SST (mg/L)	232.50±26.01 ^a	196.87±9.72 ^{ab}	153.33±7.32 ^{bc}	128.42±11.62 ^c	126.87±11.49 ^c	0.0001
SS (ml/L)	8.08±0.63 ^a	6.31±1.32 ^{ab}	6.54±0.69 ^a	4.08±0.88 ^b	1.00±0.53 ^c	0.0001
Porosidade (%)	99.25±0.26 ^b	99.35±0.31 ^b	99.38±0.28 ^b	99.57±0.19 ^a	99.81±0.17 ^a	0.0001
FVI (ml/g)	31.97±7.89 ^{ab}	31.13±17.47 ^{ab}	40.48±23.34 ^a	32.69±17.14 ^{ab}	16.15±14.56 ^b	0.0237
IDF (g/100ml)	3.30±0.76	5.28±4.98	3.99±3.71	4.94±4.60	12.31±15.56	0.2536

2428 *SST – Sólidos suspensos totais; SS – sólidos sedimentáveis; FVI –Índice do volume do floco; IDF – Índice de densidade do floco.

2429 ** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2430

2431

2432

2433

2434

2435

2436 Tabela 3 – Performance produtiva de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos com diferentes regimes alimentares em sistema
2437 de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Parâmetros	Regime alimentar					<i>p</i> - valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
PMI (g)	4.39±0.00	4.39±0.00	4.39±0.00	4.39±0.00	4.39±0.00	0.6400
PMF (g)	19.18±2.80 ^a	15.53±0.60 ^a	10.19±0.16 ^b	7.21±0.12 ^{bc}	3.71±0.03 ^c	<.0001
GPM (g)	14.79±2.80 ^a	11.14±0.60 ^a	5.80±0.16 ^b	2.82±0.12 ^{bc}	-0.67±0.03 ^c	<.0001
GB (g)	407.69±99.93 ^a	299.32±54.11 ^{ab}	164.69±4.71 ^{bc}	77.38±3.60 ^{cd}	-33.22±3.54 ^d	0.0001
CTC	0.40±0.06 ^a	0.32±0.04 ^a	0.21±0.01 ^b	0.11±0.01 ^b	-0.06±0.01 ^c	<.0001
SOB (%)	94.44±6.94	93.33±9.43	97.78±1.92	96.67±0.00	88.33±2.36	0.5007
PRD (kg.m ⁻³)	3.60±0.67 ^a	2.87±0.36 ^{ab}	1.98±0.03 ^{bc}	1.40±0.02 ^{cd}	0.65±0.02 ^d	0.0001
DF (peixe.m ⁻³)	188.89±13.88	186.67±18.86	195.55±3.85	193.33±0.00	176.67±4.71	0.6141
UNI (%)	67.33±7.37 ^d	56.50±9.19 ^{cd}	76.00±4.00 ^{bc}	86.33±3.51 ^{ab}	96.00±0.00 ^a	0.0006
CA(%px/dia)	3.65±0.83 ^{ab}	4.29±1.02 ^a	2.44±0.14 ^{bc}	1.55±0.04 ^c	nc	0.0049
EA	1.21±0.30	0.91±0.17	1.07±0.04	1.02±0.06	nc	0.2632
TAA (%)	3.63±0.51	5.59±0.58	5.11±0.13	6.33±0.17	nc	0.2246

2438

2439 * PMI – Peso médio inicial; PMF – Peso médio final; GPM – Ganho de peso médio; GB – Ganho de biomassa; CTC – Coeficiente térmico de crescimento;
2440 SOB – Sobrevivência; PRD – Produtividade; DF – Densidade Final; UNI – Uniformidade do lote; CA – Consumo de alimento; EA – Eficiência alimentar;
2441 TAA – Taxa de alimentação aparente.

2442 ** nc – não calculado

2443 *** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2444 Tabela 4 – Condição corporal de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos com diferentes regimes alimentares em sistema de
2445 bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Índices	Regime alimentar					p-valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
IHS (%)	3.07±1.11 ^a	1.29±0.31 ^b	0.72±0.26 ^c	0.60±0.22 ^{cd}	0.43±0.18 ^d	<0.0500
IVS (%)	11.40±1.78	10.02±1.87	9.76±1.99	10.70±1.95	10.07±1.55	0.0800
IMC (g/cm ²)	0.19±0.02 ^a	0.17±0.01 ^b	0.13±0.01 ^c	0.11±0.01 ^d	0.09±0.01 ^e	0.0001
FC	1.43±0.17 ^a	1.22±0.12 ^b	0.85±0.15 ^c	0.54±0.19 ^d	-0.37±0.18 ^e	0.0001

2446 * IHS – Índice hepatossomático; IVS – Índice viscerossomático; IMC – Índice de massa corpórea; FC – Fator de condição.

2447 ** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

2448

2449 Tabela 5 - Composição química (base da matéria natural) do corpo inteiro de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos com
2450 diferentes regimes alimentares em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Nutrientes	PI	Regime alimentar					p-valor
		0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
PB (%)	14.62±0.10	16.16±1.35 ^a	15.88±1.79 ^a	13.66±1.37 ^{ab}	14.11±0.18 ^{ab}	11.67±0.61 ^b	0.0199
EE (%)	3.24±0.28	4.74±1.17	4.82±0.73	1.75±0.40	1.48±0.21	1.43±0.22	0.0526
CZ (%)	3.65±0.07	4.31±0.21 ^b	5.83±0.08 ^a	5.41±0.12 ^a	6.43±0.05 ^a	6.27±0.93 ^a	0.0006
UM (%)	79.25±0.02	74.78±2.65 ^{bc}	73.47±2.60 ^c	79.18±1.75 ^{ab}	77.99±0.26 ^{abc}	80.62±0.09 ^a	0.0151
EB (kcal kg ⁻¹)	1131.7±29.9	1360.4±184.1 ^a	1352.3±170.0 ^a	937.1±107.5 ^b	936.4±24.8 ^b	794.5±55.9 ^b	0.0026

2457 * PB – Proteína bruta; EE – Extrato etéreo; CZ – Cinzas; UM – Umidade; EB – Energia bruta; PI – População inicial.

2458 ** Energia bruta foram calculados utilizando os valores fisiológicos padrão: 5.64 kcal/g de proteína, 4.11 kcal/g de carboidratos e 9.44 kcal/g de lipídios
2459 (NRC, 2011).

2460 *** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

2461 Tabela 6 - Composição química (base da matéria seca) dos bioflocos da criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em
 2462 diferentes regimes alimentares durante 28 dias.

Nutrientes	Regime alimentar					<i>p</i> -valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
PB (%)	33.27±4.06 ^a	29.60±3.37 ^{ab}	24.00±2.77 ^{bc}	23.77±0.60 ^{bc}	21.03±0.29 ^c	0.0139
EE (%)	2.05±0.19 ^{ab}	1.95±0.31 ^{ab}	2.86±0.48 ^a	1.72±0.51 ^b	2.42±0.26 ^{ab}	0.0451
CZ (%)	33.19±0.11	34.79±2.86	36.04±0.71	37.74±4.64	39.06±5.07	0.3461
UM (%)	93.79±0.34	94.23±0.58	92.09±1.20	93.89±0.12	93.71±0.19	0.6192
ENN (%)	31.48±4.30	33.66±4.13	35.62±1.47	36.40±6.77	37.41±4.95	0.6263
EB (kcal kg ⁻¹)	3367.9±64.9	3240.±121.9	3173.0±43.3	3011.3±284.5	2958.8 ±200.6	0.1001

2463 * PB – Proteína bruta; EE – Extrato etéreo; CZ – Cinzas; UM – Umidade; EB – Energia bruta; ENN– Extrato não nitrogenado.

2464 ** Energia bruta foram calculados utilizando os valores fisiológicos padrão: 5.64 kcal/g de proteína, 4.11 kcal/g de carboidratos e 9.44 kcal/g de lipídios
 2465 (NRC, 2011).

2466 *** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

2467

2468

2469

2470

2471 Tabela 7 – Série eritrocitária de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar
 2472 sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Parâmetros	Regime alimentar					<i>p</i> -valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
HCT (%)	36,00±4,82 ^a	30,77±2,03 ^{ab}	25,37±1,46 ^{bc}	23,00±0,87 ^{bc}	18,40±0,85 ^c	0,0006
Eri (10 ⁶ /μL)	1,82±0,24 ^a	1,69±0,27 ^{ab}	1,74±0,17 ^a	1,74±0,51 ^a	0,69±0,01 ^b	0,0257
Hb (g/dL)	9,05±0,33 ^a	6,26±1,38 ^{ab}	5,94±1,71 ^b	5,42±0,65 ^b	2,64±0,08 ^b	0,0020
VCM (fL)	192,54±10,53 ^{ab}	197,75±22,86 ^a	149,06±15,47 ^b	179,25±10,84 ^{ab}	168,77±7,78 ^{ab}	0,0419
HCM (pg)	55,24±13,35	37,66±4,26	36,48±8,24	34,84±7,59	34,15±5,30	0,1058
CHCM (g/dL)	26,07±4,20	18,58±5,67	25,88±8,15	24,50±5,38	14,74±1,40	0,2213

2473 * HCT – Hematócrito; Eri – Eritrócitos; Hb – Hemoglobina; VCM – Volume corpuscular médio; HCM – Hemoglobina corpuscular média;
 2474 CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média.

2475 ** Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2476

2477

2478

2479

2480

2481 Tabela 8 – Série leucocitária de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar
 2482 sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

Células (μ L)	Regime alimentar					<i>p</i> -valor
	0SW	1SW	2SW	3SW	4SW	
MON	3491,62 $\pm$ 1461,79	2477,44 $\pm$ 397,26	4299,81 $\pm$ 3612,03	3416,81 $\pm$ 1409,81	735,91 $\pm$ 145,35	0,4668
LIN	7959,60 $\pm$ 4144,24	7069,01 $\pm$ 5401,47	9128,23 $\pm$ 6735,65	7329,83 $\pm$ 4636,82	3629,91 $\pm$ 279,63	0,8111
EOS	691,25 $\pm$ 640,08	724,03 $\pm$ 813,88	179,23 $\pm$ 195,04	360,76 $\pm$ 624,86	0,00 $\pm$ 0,00	0,5678
BAS	148,19 $\pm$ 128,74	0,00 $\pm$ 0,00	60,76 $\pm$ 105,24	387,88 $\pm$ 671,83	37,34 $\pm$ 52,81	0,6559
NEU	3020,31 $\pm$ 1743,57	2112,36 $\pm$ 291,35	1958,16 $\pm$ 374,16	2739,43 $\pm$ 874,00	1642,11 $\pm$ 932,78	0,5773
Células imaturas	1518,343 $\pm$ 691,89	695,107 $\pm$ 34,90	786,08 $\pm$ 304,44	1609,07 $\pm$ 318,30	777,08 $\pm$ 319,72	0,0914

2483 *MON – Monócitos; LIN – Linfócitos; EOS – Eosinófilos; BAS – Basófilos; NEU – Neutrófilos.

2484

2485

2486

2487

2488

ANEXO II - FIGURAS

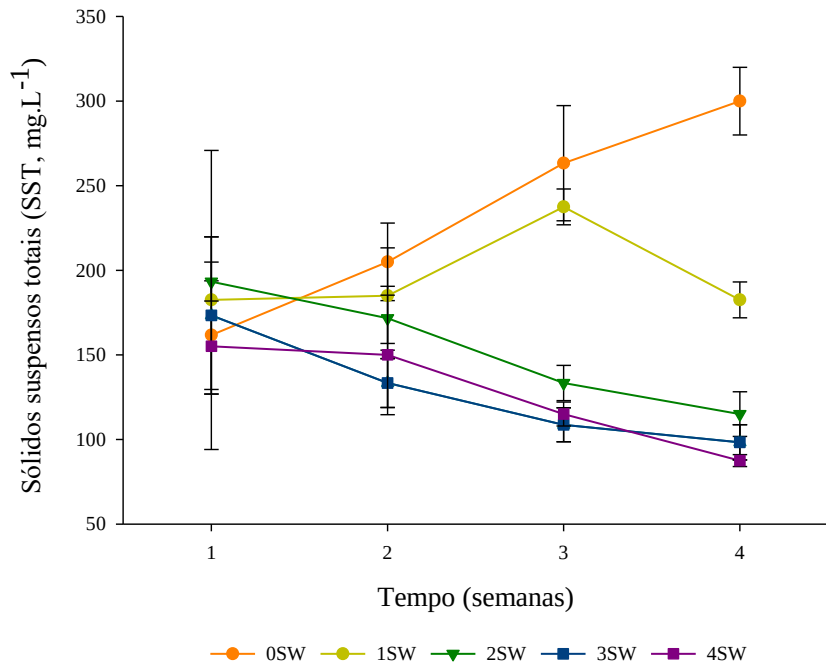


Figura 1 – Comportamento dos sólidos suspensos totais (SST) na criação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com diferentes regimes alimentares em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

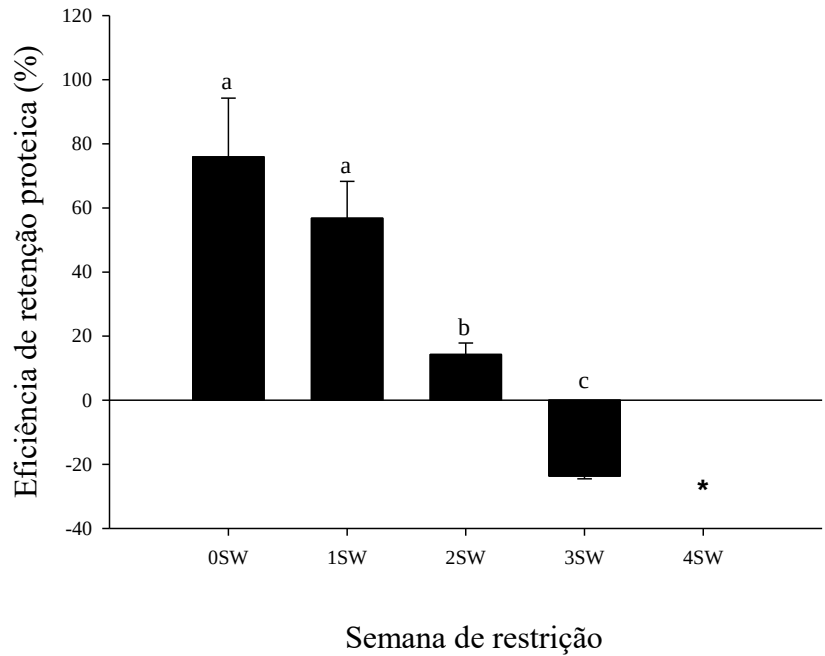


Figura 2 – Eficiência de retenção de proteína de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos com diferentes regimes alimentares em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

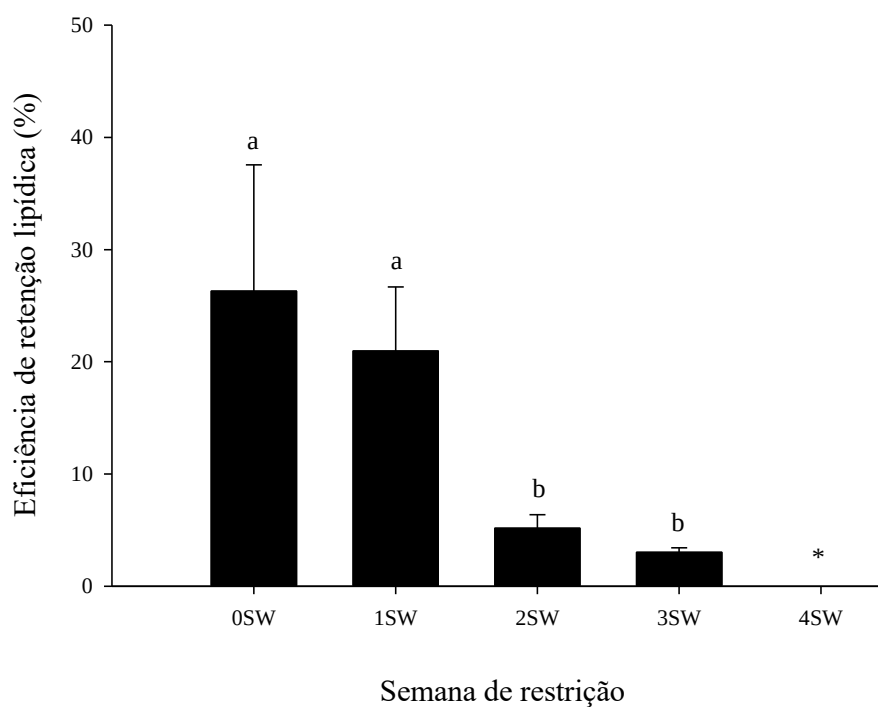


Figura 3 – Eficiência de retenção de lipídeos em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidos com diferentes regimes alimentares em sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

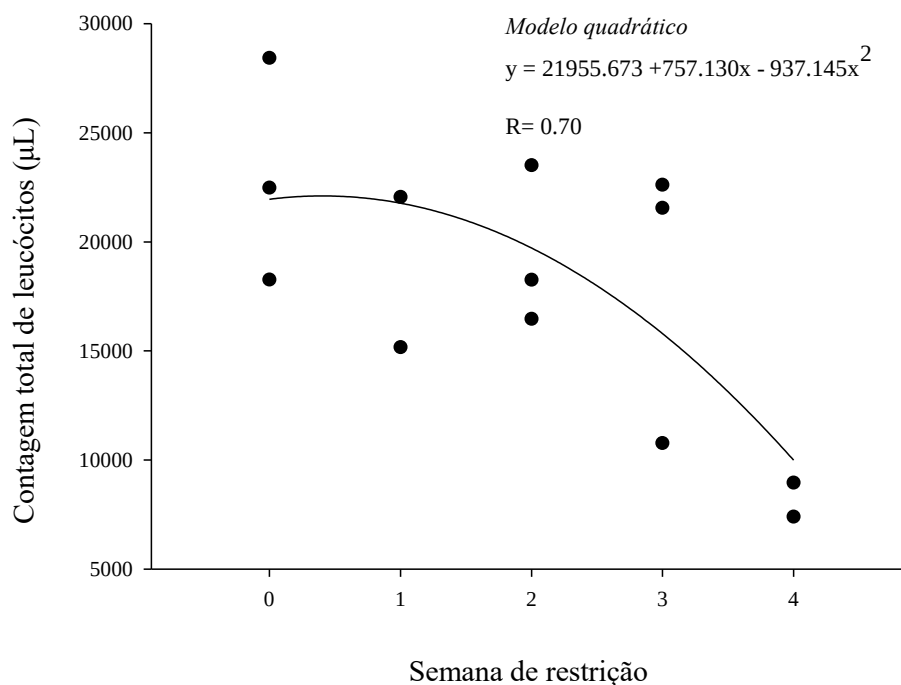


Figura 4 – Contagem total de leucócitos em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

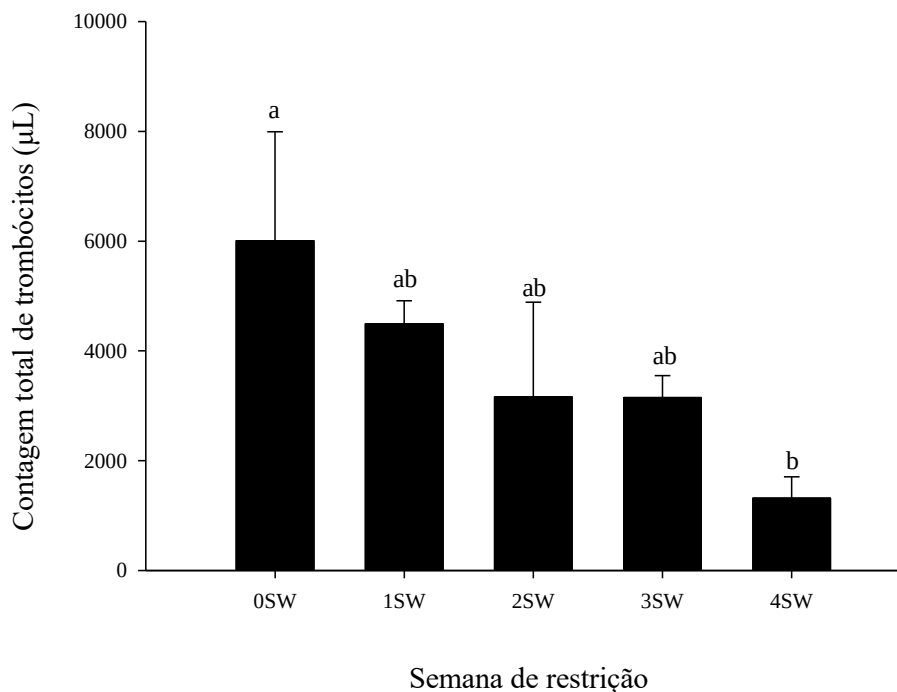


Figura 5 – Contagem total de trombócitos em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias

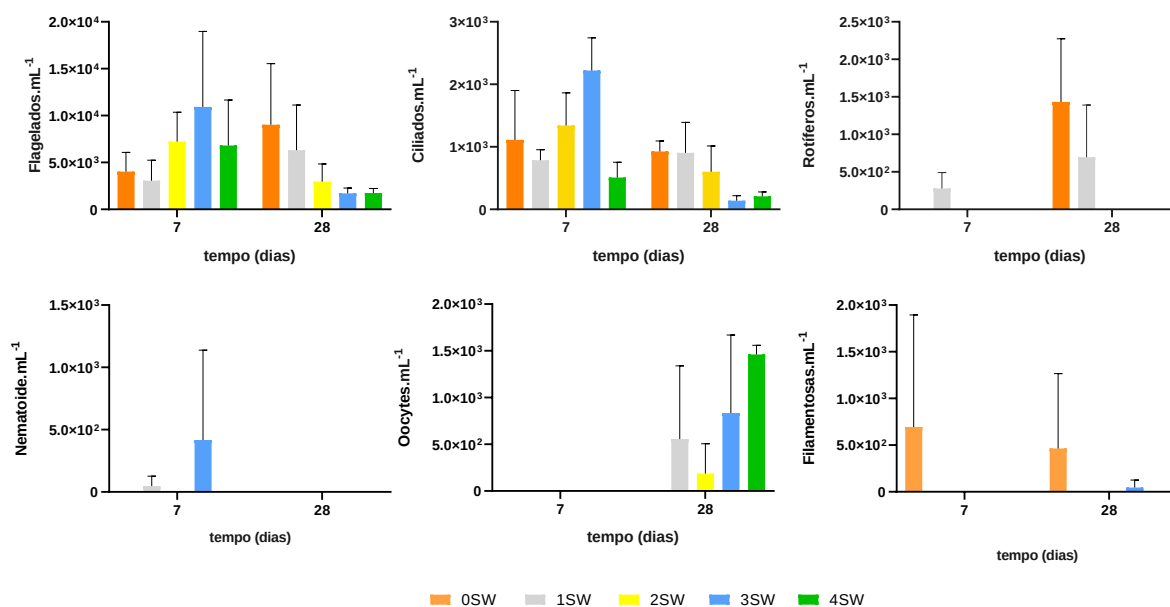


Figura 6 – Variação da abundância (média±desvio) dos grupos de microrganismos na criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

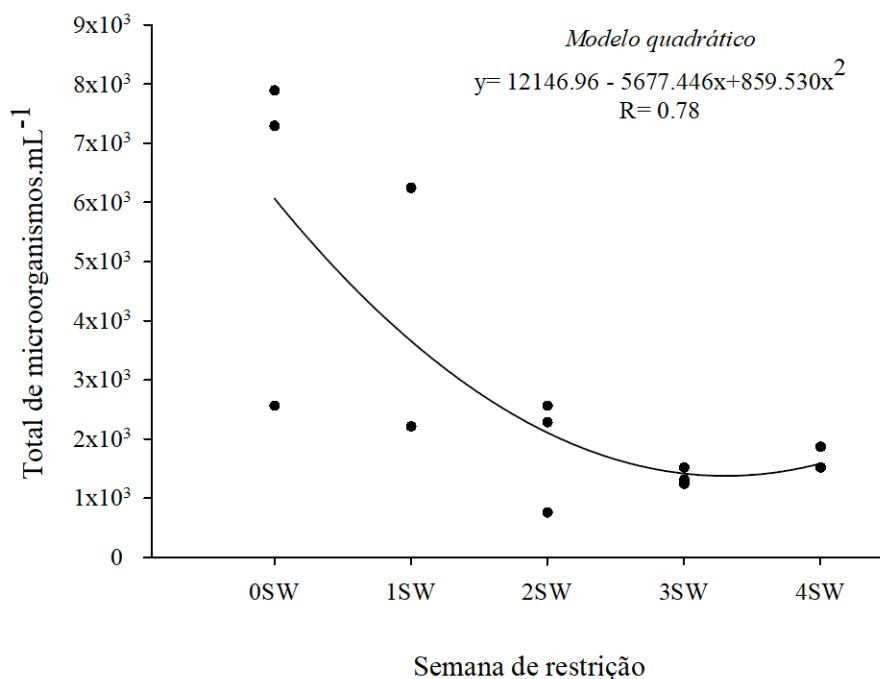


Figura 7 – Total de microrganismos na criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar sistema de bioflocos (BFT) ao final dos 28 dias de ensaio.

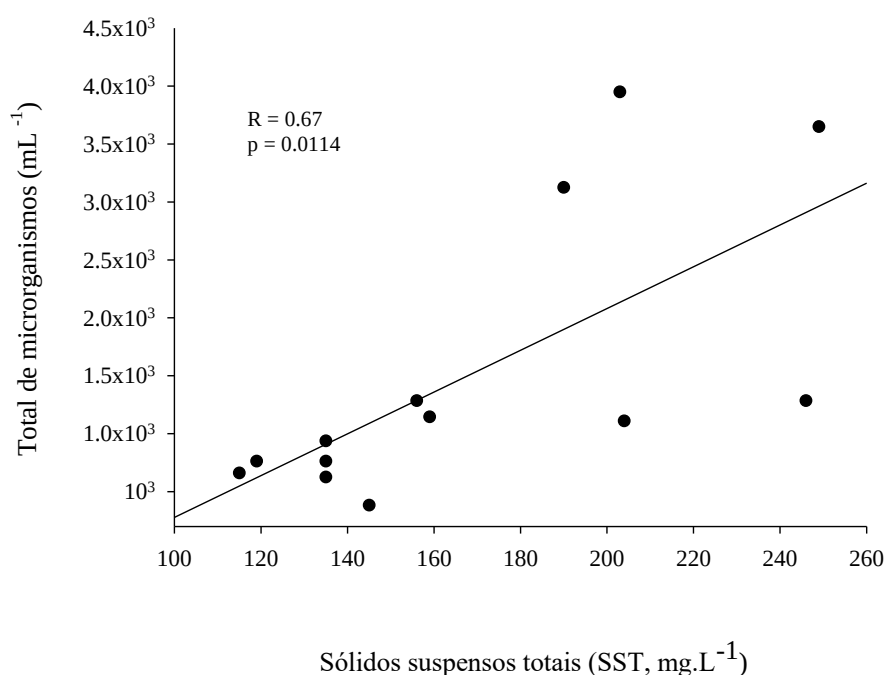


Figura 8 – Correlação entre quantidade total de microrganismos e concentração de sólidos suspensos totais (SST) na criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes períodos de privação alimentar sistema de bioflocos (BFT) durante 28 dias.

CAPÍTULO III

Os bioflocos são capazes de sustentar o crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos à restrição alimentar cíclica?

Luciana Kelly Oliveira^a, Dariano Krumennauer^b, Wilson Wasielesky^c, & Marcelo Borges Tesser ^{a *}

^a Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil

^b Laboratório de Ecologia de microrganismos Aplicado a Aquicultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG – C.P. 474, (RS) CEP 96201-900, Rio Grande, Brasil

^c Laboratório de Carcinocultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG - Rua do Hotel, 02 – Cassino – 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil

*Corresponding author:

E-mail address: mbtesser@gmail.com (Marcelo Borges Tesser)

Highlights

- A restrição de alimento inerte uma vez por semana reduziu a ingestão total de ração, mas não na sobrevivência e no crescimento dos juvenis de tilápia.
- Ciclos de 4 e 5 dias de alimentação por semana resultaram em crescimento compensatório parcial, próximo ao total.
- O nível de proteína dos bioflocos influência diretamente o grau de compensação.

Resumo

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da restrição alimentar cíclica (3, 4, 5, 6 e 7 dias de alimentação semanalmente) na performance no berçário de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos (BFT) durante 77 dias. Um total de 1500 peixes ($0,42 \pm 0,02$ g) foram distribuídos aleatoriamente em 15 unidades experimentais (400L). O crescimento dos animais foi influenciado pelos ciclos de alimentação com diferentes restrições ($P < 0,05$), mas não a sobrevivência e densidade final ($P > 0,05$), as quais permaneceram em torno de 94% e 235 peixes.m⁻³, respectivamente. Juvenis alimentados 6 dias por semana apresentaram maior eficiência na utilização do alimento ($P < 0,05$), enquanto animais alimentados três dias por semana (mais restritos) apresentaram hiperfagia, mas não expressaram crescimento compensatório. Os parâmetros de qualidade de água permaneceram dentro dos limites aceitáveis para a espécie, e para a operação do sistema. Os regimes de alimentação exerceram influência nas características dos bioflocos e na abundância de microrganismos ($P < 0,05$). Nutricionalmente, regimes alimentares menos restritos (6 e 7 dias de alimentação) produziram bioflocos mais proteicos e energéticos ($P < 0,05$), enquanto a proteína, lipídio e energia corporal foram significativamente menores ($P < 0,05$) com a alimentação mais restrita. Nossos resultados, demonstram que a ocorrência de crescimento compensatório total (6 dias de alimentação), representa uma vantagem econômica com a redução de 26,8% de ração, e maior rentabilidade na comercialização unitária de juvenis de tilápia.

Palavras-chave: crescimento compensatório, tecnologia de bioflocos, manejo alimentar, sólidos, comunidade microbiana, inanição.

Abstract

The effects of cyclical feeding restriction (3, 4, 5, 6, and 7 days of feeding per week) on the performance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system (BFT) was evaluate in this study for 77 days. In 15 experimental units (400L) were randomly distributed 1500 fish (0.42 ± 0.02 g). Feeding cycles with different restrictions ($P<0.05$) influenced animal growth but not survival and final density ($P>0.05$), which remained around 94% and 235 fish.m^{-3} , respectively. Juveniles fed six days a week showed greater food utilization efficiency ($P<0.05$), while animals fed three days a week (more restricted) showed hyperphagia but did not express compensatory growth. Water quality parameters remained within acceptable limits for the species and system operation. Feeding regimes influenced the characteristics of bioflocs and the abundance of microorganisms ($P<0.05$). Nutritionally, less restricted diets (6 and 7 days a week) produced more protein and energy bioflocs ($P<0.05$), while protein, lipid, and body energy were significantly lower ($P<0.05$) with the more restricted diet. Our results demonstrate that the occurrence of total compensatory growth (6 days a week) represents an economic advantage with a reduction of 26.8% of feed and greater profitability in the unitary commercialization of tilapia juveniles.

Keywords: compensatory growth, biofloc technology, food management, solids, microbial community, starvation.

1. Introdução

O estudo sobre manejo alimentar é objeto importante para a criação de organismos aquáticos em diferentes sistemas de produção, pois práticas alimentares inapropriadas causam prejuízos à qualidade de água, à sanidade dos organismos e ao custo de alimentação (Chahid et al., 2021; Van Rijn, 2013). As estratégias de alimentação podem ser utilizadas para regular e controlar o desempenho dos peixes (Attia et al., 2012). Uma oferta de alimento equilibrada é a base para o desenvolvimento de um programa de gestão aquícola bem-sucedido. A superalimentação aumenta a carga de nutrientes no sistema piora a qualidade de água, expõe os organismos a ação de patógenos e onera o custo de produção (Gao and Lee, 2012); ao tempo que a oferta insuficiente de alimento causa depressão das taxas de crescimento dos animais (Jafari et al., 2019; Sakyi et al., 2019).

Estratégias de manejo como frequência de alimentação, taxa de arraçoamento e restrição alimentar são ferramentas que auxiliam na redução de custos com a alimentação (Correa et al., 2020; Oliveira et al., 2021; Silva et al., 2020); e quando utilizadas adequadamente promovem melhor aproveitamento dos nutrientes. Benefícios em termos de crescimento e economia de ração podem ser alcançados simulando situações que ocorrem no ambiente natural como a escassez de alimento. O crescimento compensatório é um fenômeno definido como uma fase em que os animais após um período de restrição alimentar parcial ou total exibem crescimento acelerado (Ali et al., 2003). O estudo desse fenômeno ultrapassa o campo teórico, e pode ser aplicado como estratégia de manejo na aquicultura (Jobling et al., 1994). Entretanto, diferentes respostas compensatórias podem estar relacionadas a diferentes protocolos experimentais, condições ambientais e/ou condições fisiológicas dos peixes (Favero et al., 2019; Jafari et al., 2019; McCue, 2010; Nebo et al., 2018).

2703 Com o avanço tecnológico da aquicultura os conhecimentos em manejo de
2704 alimentação necessitam ser avaliados em função da espécie, linhagem, parâmetros
2705 externos e principalmente sistema produtivo. Na aquicultura intensiva tradicional, a
2706 principal fonte de nutrientes é provida por alimentos nutricionalmente completos.
2707 Entretanto, nos sistemas de produção baseados em bioflocos (*Biofloc Technologic*
2708 *System* - BFT) além do alimento inerte fornecido, a alta produção microbiana do sistema
2709 atua como alimento suplementar. Essa comunidade microbiana é gerada a partir da
2710 manipulação da relação carbono/nitrogênio que favorece o surgimento de bactérias
2711 heterotróficas que são geradas pela imobilização da amônia presente no meio. Uma vez
2712 formados, os flocos microbianos podem atuar como suplemento alimentar durante o
2713 ciclo de produção (Dauda, 2020).

2714 Este alimento “*in situ*” pode ser melhor aproveitado por espécies filtradoras e
2715 que ocupam baixa posição na cadeia trófica, como a tilápia do Nilo (*Oreochromis*
2716 *niloticus*) e as tainhas, *Mugil cephalus* e *Mugil liza* (Avnimelech, 2007; Haridas et al.,
2717 2021), especialmente nas fases iniciais de criação. A realização do berçário e pré-recria
2718 em BFT apresenta vantagens interessantes como o incremento nutricional, manutenção
2719 da qualidade da água, menor consumo da água e biossegurança (Khanjani et al., 2022).
2720 A estabilidade conferida pelo sistema BFT, o torna instrumento na melhoria da
2721 eficiência alimentar, na prevenção e menor disseminação de enfermidades importantes
2722 que afetam as criações nos estágios iniciais. Além disso, o sistema BFT pode ser uma
2723 ferramenta importante na produção de juvenis pelos benefícios nutricionais que
2724 encurtam o ciclo de produção ao fornecer animais entre 30 e 50g prontos para a recria
2725 (Manduca et al., 2021; Oliveira et al., 2021). A produção de juvenis é vista como um
2726 importante nicho de mercado para a piscicultura, posto que a disponibilidade desses
2727 animais é essencial para manter a cadeia produtiva em funcionamento. Logo, estudos

sobre os aspectos de manejo alimentar durante a produção de juvenis em sistema BFT são necessários, posto que nessa fase os animais apresentam o maior potencial de aproveitamento dos bioflocos como alimento (Ekasari et al., 2014). Esse estudo objetivou avaliar os efeitos dos ciclos curtos de restrição e realimentação sobre o desempenho de juvenis de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos, e suas implicações sobre a eficiência nutricional, qualidade de água, perfil nutricional dos bioflocos e composição da comunidade microbiana.

2. Material e métodos

2.1 Declaração de Ética

O Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil (Licença nº 003/2020), aprovou previamente todos os procedimentos experimentais.

2.2 Instalações

O experimento foi conduzido na Estação Marinha de Aquacultura da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil. Juvenis de tilápia do Nilo (GIFT) foram obtidos de uma piscicultura local e aclimatados às condições de laboratório por 15 dias antes do ensaio. Durante este período, os peixes foram mantidos em três tanques (1000 L) com aeração contínua e troca diária de água (20% do volume do tanque) e alimentados três vezes ao dia (9h, 13h e 17h) até a aparente saciedade. A composição nutricional da ração comercial (Nutripiscis Starter, Presence®, Brasil) continha (composição analisada; g kg⁻¹): 46,7g de proteína bruta; 5,07 g de extrato etéreo; 3,0 g de fibra bruta; 11,5 g de cinzas; e 4.475,5 kcal kg⁻¹ de energia bruta calculada a partir de valores fisiológicos de combustível (NRC, 2011).

O experimento foi realizado em 15 tanques circulares de 400 L abastecidos com água salobra (15‰) com controle de temperatura ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) por aquecedores submersíveis e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições. Um sistema de ar difuso forneceu aeração às unidades experimentais por uma mangueira microperfurada conectada a um soprador de ar radial de 7,5 HP (IbramTM, São Paulo, Brasil). Para acelerar a formação dos bioflocos, as unidades experimentais foram inoculadas com 40 litros (25% do volume) de bioflocos maduro conforme metodologia descrita por Krummenauer et al. (2014). Com base nos cálculos de Avnimelech (1999) e Ebeling et al. (2006) foi adicionado melaço de cana (37% de carbono) como fonte de carbono para manter a relação C/N de 15:1, assumindo que 6 g de carbono são necessários para converter 1 g de amônia.

2.3 Procedimentos experimentais

Após a aclimação, os peixes ($0,42 \pm 0,02$ g) foram distribuídos aleatoriamente em cada tanque (100 peixes por tanque), equivalente a uma densidade de estocagem de 250 peixes m^{-3} . Os peixes foram submetidos a cinco regimes alimentares (Tabela 1) e alimentados com a mesma ração comercial utilizada durante a aclimação em três refeições diárias (9h, 13h e 17h) até saciedade aparente por 77 dias.

2.4 Qualidade da água

O oxigênio dissolvido, a temperatura (Handy Polaris, OxyGuardTM, Dinamarca) e o pH (Seven2Go, Mettler ToledoTM, Brasil) foram verificados diariamente pela manhã em cada tanque. Amônia (UNESCO, 1983), nitrito (Aminot e Chaussepied, 1983) e alcalinidade (APHA, 2012) foram monitorados duas vezes por semana.

2774 Finalmente, salinidade (RTP-20ATC, ATC™, Brasil), nitrato (García-Robledo et al.,
2775 2014) e fosfato (Aminot e Chaussepied, 1983) foram analisados semanalmente.

2776 2.5 Características do bioflocos

2777 Os sólidos suspensos totais (Strickland e Parsons, 1972), os sólidos
2778 sedimentáveis (APHA, 2012), e a turbidez (2100P, HACH™, Portugal) foram
2779 monitorados duas vezes por semana. Com base nesses dados, foi calculado pelo método
2780 de Smith e Coackley (1984) da seguinte forma: Porosidade (%) = $(1 - \text{sólidos}$
2781 $\text{sedimentados/volume de água}) \times 100$. A porosidade do floco significa espaços em
2782 flocos que se envolveram com sólidos de água. O índice de volume do floco (IVF) foi
2783 medido por Mohlman (1934) seguindo a fórmula: IVF (ml/g) = sólidos em
2784 sedimentação (ml)/sólidos suspensos totais (g). De acordo com o centro de referência
2785 internacional da Organização Mundial da Saúde (1978), o índice de densidade do floco
2786 (IDF) foi calculado usando a seguinte fórmula: $IDF = 100/IVF$.

2787 2.6 Análise do crescimento dos peixes

2788 Os peixes foram mantidos em jejum de alimento inerte por 24 horas,
2789 anestesiados com benzocaína a 50 mg L⁻¹), contados, pesados e medidos ao final do
2790 experimento para determinação dos seguintes parâmetros de desempenho:

2791 Ganho de peso = (peso final – peso inicial)

2792 Unidade Térmica de Crescimento = $[(\text{peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}) / (\text{temperatura da}$
2793 $\text{água} \times \text{dias de experimento})] \times 100$

2794 Taxa de sobrevivência (%) = $[(\text{número final de peixes} - \text{número inicial de peixes}) /$
2795 $\text{número inicial de peixes}] \times 100$

2796 Produtividade = (biomassa final/volume de água) $\times 1000$

2797 Densidade final = número final de peixe/volume de água

2798 Eficiência alimentar = (peso final – peso inicial) / consumo total de ração

2799 Taxa de alimentação (%) = [(consumo total de ração/dias de alimentação) / ((peso final

2800 + peso inicial) /2)] × 100

2801 Consumo diário de ração (%) = consumo de ração / [(peso inicial do peixe + peso final

2802 do peixe) × dias alimentados / 2]} × 100

2803 Índice hepatossomático (%) = (peso do fígado/peso corporal total) × 100

2804 Índice viscerossomático (%) = (peso das vísceras/peso corporal total) × 100

2805 Índice de lipossomático (%) = (peso da gordura visceral/peso corporal total) × 100

2806 Índice de massa corporal (g/cm²) = peso corporal total/ comprimento total²

2807 Fator de condição = peso final/ (comprimento total³) × 100

2808 Retenção da eficiência proteica (%) = (peso final × proteína corporal final) – (peso

2809 inicial × proteína corporal inicial) × 100/ ingestão de proteína

2810 Uma possível compensação (em termos de ganho de peso) pelos peixes foi

2811 estimada por um coeficiente de compensação em peso (CC) = $\Delta T / \Delta C$, onde ΔT = ganho

2812 de peso médio por grupo de tratamento/número de dias de alimentação, ΔC = ganho de

2813 peso médio pelo grupo controle/número de dias de alimentação; CC > 1 indicaria

2814 compensação (Mattila et al., 2009).

2815 **2.7 Análise de composição química**

2816 Cem peixes da população inicial foram coletados aleatoriamente e eutanasiados

2817 (com benzocaína a 100 mg L⁻¹), triturados e congelados para posterior análise. A

2818 composição aproximada de corpo inteiro, bioflocos e dieta foi analisada de acordo com

2819 a AOAC (2007). O método Kjeldahl (MA-036, Marconi™, Brasil) foi utilizado para

determinar o teor de proteína bruta, e o método Soxhlet (MA-487, Marconi™, Brasil) foi usado para estimar o teor de lipídeo bruto. A cinza determinada por queima simples foi em mufla (MA-385, Marconi™, Brasil) a 600 °C por 5 horas, e a umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa de ar forçado (MA-035/3, Marconi™, Brasil) a 105 °C até peso constante. Finalmente, a energia bruta foi calculada a partir dos valores fisiológicos do combustível (NRC, 2011).

2.8 Abundância de microrganismos

Amostras de água do cultivo (10mL) foram coletadas ao final da primeira semana (dia 7), na quinta semana (dia 35) e na décima primeira semana (dia 77) do experimento, e então fixadas em formol a 4% para a contagem de protozoários e outros organismos. Alíquotas das amostras foram colocadas em câmara de sedimentação, e levadas ao microscópio invertido (IX51, Olympus™) com magnificação final de 200×, onde 30 campos aleatórios foram contados de acordo com Utermöhl (1958).

2.9 Análise econômica

Foi avaliada a viabilidade econômica da produção de juvenis de tilápia sob diferentes estratégias de restrição alimentar, assim como a economia alimentar durante o período experimental. As análises econômicas foram realizadas considerando apenas os custos de alimentação da seguinte forma:

$\text{Custo da ração (US$.Kg}^{-1}) = (\text{preço da ração} \times \% \text{ consumo de ração})$

$\text{Custo de alimentação (US\$)} = (\text{custo de alimentação} \times \text{taxa de conversão alimentar})$

$\text{TCA econômica} = (\text{preço da ração} \times \text{taxa de conversão alimentar})$

$\text{Receita bruta (US\$)} = (\text{juvenis produzidos} \times \text{preço unitário dos juvenis})$

$\text{Margem de lucro bruto} = (\text{receita bruta} - \text{custo de alimentação})$

Rentabilidade (%) = (Margem de lucro bruto/Custo de alimentação) × 100

O preço do juvenil foi realizado conforme proposto por Oliveira et al. (2021) da seguinte forma: lote de juvenis (US\$/mil indivíduos) = preço inicial de venda de 1000 juvenis ($\pm 1g$) + (1000×peso médio do juvenil grande (kg)) × custo de produção por quilo de juvenil. O custo estimado para 1000 juvenis no estado do Rio Grande do Sul foi de US\$ 39,53 e US\$ 1,98 por quilo de juvenil produzido.

2.10 Análise estatística

Os dados obtidos no ensaio foram testados quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (teste de Levene). Uma ANOVA de uma via foi realizada, e quando significativo o teste de Tukey foi aplicado para comparação das médias. Quando os pressupostos da ANOVA não foram atendidos, foi realizado o teste não paramétrico (teste de Kruskal-Wallis). A análise de regressão polinomial foi realizada para demonstrar a relação entre o consumo de ração e a eficiência alimentar com os ciclos de alimentação restrita. Todas as análises foram realizadas com o software SAS OnDemand for Academics. Os dados de microrganismos foram analisados usando as estatísticas não paramétricas do tipo “Anova”, seguidas de Comparações Múltiplas e Intervalos de Confiança Simultâneos pelo método “Tipo Tukey” usando os pacotes nparLD e nparcomp do software RStudio, respectivamente.

3. Resultados

3.1 Qualidade de água

Os parâmetros de qualidade da água nas diferentes estratégias de alimentação são apresentados na Tabela 2. Ao longo do experimento a temperatura e o pH não apresentaram influências dos tratamentos ($P>0,05$). A concentração de oxigênio dissolvido a partir do tratamento 4DPS, foi estatisticamente reduzida em média 3,21%.

As maiores concentrações médias de alcalinidade foram observadas em 3DPS e 4DPS ($P < 0,05$). Em todos os tratamentos, a concentração média de nitrogênio amoniacal total (NAT) foi $< 1 \text{ mg/L}$, enquanto o nitrito manteve-se $< 2 \text{ mg/L}$ não havendo diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$). As concentrações médias de nitrato e fosfato não foram diferentes entre os tratamentos ($P > 0,05$).

3.2 Características do bioflocos

As características dos bioflocos estão apresentadas na Tabela 3. O incremento nos dias de alimentação a partir de 5DPS não aumentou significativamente as concentrações de SST ($P < 0,05$). Os sólidos sedimentáveis foram significativamente elevados, e os bioflocos menos porosos a partir de 6 dias de alimentação, enquanto uma maior restrição de alimento reduziu o volume de sólidos e aumentou a porosidade dos flocos microbianos ($P < 0,05$). Não foram observadas respostas na turbidez e nos índices de volume e densidade dos bioflocos em razão da quantidade de dias de alimentação ($P > 0,05$).

3.3 Desempenho zootécnico

Os resultados do desempenho dos juvenis de tilápia-do-Nilo estão apresentados na Tabela 4. Os animais cresceram com o aumento de dias de alimentação até 6 dias por semana. Logo, a alimentação durante 7 dias não incrementou o peso médio final, ganho de peso e o crescimento térmico ($P < 0,05$). Em decorrência dos dias de alimentação, a produtividade aumentou até o sexto dia de alimentação seguindo o padrão observado nos parâmetros de crescimento. As estratégias de alimentação não afetaram as respostas de sobrevivência e produtividade do cultivo ($P > 0,05$). A taxa de alimentação, o consumo diário de alimento e a ingestão diária de proteína foi significativamente maior no grupo alimentado durante 3 dias por semana (Tabela 5). Já os animais alimentados

entre 6 e 7 dias por semana (6DPS e 7DPS) foram mais eficientes na utilização da proteína ($P<0,05$). Contudo, a eficiência alimentar apresentou comportamento quadrático crescente (Figura 1) com o incremento nos dias de alimentação. Por outro lado, o consumo de alimento diário por peixe apresentou um comportamento quadrático decrescente (Figura 2). Animais submetidos à restrição alimentar uma vez por semana (6DPS) apresentaram compensação total no seu crescimento, enquanto animais ligeiramente mais restritos (4DPS e 5DPS) apresentaram compensação parcial muito próxima do total (Figura 3). Houve uma correlação positiva entre os níveis de proteína bruta do bioflocos e o grau de compensação de crescimento dos animais, onde 70,56% do coeficiente de compensação é explicado pelo nível de proteína bruta do bioflocos (Figura 4).

Os peixes alimentados ininterruptamente apresentaram elevado índice hepatossomático (IHS) ($P<0,05$). Em decorrência do acréscimo de dias de alimentação, o índice lipossomático (ILS) e o índice de massa corpórea (IMC) aumentaram até 6 DPS ($P<0,05$), a partir desse ponto nenhum incremento significativo foi observado. O índice viscerossomático não foi influenciado pelos diferentes manejos de alimentação ($P>0,05$).

3.4 Composição centesimal dos peixes e da biomassa microbiana

Os regimes de alimentação influenciaram a composição corporal dos peixes (Tabela 6), exceto o teor de cinzas ($P>0,05$). A partir de 4 DPS, o teor de proteína e energia bruta corporal não aumentou em função do acréscimo na oferta diária de alimento. O conteúdo lipídico corporal aumentou até 5 DPS, a partir deste ponto nenhum acréscimo significativo foi observado. Enquanto, os peixes submetidos a 3 DPS apresentaram teor de umidade elevado, em relação àqueles alimentados seis dias por semana ($P<0,05$). Os tratamentos exerceram efeito sobre a composição nutricional dos

bioflocos (Tabela 7). Os tratamentos 6 DPS e 7 DPS produziram bioflocos com maior teor proteico e energético ($P<0.05$).

3.5 Avaliação econômica

Na Tabela 8 é apresentada a avaliação econômica referente a produção de mil juvenis de tilápias em diferentes estratégias de alimentação. Os custos com alimentação foram proporcionais aos dias de alimentação ($P<0,05$). O fornecimento de ração durante 6 e 7 dias por semana resultou em animais com maior preço de comercialização e receita bruta ($P<0,05$). Uma melhor conversão alimentar econômica, margem de lucro bruta e rentabilidade foram obtidas quando os animais foram alimentados durante seis dias ao longo da semana ($P<0,05$). No entanto, a oferta de alimento durante 4 e 5 dias resultou em uma margem de lucro similar a 7 DPS.

3.6. Contagem dos microrganismos

Os resultados da abundância de zooplâncton durante os 77 dias de ensaio estão demonstrados na Figura 5. Os ciliados foram influenciados pelos tratamentos ao longo do tempo (Figura 5B), entretanto não foi observada interação entre ambos os parâmetros ($P> 0,05$). As maiores concentrações de ciliados ocorreram aos 77 dias, onde a entrada de alimento durante 5 dias (5DPS) resultou na concentração de $5,4 \times 10^3$ ciliados. mL^{-1} . O tempo e os tratamentos influenciaram a concentração de rotíferos na água (Figura 5C), e a interação entre esses parâmetros foi significativa ($P<0,05$). Ao longo do tempo ocorreu diminuição na concentração de rotíferos nos grupos com o menor aporte de alimento (3DPS e 4 DPS), entretanto 5 DPS, apresentou redução na concentração aos 77 dias. Em contraste, 7 DPS resultou em 2.0×10^2 rotíferos. mL^{-1} em relação ao grupo com menor aporte de nutrientes (3 DPS) ao final do período experimental. A concentração de amebas (Figura 5D) não foi influenciada pelos tratamentos ($P>0,05$), mas pelo tempo

apresentando interação significativa entre essas variáveis ($P < 0,05$). Aos 77 dias, um maior aporte (7DPS) de alimento resultou em uma concentração de $3,0 \times 10^2$ amebas. mL^{-1} na água.

4. Discussão

Na aquicultura o monitoramento da qualidade de água é condição primordial para alcançar bons resultados de crescimento, e manutenção da saúde dos peixes em produção. Durante o estudo, os parâmetros de qualidade de água permaneceram dentro dos níveis considerados ideais para o crescimento da espécie (El-Sayed, 2006; DeLong, Losordo e Rakocy, 2009). A entrada de alimento favoreceu o aumento da biomassa microbiana (180 – 270 mg/L de SST), e reduziu timidamente o oxigênio e a alcalinidade. A maior presença de sólidos, intensifica a ação oxidante das bactérias aeróbias na degradação da matéria orgânica, o que eleva a demanda bioquímica de oxigênio. Além disso, o processo de assimilação da amônia pelas bactérias heterotróficas consome 4,71 g de oxigênio para cada grama de amônia convertida em biomassa microbiana (Ebeling et al., 2006). Por vezes, a demanda microbiana por oxigênio pode exceder, o seu consumo pelos organismos criados. Entretanto, os níveis de oxigênio permaneceram dentro do preconizado para o crescimento da espécie (El-Sayed, 2006; Tran-Duy et al., 2012) sendo um pouco mais elevado em 3DPS.

A depleção da alcalinidade ocorre através da utilização dos carbonatos como fonte de carbono inorgânico (3,57g de CaCO_3 por grama de amônia assimilada) pelas bactérias (Ebeling et al., 2006). Em sistemas de troca limitada de água a manutenção da alcalinidade entre 100 – 150 mg/L de CaCO_3 é importante para a ocorrência da ciclagem do nitrogênio. Em nosso estudo, o sequestro da amônia pelas bactérias heterotróficas, assim como o processo de nitrificação realizado pelas bactérias oxidantes de amônia e nitrito (AOB e NOB) foram favorecidos pela manutenção dos níveis de

alcalinidade. A estabilidade na ciclagem do nitrogênio leva a baixa concentração dos compostos tóxicos (amônia e nitrito), e consequente acúmulo de nitrato no sistema (Luo et al., 2020) como ocorreu ao longo do nosso ensaio. No entanto, dentre os compostos nitrogenados o nitrato apresenta menor toxicidade aos organismos aquáticos (Luo et al., 2020), mesmo em exposição crônica; e em nosso estudo, as concentrações de nitrato permaneceram adequadas para a espécie (<500mg/L) (Monsees et al., 2017).

Os níveis de SS e SST foram potencializados pelos dias de alimentação devido à maior disposição de substrato para as bactérias heterotróficas. Entretanto, a restrição de ração, assim como o hábito alimentar da espécie contribuiu para a manutenção de concentrações de sólidos medianas (~ 220 mg/L de SST e ~ 14,5 ml/L de SS). Os bioflocos são afetados estruturalmente pela redução da concentração dos sólidos (SS e SST) a partir de uma maior ingestão de partículas pelos peixes (3DPS), onde uma menor concentração de SS indica a presença de flocos de menor tamanho e com elevada porosidade (Yuvarajan, 2021). No processo de melhoria da qualidade de água pela imobilização do nitrogênio inorgânico, as novas células bacterianas geradas permanecem disponíveis “*in situ*” (Robles-Porchas et al., 2020). Um peixe onívoro filtrador como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) filtra as partículas de alimento presentes na água, e a busca por esse alimento pode ser ativa em períodos de inanição, e nessa condição a tilápia reduz a biomassa de fitoplâncton (Menezes et al., 2010; Salazar Torres et al., 2016). No sistema BFT, a restrição de ração parece estimular o consumo do alimento natural dado o declínio na concentração de sólidos (3 DPS e 4DPS). Esse comportamento corrobora os achados de Gallardo-Collí et al., (2020), onde a concentração de sólidos foi afetada por ciclos de restrição e realimentação mais intensos. A tilápia é considerada um bioclarificador no controle de sólidos em sistemas

multitróficos integrados (Poersch et al., 2021; Poli et al., 2019) pela sua capacidade de consumir os bioflocos (Avnimelech, 2007; Azim & Little, 2008; Ekasari et al., 2014).

Esse consumo, alivia a pressão negativa sobre os níveis de oxigênio e alcalinidade em ciclos de restrição alimentar mais intensos (3DPS), e reduz a abundância de rotíferos. Isso porque a remoção dos sólidos em suspensão reduz significativamente a presença de rotíferos e nematoides (Ray et al., 2010). Entretanto, os rotíferos atuam consumindo os protozoários ciliados, e podem fragmentar os flocos consumindo as bactérias que neles estão aderidas, essa predação exerce regulação sobre as populações desses organismos (Monroy-Dosta et al., 2013). Por outro lado, uma maior entrada de nutrientes nos grupos 5 DPS, 6 DPS e 7 DPS favoreceu a abundância de amebas, especialmente aos 77 dias. Não por acaso, uma maior presença de amebas nesses grupos pode estar relacionada com o maior volume dos bioflocos nesse período. No processo de remoção biológica do nitrogênio em sistema de lodos ativados, as amebas estão presentes nos compartimentos com maior tempo de residência do *sludge* e forte oxigenação (Madoni, 2011). Este cenário é idêntico ao *mesocosmo* estabelecido na criação em sistema de bioflocos.

Os protozoários são considerados os mais importantes consumidores de bactérias (Thompson et al., 2002; Madoni, 2011). O incremento na assembleia de ciliados, exerceu uma regulação na densidade de flagelados ao final do ensaio o que demonstra a existência de interação trófica entre os organismos nos tanques de criação. Contudo, estudos com sucessão de protozoários em lodos ativados mostram que a predominância dos flagelados ocorre em estágios iniciais do processo, devido a sua baixa necessidade energética (Krummenauer et al., 2020; Madoni, 2011). De fato, em nosso estudo um maior predomínio dos flagelados ocorreu entre o sétimo e trigésimo

quinto dia, com redução significativa em 6DPS e 7DPS ao final do ensaio, o que coincide com o aumento dos ciliados nesses grupos.

Embora, o estabelecimento de uma teia alimentar microbiana composta por uma comunidade de microrganismos ampla e diversa (bactérias, flagelados, ciliados, amebas, rotíferos e nematoides) contribua para que os bioflocos sejam ricos em nutrientes importantes como proteína, ácidos graxos polinsaturados e compostos bioativos (Khanjani and Sharifinia, 2020), uma dieta composta exclusivamente de bioflocos não consegue sustentar o desempenho dos peixes (Oliveira et al., 2021). O comportamento alimentar dos peixes é estimulado por fatores extrínsecos que impactam o crescimento, como a disponibilidade do alimento e sua composição (Assan et al., 2021; Silva et al., 2020). Logo, a qualidade do alimento suplementar pode influenciar o desempenho dos peixes, ao mesmo tempo que sofre influência direta do manejo alimentar (Silva et al., 2020). Na verdade, o maior teor proteico (38,3% PB) e energético (2252,8 Kcal.kg⁻¹) dos flocos microbianos permite sustentar o crescimento dos animais durante a ausência de alimento inerte durante um dia por semana. Em contraste, Correa et al (2019) demonstraram ser possível limitar a oferta de alimento aos juvenis de tilápia por até 3 dias por semana em BFT. Esse gradiente, pode ser explicado pela disposição do sistema em “*macrocosmo-microcosmos*”, onde todos os tratamentos estão expostos a mesma concentração de sólidos, e ao mesmo perfil nutricional da biomassa microbiana. No sistema estático, o próprio biofloco é modulado pelo manejo alimentar, uma vez que em parte este é responsável pela entrada de nutrientes no sistema. Logo, é implícito se as baixas concentrações de sólidos em nosso estudo são efeito apenas do consumo, ou produto do gradiente de entrada de nutrientes ou ainda efeito sinérgico de ambas as situações. *Designs* experimentais em recirculação são interessantes pela manutenção dos bioflocos com características semelhantes em todos

os tratamentos, entretanto respostas individuais dos tratamentos sobre a qualidade de água, a composição dos agregados e estrutura da comunidade microbiana são perdidas e desta forma cuidados devem ser tomados quando se almeja avaliar a alimentação e/ou a nutrição de uma dada espécie neste sistema.

Em geral, o processo de alimentação (inerte) é a principal via de obtenção de nutrientes para os peixes e camarões em sistemas intensivos. Embora o sistema BFT, seja classificado como sistema superintensivo, a biomassa microbiana associada ao arraçoamento atuam como vias sinérgicas no processo de alimentação. Após 77 dias, o jejum programado (6 DPS) provou ser eficaz, visto que promoveu crescimento similar ao manejo alimentar integral. Esse crescimento foi similar ao registrado por Correa et al. (2020) para tilápias cultivadas em BFT com água doce após 56 dias de cultivo. Frequentemente, é atribuída ao sistema BFT a capacidade de melhorar a conversão alimentar, devido a sua contribuição na alimentação dos organismos aquáticos (El-Sayed, 2021; Oliveira et al., 2022). Essa tendência também foi observada nos animais do grupo 6DPS, onde uma menor quantidade de alimento inerte se traduziu em maior eficiência alimentar. Esse grupo demonstra claramente o sinergismo entre alimentação adequada e o bioflocos com uma melhor eficiência na utilização do alimento, possibilitando a redução de 16.8 pontos percentuais na quantidade de alimento a ser ofertado. Esse resultado foi similar ao obtido com juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos ao mesmo tratamento em sistema de recirculação (Assis et al., 2020). Por outro lado, uma restrição mais intensa ocasiona piora na conversão alimentar, isso porque a eficiência alimentar também é influenciada pelo desequilíbrio nutricional na alimentação. Esses animais tiveram seu crescimento deprimido (~10 g), em razão da menor quantidade de dias de alimentação associado aos bioflocos com teor reduzido de proteína (~24% PB). Esse resultado é similar aos detectados por Oliveira et

al. (2021), os quais sob total ausência de alimento inerte os juvenis de tilápia alcançaram 10g de peso final em bioflocos com 34% PB. Esta similaridade entre os resultados demonstra que a qualidade nutricional do bioflocos é determinante para maximizar a sua contribuição na alimentação dos peixes. Por vezes, os bioflocos apresentam deficiências em alguns aminoácidos essenciais, o que pode ser um ponto crítico ao atendimento das exigências nutricionais dos organismos aquáticos (Alzate-Díaz et al., 2020; Binalshikh-Abubkr et al., 2021). No entanto, sob restrição de alimento inerte a curto prazo, a biomassa microbiana apresenta um importante papel na manutenção de organismos aquáticos (Lara et al., 2017; Weldon et al., 2021; Oliveira et al., 2021).

A alimentação é um sinal externo importante, que pode estimular o comportamento alimentar e o crescimento dos peixes (Assan et al., 2021). Hiperfagia é descrita como aumento na taxa de consumo do alimento em resposta ao jejum (Argüello-Guevara et al., 2018). Este comportamento muitas vezes está acompanhado por aceleração no crescimento dos animais, a qual pode gerar ganho compensatório resultando em animais com desempenho similar (Ali et al., 2003). No presente ensaio, a hiperfagia foi evidenciada pelo incremento gradual na ingestão diária de alimento e pela maior taxa de alimentação aparente, ambas em função do aumento na restrição alimentar. No entanto, essa resposta não se traduziu em crescimento compensatório nos grupos mais restritos; esse comportamento em partes pode ser explicado pela intensidade da restrição (Py et al., 2022) e pela qualidade nutricional dos bioflocos, visto que dietas com qualidade inferior promovem regulação negativa das funções intestinais, em especial após períodos de jejum (Zaldúa and Naya, 2014). Nossos resultados demonstram que a restrição alimentar de curto prazo (1 dia por semana), promoveu crescimento compensatório total visto a equivalência de desempenho entre o

grupo 6DPS e 7DPS. Embora ambos os grupos tenham menor taxa de alimentação aparente (2,36 e 2,18% da biomassa/dia), os juvenis foram mais eficientes em direcionar o alimento para a síntese proteica. No entanto, o gradiente proteico dos bioflocos limitou a capacidade de compensação dos grupos 4DPS e 5DPS (figura 4).

Em decorrência das alterações na dieta e no manejo alimentar, o tamanho da estrutura hepática dos peixes pode variar (Sgnaulin et al., 2020; Silva et al., 2020). Em nosso estudo, o índice hepatossomático declinou com a intensidade do jejum, esse comportamento também foi verificado em diferentes espécies (Abdel-Tawwab et al., 2006; Barcellos et al., 2010; Pérez-jiménez et al., 2007). Essa diminuição da estrutura hepática pode estar relacionada à mobilização dos carboidratos armazenados no fígado na forma de glicogênio (Barcellos et al., 2010), sendo o primeiro substrato usado como fonte de energia. Por outro lado, nos grupos 6DPS e 7DPS um maior índice hepatossomático evidencia que esses juvenis estão mais bem nutridos. Corroborando com os resultados obtidos com o índice hepatossomático, a alimentação exógena fornecida integralmente (7 dias/semana) proporcionou maior acúmulo de gordura visceral nos peixes. Esse comportamento demonstra um possível desequilíbrio na alimentação *ex situ*, associada a maior disponibilidade de alimento *in situ* com elevado teor proteico (~ 40% PB). O acúmulo de gordura na cavidade celomática dos peixes pode ser favorecido por um processo de superalimentação. Contudo, a redução gradativa na oferta de alimento mobiliza as reservas energéticas do animal para a manutenção do seu metabolismo basal. Ainda que, a presença da biomassa microbiana estabeleça um cenário de inanição parcial, há um desequilíbrio entre síntese e degradação dos tecidos que impede o acúmulo de reservas energéticas, uma vez que os bioflocos tem caráter de suplementação alimentar. Em verdade, a composição proteica dos bioflocos é muito variável (24 – 40% PB), e pode apresentar deficiência em seu

perfil aminoacídico (Khanjani et al., 2023); além disso os bioflocos em geral são pobres em lipídios (Khanjani et al., 2023), essas características podem representar um fator limitante para o processo de síntese tecidual, visto que em sua totalidade não fornecem todos os nutrientes necessários para suprir as exigências nutricionais dos peixes.

Mesmo apresentando uma abordagem ambientalmente mais amigável em relação ao uso da água, os custos operacionais do sistema de bioflocos ainda comprometem a sua aplicação na criação de tilápia. No entanto, considerando apenas os custos com a alimentação na fase de berçário e pré-recría nossos resultados demonstram a viabilidade da criação de tilápia combinando restrição alimentar um dia por semana com biomassa microbiana “*in situ*” e seu potencial para redução de até 26,8 pontos percentuais nos custos referentes a alimentação. Um dos pontos-chaves no mercado de produção de tilápia consiste na disponibilidade dos juvenis, e esse aspecto é importante a fim de evitar a descontinuidade da cadeia produtiva. Em especial, em regiões com climas temperados e/ou onde a criação de tilápia ocorre em tanques-rede a oferta de juvenis entre 30 e 50 g aproximadamente é interessante para reduzir o tempo do ciclo de produção. Há um grande potencial no sistema BFT para produzir e manter esses animais durante a fase de berçário, apoiado a menor exigência de recursos como água, área disponível, redução de custo com alimentação e mão-de-obra. Entre as estratégias de manejo adotadas, suspender a alimentação uma vez por semana incrementa a margem de lucro bruta em 17 pontos percentuais. No entanto, esses indicadores econômicos podem mudar em função da região, preço de obtenção do alimento e dos juvenis.

5. Conclusão

Nossos resultados demonstram ser possível utilizar o sistema BFT na manutenção estratégica de estoques de juvenis de tilápia. Reforçam a proposição de que a biomassa microbiana atua como importante suplemento alimentar para a tilápia na

fase inicial, oferecendo suporte na ausência de alimento inerte quando em períodos curtos de jejum. Entretanto, a qualidade nutricional dos bioflocos é diretamente afetada pela estratégia de manejo alimentar empregada, que neste estudo demonstrou influir também na compensação de crescimento em manejos ligeiramente mais restritos. Durante o berçário e a pré-recrta, ciclos curtos de restrição alimentar podem ser aplicados para reduzir custos com alimentação (26,8 pontos percentuais). Logo, em sistema BFT torna-se factível restringir a alimentação dos juvenis uma vez por semana com resultados positivos sobre o desempenho dos animais.

Declaração de contribuição de autoria

Luciana Kelly Oliveira: Conceituação, Metodologia, Visualização, Investigação, Curadoria de dados, Análise formal, Redação – rascunho original, Redação – revisão e edição. **Dariano Krumennauer:** Redação – revisão e edição. **Wilson Wasielesky:** Redação – revisão e edição. **Marcelo Borges Tesser:** Supervisão, Administração do projeto, Redação – revisão e edição, Captação de recursos.

Declaração de Interesse Concorrente

Os autores declaram que não têm interesses financeiros concorrentes conhecidos ou relacionamentos pessoais que possam parecer influenciar o trabalho relatado neste artigo.

Disponibilidade de dados

Os dados serão disponibilizados mediante solicitação.

Agradecimentos

O primeiro autor agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado (Código

3161 Financeiro 001). Wasielesky, W. e Tesser, M. B. são bolsistas de produtividade do
3162 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) sob
3163 os processos nº: 310652/2017-0 e PQ 304474/2020-7, respectivamente.

3164 **Referências**

3165 Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H., Shalaby, A.M.E., 2006.
3166 Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and
3167 Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*
3168 (L.). Journal of Applied Aquaculture 18, 17–36.

3169 https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1300/J028v18n03_02

3170 Ali, M., Niecieza, A., Wootton, R., 2003. Compensatory growth in fishes. Fish and
3171 fisheries 4, 147–190.

3172 Alzate-Díaz, H.A., Ramírez, A.P.M., Emerenciano, M.G.C., Carrasco, S.C.P., 2020.
3173 Organoleptic and nutritional characteristics of fillets of pirapitinga fed different
3174 protein sources in a biofloc system. Pesquisa Agropecuária Brasileira 55, 2020.

3175 <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2020.v55.01795>

3176 Aminot, A., Chausseple, M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin.
3177 CNEXO, Paris.

3178 APHA, A.P.H.A., 2012. Standard methods for the examination of water and
3179 wastewater, 22 ed. ed. American Public Health Association, Washington, DC.

3180 Argüello-Guevara, W., Apolinario, W., Bohórquez-Cruz, M., Reinoso, S., Rodríguez,
3181 S., Sonnenholzner, S., 2018. Effects of intermittent feeding on water quality, skin
3182 parasites, feed consumption, and growth performance of juvenile longfin yellowtail
3183 *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833). Aquaculture Research 49, 3586–3594.

3184 <https://doi.org/10.1111/are.13825>

3185 Assan, D., Huang, Y., Mustapha, U.F., Addah, M.N., Li, G., Chen, H., 2021. Fish Feed
 3186 Intake, Feeding Behavior, and the Physiological Response of Apelin to Fasting and
 3187 Refeeding. *Frontiers in Endocrinology* 12, 1–12.

3188 <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.798903>

3189 Assis, Y.P.A.S., de Assis Porto, L., de Melo, N.F.A.C., Palheta, G.D.A., Luz, R.K.,
 3190 Favero, G.C., 2020. Feed restriction as a feeding management strategy in
 3191 *Colossoma macropomum* juveniles under recirculating aquaculture system (RAS).
 3192 *Aquaculture* 529, 735689.

3193 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735689>

3194 Attia, J., Millot, S., Di-Poï, C., Bégout, M.-L., Noble, C., Sanchez-Vazquez, F.J.,
 3195 Terova, G., Saroglia, M., Damsgård, B., 2012. Demand feeding and welfare in
 3196 farmed fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 107–118.

3197 <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9538-4>

3198 Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge
 3199 bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.

3200 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>

3201 Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
 3202 systems. *Aquaculture* 176, 227–235.

3203 [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)

3204 Barcellos, L.J.G., Marqueze, A., Trapp, M., Quevedo, R.M., Ferreira, D., 2010. The
 3205 effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult

3206 jundiá *Rhamdia quelen*. Aquaculture 300, 231–236.
 3207 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.013>

3208 Binalshikh-Abubkr, T., Hanafiah, M.M., Das, S.K., 2021. Marine Science and
 3209 Engineering Proximate Chemical Composition of Dried Shrimp and Tilapia Waste
 3210 Bioflocs Produced by Two Drying Methods.
 3211 <https://doi.org/10.3390/jmse9020193>

3212 Chahid, A., N'Doye, I., Majoris, J.E., Berumen, M.L., Laleg-Kirati, T.M., 2021. Model
 3213 predictive control paradigms for fish growth reference tracking in precision
 3214 aquaculture. Journal of Process Control 105, 160–168.
 3215 <https://doi.org/10.1016/j.jprocont.2021.07.015>

3216 Correa, A. de S., Pinho, S.M., Molinari, D., Pereira, K. da R., Gutiérrez, S.M., Monroy-
 3217 Dosta, M. del C., Emerenciano, M.G.C., 2020. Rearing of Nile tilapia
 3218 (*Oreochromis niloticus*) juveniles in a biofloc system employing periods of feed
 3219 deprivation. Journal of Applied Aquaculture 32, 139–156.
 3220 <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1679319>

3221 Dauda, A.B., 2020. Biofloc technology: a review on the microbial interactions,
 3222 operational parameters and implications to disease and health management of
 3223 cultured aquatic animals. Reviews in Aquaculture 12, 1193–1210.
 3224 <https://doi.org/10.1111/raq.12379>

3225 Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the
 3226 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of
 3227 ammonia–nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture 257, 346–358.
 3228 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

3229 Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., De
 3230 Schryver, P., 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and
 3231 the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture* 426–427, 105–111.
 3232 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>
 3233 El-Sayed, A.F.M., 2006. *Tilapia culture*, Tilapia culture. CABI Publishing, UK, UK.
 3234 <https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>
 3235 El-Sayed, A.M., 2021. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a
 3236 comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*
 3237 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
 3238 Favero, G.C., Boaventura, T.P., Ferreira, A.L., Silva, A.C.F., Porto, L.A., Luz, R.K.,
 3239 2019. Fasting/re-feeding and water temperature promote the mobilization of body
 3240 reserves in juvenile freshwater carnivorous catfish *Lophiosilurus alexandri*.
 3241 *Aquaculture* 511, 734223.
 3242 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734223>
 3243 Gallardo-Collí, A., Pérez-Fuentes, M., Pérez-Rostro, C.I., Hernández-Vergara, M.P.,
 3244 2020. Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* , L. subjected to
 3245 cyclic periods of feed restriction and feeding in a biofloc system. *Aquaculture*
 3246 *Research* 51, 1813–1823.
 3247 <https://doi.org/10.1111/are.14530>
 3248 Gao, Y., Lee, J.Y., 2012. Compensatory responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*
 3249 under different feed-deprivation regimes. *Fisheries and Aquatic Sciences* 15, 305–
 3250 311. <https://doi.org/10.5657/FAS.2012.0305>
 3251 García-Robledo, E., Corzo, A., Papaspyrou, S., 2014. A fast and direct

3252 spectrophotometric method for the sequential determination of nitrate and nitrite at
 3253 low concentrations in small volumes. *Marine Chemistry* 162, 30–36.
 3254 <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.03.002>

3255 Haridas, H., Chadha, N.K., Sawant, P.B., Deo, A.D., Ande, M.P., Syamala, K.,
 3256 Sontakke, R., Lingam, S.S., 2021. Growth performance, digestive enzyme activity,
 3257 non-specific immune response and stress enzyme status in early stages of grey
 3258 mullet reared in a biofloc system. *Aquaculture Research* 52, 4923–4933.
 3259 <https://doi.org/10.1111/are.15326>

3260 Jafari, N., Falahatkar, B., Sajjadi, M.M., 2019. The effect of feeding strategies and body
 3261 weight on growth performance and hematological parameters of Siberian sturgeon
 3262 (*Acipenser baerii* , Brandt 1869): Preliminary results. *Journal of Applied*
 3263 *Ichthyology* 35, 289–295. <https://doi.org/10.1111/jai.13824>

3264 Jobling, M., Meløy, O.H., dos Santos, J., Christiansen, B., 1994. The compensatory
 3265 growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture*
 3266 *International: Journal of the European Aquaculture Society* 2, 75–90.
 3267 <https://doi.org/10.1007/BF00128802>

3268 Khanjani, M.H., Mozanzadeh, M.T., Sharifinia, M., Emerenciano, M.G.C., 2023.
 3269 Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional
 3270 properties. *Aquaculture* 562, 738757.
 3271 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738757>

3272 Khanjani, M.H., Sharifinia, M., 2020. Biofloc technology as a promising tool to
 3273 improve aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*.
 3274 <https://doi.org/10.1111/raq.12412>

3275 Khanjani, M.H., Sharifinia, M., Hajirezaee, S., 2022. Recent progress towards the
 3276 application of biofloc technology for tilapia farming. *Aquaculture* 552, 738021.
 3277 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738021>

3278 Krummenauer, D., Abreu, P.C., Poersch, L., Reis, P.A.C.P., Suita, S.M., dos Reis,
 3279 W.G., Wasielesky, W., 2020. The relationship between shrimp (*Litopenaeus*
 3280 *vannamei*) size and biofloc consumption determined by the stable isotope
 3281 technique. *Aquaculture* 529, 735635.
 3282 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735635>

3283 Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., Wasielesky, W., 2014. The
 3284 Reuse of Water on the Culture of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* , in
 3285 BFT System. *Journal of the World Aquaculture Society* 45, 3–14.
 3286 <https://doi.org/10.1111/jwas.12093>

3287 Lara, G., Honda, M., Poersch, L., Wasielesky, W., 2017. The use of biofilm and
 3288 different feeding rates in biofloc culture system: the effects in shrimp growth
 3289 parameters. *Aquaculture International* 25, 1959–1970.
 3290 <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0151-0>

3291 Luo, G., Xu, J., Meng, H., 2020. Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems.
 3292 *Aquaculture* 520, 734675. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734675>

3293 Madoni, P., 2011. Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Italian*
 3294 *Journal of Zoology* 78, 3–11. <https://doi.org/10.1080/11250000903373797>

3295 Manduca, L.G., Silva, M.A. da, Alvarenga, É.R. de, Alves, G.F. de O., Ferreira, N.H.,
 3296 Teixeira, E. de A., Fernandes, A.F.A., Silva, M. de A. e., Turra, E.M., 2021.
 3297 Effects of different stocking densities on Nile tilapia performance and profitability

3298 of a biofloc system with a minimum water exchange. *Aquaculture* 530, 735814.
 3299 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735814>

3300 Mattila, J., Koskela, J., Pirhonen, J., 2009. The effect of the length of repeated feed
 3301 deprivation between single meals on compensatory growth of pikeperch *Sander*
 3302 *luciperca*. *Aquaculture* 296, 65–70.
 3303 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.07.024>

3304 McCue, M.D., 2010. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals
 3305 use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology - A*
 3306 *Molecular and Integrative Physiology* 156, 1–18.
 3307 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.002>

3308 Menezes, R.F., Attayde, J.L., Rivera Vasconcelos, F., 2010. Effects of omnivorous
 3309 filter-feeding fish and nutrient enrichment on the plankton community and water
 3310 transparency of a tropical reservoir. *Freshwater Biology* 55, 767–779.
 3311 <https://doi.org/10.1111/J.1365-2427.2009.02319.X>

3312 Mohlman, F.W., 1934. The sludge index. *Sewage Works Journal* 6, 119–122.
 3313 <https://doi.org/10.2307/25028375>

3314 Monroy-Dosta, M.C., de Lara, R., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., Coelho-
 3315 Emerenciano, M.G., 2013. Microbiology community composition and abundance
 3316 associated to biofloc in tilapia aquaculture | Composición y abundancia de
 3317 comunidades microbianas asociados al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de*
 3318 *Biología Marina y Oceanografía* 48, 511–520.

3319 Monsees, H., Klatt, L., Kloas, W., Wuertz, S., 2017. Chronic exposure to nitrate
 3320 significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia

3321 (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. Aquaculture
 3322 Research 48, 3482–3492. <https://doi.org/10.1111/are.13174>
 3323 Nebo, C., Gimbo, R.Y., Kojima, J.T., Overturf, K., Dal-Pai-Silva, M., Portella, M.C.,
 3324 2018. Depletion of stored nutrients during fasting in Nile tilapia (*Oreochromis*
 3325 *niloticus*) juveniles. Journal of Applied Aquaculture 30, 157–173.
 3326 <https://doi.org/10.1080/10454438.2017.1420516>
 3327 NRC, N.R.C., 2011. Nutrients requirements of fish and shrimp. The National
 3328 Academies Press, Washington, D.C.
 3329 Oliveira, L.K., Pilz, L., Furtado, P.S., Ballester, E.L.C., Bicudo, Á.J. de A., 2021.
 3330 Growth, nutritional efficiency, and profitability of juvenile GIFT strain of Nile
 3331 tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in biofloc system on graded feeding rates.
 3332 Aquaculture 541. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736830>
 3333 Oliveira, L.K., Wasielesky, W., Tesser, M.B., 2022. Fish culture in biofloc technology
 3334 (BFT): Insights on stocking density carbon sources, C/N ratio, fish nutrition and
 3335 health. Aquaculture and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.08.010>
 3336 Pérez-jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-teles, A., 2007. Metabolic
 3337 responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax* . Effect of
 3338 dietary composition 265, 325–335.
 3339 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.021>
 3340 Poersch, L., Brunson, J., Gaona, C.A.P., Stokes, A., Richardson, J., Pitts, K., Leffler, J.,
 3341 2021. Pacific white shrimp, red drum, and tilapia integrated in a biofloc system:
 3342 Use of tilapia as a consumer of total suspended solids. Journal of the World
 3343 Aquaculture Society 52, 1168–1177. <https://doi.org/10.1111/JWAS.12832>

3344 Poli, M.A., Legarda, E.C., de Lorenzo, M.A., Pinheiro, I., Martins, M.A., Seiffert,
 3345 W.Q., do Nascimento Vieira, F., 2019. Integrated multitrophic aquaculture applied
 3346 to shrimp rearing in a biofloc system. *Aquaculture* 511.
 3347 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734274>

3348 Py, C., Elizondo-González, R., Peña-Rodríguez, A., 2022. Compensatory growth:
 3349 Fitness cost in farmed fish and crustaceans. *Reviews in Aquaculture* 14, 1389–
 3350 1417. <https://doi.org/10.1111/raq.12656>

3351 Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010.
 3352 Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive
 3353 aquaculture systems and the effects of suspended solids management.
 3354 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.019>

3355 Robles-Porchas, G.R., Gollas-Galván, T., Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova,
 3356 L.R., Miranda-Baeza, A., Vargas-Albores, F., 2020. The nitrification process for
 3357 nitrogen removal in biofloc system aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 12, 2228–
 3358 2249. <https://doi.org/10.1111/raq.12431>

3359 Sakyi, M.E., Cai, J., Tang, J., Xia, L., Li, P., Delwin Abarike, E., Kofi, F., Kuebutornye,
 3360 A., Jian, J., 2019. Short term starvation and re-feeding in Nile tilapia (*Oreochromis*
 3361 *niloticus*, Linnaeus 1758): Growth measurements, and immune responses.
 3362 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100261>

3363 Salazar Torres, G., Silva, L.H.S., Rangel, L.M., Attayde, J.L., Huszar, V.L.M., 2016.
 3364 Cyanobacteria are controlled by omnivorous filter-feeding fish (Nile tilapia) in a
 3365 tropical eutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 765, 115–129.
 3366 <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2406-y>

3367 Sgnaulin, T., Durigon, E.G.E.G., Pinho, S.M.S.M., Jerônimo, G.T.G.T., Lopes,

3368 D.L.D.A.D.L. de A., Emerenciano, M.G.C.M.G.C., 2020. Nutrition of Genetically
 3369 Improved Farmed Tilapia (GIFT) in biofloc technology system: Optimization of
 3370 digestible protein and digestible energy levels during nursery phase. Aquaculture
 3371 521. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734998>

3372 Silva, M.A., Alvarenga, É.R., Costa, F.F.B. da, Turra, E.M., Alves, G.F. de O.,
 3373 Manduca, L.G., Sales, S.C.M., Leite, N.R., Bezerra, V.M., Moraes, S.G. da S.,
 3374 Teixeira, E. de A., 2020. Feeding management strategies to optimize the use of
 3375 suspended feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in bioflocs.
 3376 Aquaculture Research 51, 605–615. <https://doi.org/10.1111/are.14408>

3377 Smith, P., Coackley, P., 1984. Diffusivity, tortuosity and pore structure of activated
 3378 sludge. Water Research 18, 117–122. [https://doi.org/10.1016/0043-](https://doi.org/10.1016/0043-1354(84)90056-3)
 3379 [1354\(84\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(84)90056-3)

3380 Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A Practical Handbook of seawater analysis, 2nd
 3381 ed, Fisheries research board of Canada. Ottawwa.

3382 Thompson, F.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W., 2002. Importance of Biofilm for Water
 3383 Quality and Nourishment in Intensive Shrimp Culture. Aquaculture 203(3-4): .
 3384 Aquaculture 203, 263–278.

3385 Tran-Duy, A., van Dam, A.A., Schrama, J.W., 2012. Feed intake, growth and
 3386 metabolism of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to dissolved oxygen
 3387 concentration. Aquaculture Research 43, 730–744. [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02882.x)
 3388 [2109.2011.02882.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02882.x)

3389 UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring,
 3390 Intergovernmental Oceanographic commission - Manuals and guides 12.

- 3391 Van Rijn, J., 2013. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural*
 3392 *Engineering* 53, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.010>
- 3393 Weldon, A., Davis, D.A., Rhodes, M., Reis, J., Stites, W., Ito, P., 2021. Feed
 3394 management of *Litopenaeus vannamei* in a high density biofloc system.
 3395 *Aquaculture* 544, 737074.
 3396 <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2021.737074>
- 3397 World Health Organization international reference center, 1978. *Methods of Analysis of*
 3398 *Sewage Sludge Solid Waste and Compost*. Switzerland.
- 3399 Yuvarajan, P., 2021. Study on floc characteristics and bacterial count from biofloc-
 3400 based genetically improved farmed tilapia culture system. *Aquaculture Research*
 3401 52, 1743–1756. <https://doi.org/10.1111/are.15030>
- 3402 Zaldúa, N., Naya, D.E., 2014. Digestive flexibility during fasting in fish: A review.
 3403 *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative*
 3404 *Physiology* 169, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.12.006>

3405 **ANEXO I - TABELAS**

3406 Tabela 1: Ciclos alimentares de restrição de curto prazo durante o cultivo de
3407 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos

Dias de alimentação/semana		Dias de ausência de alimento
3 DPS	Segunda, Terça e Quarta	Quinta, Sexta, Sábado e Domingo
4 DPS	Segunda, Terça, Quarta e Quinta	Sexta, Sábado e Domingo
5 DPS	Segunda, Terça, Quarta, Quinta e Sexta	Sábado e Domingo
6 DPS	Segunda, Terça, Quarta, Quinta, Sexta e Sábado	Domingo
7 DPS	Segunda, Terça, Quarta, Quinta, Sexta, Sábado e Domingo	*

3408 DPS – dias por semana; * peixes alimentados durante toda semana

3409

3410

3411

3412

Tabela 2: Parâmetros físico e químicos da água durante a criação juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT).

	Dias de alimentação					<i>P</i> - valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
Temperatura (°C)	28,1 ± 0,14	28,2 ± 0,14	28,2 ± 0,10	28,2 ± 0,09	28,2 ± 0,08	0,2141
OD (mg/L)	7,01 ± 0,08 ^a	6,76 ± 0,18 ^b	6,80 ± 0,17 ^b	6,79 ± 0,16 ^b	6,79 ± 0,14 ^b	0,0009
pH	8,06 ± 0,18	7,92 ± 0,30	7,85 ± 0,31	7,84 ± 0,32	7,84 ± 0,33	0,3569
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	167,3 ± 33,6 ^a	150,6 ± 21,0 ^{ab}	137,4 ± 15,7 ^b	133,8 ± 15,4 ^b	138,4 ± 14,7 ^b	0,0072
N – AT (mg/L)	0,10 ± 0,07	0,11 ± 0,11	0,12 ± 0,12	0,18 ± 0,28	0,17 ± 0,24	0,8986
N – NO ₂ (mg/L)	1,34 ± 2,11	1,79 ± 2,46	1,98 ± 2,93	1,83 ± 2,61	1,60 ± 2,41	0,9850
N – NO ₃ (mg/L)	108,73 ± 84,58	100,97 ± 67,17	130,67 ± 98,09	123,42 ± 86,35	134,65 ± 89,42	0,7940
P – PO ₄ ³⁻ (mg/L)	7,97 ± 2,97	9,28 ± 5,02	10,40 ± 6,50	9,89 ± 5,20	10,38 ± 5,48	0,7240

DPS – dias por semana; OD – oxigênio dissolvido.

*Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3428 Tabela 3: Características dos bioflocos durante a criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos de restrição alimentar
3429 em sistema de bioflocos (BFT)

	Dias de alimentação					<i>P</i> - valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
SST (mg/L)	182,76 ± 83,58 ^b	192,87 ± 89,67 ^b	210,46 ± 106,34 ^{ab}	250,27 ± 147,60 ^{ab}	269,87 ± 160,47 ^a	0,0040
SS (ml/L)	7,96 ± 4,85 ^b	11,02 ± 7,32 ^{ab}	11,73 ± 8,81 ^{ab}	16,77 ± 16,01 ^a	25,12 ± 82,78 ^a	<0,0010
Porosidade (%)	99,21 ± 0,49 ^a	98,90 ± 0,74 ^{ab}	98,84 ± 0,89 ^{ab}	98,33 ± 1,61 ^b	97,21 ± 10,46 ^b	<0,0010
IFV	43,74 ± 20,96	64,20 ± 52,08	55,20 ± 38,37	70,93 ± 91,88	97,21 ± 10,46	0,1342
IDF	3,05 ± 2,14	2,42 ± 1,75	2,54 ± 1,59	2,52 ± 2,10	2,93 ± 3,64	0,1377
Turbidez (NTU)	102,28 ± 68,44	100,60 ± 76,35	102,17 ± 82,56	121,07 ± 97,73	146,18 ± 115,13	0,3038

3430 DPS – dias por semana; SST – Sólidos suspensos totais; SS – Sólidos sedimentáveis; IFV – Índice do volume do floco;

3431 IDF – Índice de densidade do floco

3432 *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3433

3434

3435

3436

3437

3438

3439

3440

Tabela 4: Performance produtiva de juvenis de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

	Dias de alimentação					P – valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
Peso inicial (g)	0,42 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,42 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,9993
Peso final (g)	10,81 ± 0,17 ^c	23,06 ± 0,67 ^b	29,62 ± 2,76 ^b	38,52 ± 5,22 ^a	45,34 ± 3,22 ^a	<0,0001
Ganho de peso (g)	10,39 ± 0,17 ^c	22,64 ± 0,67 ^b	29,20 ± 2,76 ^b	38,10 ± 5,28 ^a	44,92 ± 3,22 ^a	<0,0001
Unidade térmica de crescimento	0,30 ± 0,01 ^d	0,44 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,01 ^b	0,54 ± 0,02 ^a	0,57 ± 0,01 ^a	<0,0001
Taxa de sobrevivência (%)	94,7 ± 2,30	97,0 ± 2,60	96,7 ± 2,90	93,0 ± 6,10	87,7 ± 2,10	0,6730
Produtividade (kg.m ⁻³)	2,50 ± 0,13 ^d	5,57 ± 0,06 ^c	7,15 ± 0,54 ^b	8,91 ± 0,68 ^a	9,93 ± 0,50 ^a	<0,0001
Densidade Final (peixes.m ⁻³)	237 ± 5,77	243 ± 6,43	242 ± 6,93	233 ± 15,37	219 ± 5,13	0,1584
Índice hepatossomático (%)	1,52 ± 0,46 ^b	1,54 ± 0,32 ^b	1,76 ± 0,70 ^b	2,35 ± 0,63 ^a	2,37 ± 0,55 ^a	<0,0001
Índice viscerossomático (%)	13,16 ± 1,95	13,23 ± 1,83	14,26 ± 3,19	14,14 ± 3,28	14,04 ± 2,47	0,5833
Índice lipossomático (%)	0,37 ± 0,48 ^d	0,87 ± 0,55 ^c	1,28 ± 0,82 ^{bc}	1,88 ± 0,63 ^{ab}	2,29 ± 1,51 ^a	<0,0001
Índice de massa corpórea (g/cm ²)	0,16 ± 0,02 ^c	0,20 ± 0,04 ^b	0,21 ± 0,05 ^b	0,27 ± 0,05 ^a	0,27 ± 0,04 ^a	<0,0001
Coeficiente de compensação	0,54 ± 0,01 ^b	0,88 ± 0,03 ^a	0,91 ± 0,08 ^a	0,99 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,07 ^a	0,0010

DPS – dias por semana. *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05).

3458 Tabela 5: Parâmetros de eficiência nutricional de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a ciclos de restrição alimentar em sistema de
3459 bioflocos (BFT)

	Dias de alimentação					P - valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
Taxa de alimentação (%)	6,61 ± 0,43 ^a	4,05 ± 0,08 ^b	3,15 ± 0,07 ^b	2,36 ± 0,02 ^c	2,18 ± 0,04 ^c	<0,0001
Redução de alimento (%)	60,37	40,14	25,56	16,76	-	-
Ingestão diária de proteína (%)	64,54±2,77 ^a	41,22±0,52 ^b	32,13±1,47 ^c	23,15±1,43 ^d	20,20±0,61 ^d	<0,0001
Eficiência de retenção proteica (%)	30,17±1,62 ^c	38,01±0,95 ^b	40,26±3,93 ^b	48,32±1,66 ^a	47,90±2,60 ^a	<0,0001
Ganho de proteína (g)	144,27±8,54 ^c	323,80±13,22 ^b	427,72±63,33 ^b	573,19±66,45 ^a	682,16±67,00 ^a	<0,0001

3460 DPS – dias por semana. *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05).

3461

3462 Tabela 6: Composição corporal (base da matéria natural) de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos de restrição alimentar em sistema
3463 de bioflocos (BFT)

Nutrientes	Dias de alimentação						P - valor
	PI	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
Proteína Bruta (%)	11,01±1,11	13,77±1,35 ^b	14,23±0,34 ^{ab}	14,55±0,90 ^{ab}	15,03±1,35 ^{ab}	15,12±0,50 ^a	0,0305
Lipídeos (%)	1,78±0,02	5,38±0,42 ^c	6,27±0,09 ^b	6,46±0,50 ^{ab}	7,05±0,63 ^a	6,36±0,17 ^{ab}	<0,0001
Cinzas (%)	2,75±0,15	4,88±0,24	5,11±0,22	4,96±0,46	4,92±0,32	4,97±0,15	0,5617
Umidade (%)	83,44±0,02	75,13±1,34 ^a	73,58±0,38 ^{ab}	73,20±1,84 ^{ab}	71,66±0,93 ^b	71,90±1,25 ^{ab}	0,0393
Energia Bruta (kcal kg ⁻¹)*	735,28±24,68	1293,40±116,92 ^b	1386,44±13,47 ^{ab}	1436,42±83,96 ^{ab}	1368,87±190,69 ^{ab}	1516,97±126,13 ^a	0,0358

3464 PI – População inicial; DPS – dias por semana; *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de
3465 Tukey (P < 0,05).

3466 **Energia bruta: calculada a partir de valores fisiológicos padrão: 5,64 kcal/g de proteína, 4,11 kcal/g de carboidratos e 9,44 kcal/g de lipídeos
3467 (NRC, 2011).

3468 Tabela 7: Composição química (base da matéria seca) do bioflocos proveniente da criação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos
3469 de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

Nutrientes	Dias de alimentação					<i>P</i> - valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
Proteína bruta (%)	24,55±0,84 ^c	30,31±0,69 ^b	31,45±1,55 ^b	38,33±1,76 ^a	40,58±2,96 ^a	<0,0001
Lipídeos (%)	0,58±0,25	0,71±0,47	0,27±0,08	0,35±0,15	0,81±0,30	0,3815
Cinzas (%)	48,42±1,98 ^a	42,79±2,53 ^b	40,91±0,91 ^b	34,00±0,49 ^c	32,28±1,78 ^c	<0,0001
Fibra bruta (%)	1,69±0,35	1,81±0,25	1,51±0,11	1,59±0,113	1,89±0,16	0,0395
Umidade (%)	88,31±2,36	87,51±4,22	91,67±0,16	92,70±2,62	89,98±2,19	0,1633
Extrato não nitrogenado (%)	23,07±0,32	26,55±1,69	25,77±1,68	26,12±2,28	23,62±4,02	0,6412
Energia bruta (Kcal.kg ⁻¹)	1463,68±57,20 ^b	1757,50±72,37 ^b	1763,80±80,32 ^b	2252,76±7,69 ^a	2313±170,28 ^a	0,0011

3470 DPS – dias por semana. *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3471 *Energia bruta: calculada a partir de valores fisiológicos padrão: 5,64 kcal/g de proteína, 4,11 kcal/g de carboidratos e 9,44 kcal/g de lipídeos
3472 (NRC, 2011).

3473

3474

3475

3476

3477

3478 Tabela 8: Parâmetros econômicos de produção de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob ciclos de restrição alimentar em Sistema
3479 de bioflocos (BFT)

Parâmetros	Dias de alimentação					<i>P</i> - valor
	3 DPS	4 DPS	5 DPS	6 DPS	7 DPS	
<i>Custo</i>						
Custo do alimento (US\$.Kg ⁻¹)	20,84±0,29 ^d	36,24±1,54 ^c	45,23±3,07 ^{bc}	52,80±7,44 ^b	66,99±5,35 ^a	<0,0001
Redução custo do alimento (%)	68,89	45,90	32,48	21,18	0,00	nc
Custo de alimentação (US\$)	24,76±2,02 ^c	33,54±2,08 ^{bc}	40,37±1,75 ^b	42,17±6,14 ^b	57,61±5,28 ^a	<0,0001
Redução custo da alimentação (%)	57,02	41,78	29,93	26,80	0,00	nc
FCR econômico	1,98±0,00 ^d	1,61±0,03 ^c	1,55±0,04 ^{bc}	1,39±0,01 ^a	1,49±0,02 ^b	<0,0001
<i>Receita</i>						
Preço do juvenil (US\$ por 1000 peixes)	60,90±0,35 ^c	85,10±1,32 ^b	98,06±5,45 ^b	115,66±10,31 ^a	129,14±6,37 ^a	<0,0001
Receita bruta (US\$ por 1000 peixes)	57,65±1,45 ^d	82,53±1,38 ^c	94,73±3,98 ^b	107,18±4,01 ^a	113,12±3,29 ^a	<0,0001
Margem de lucro bruto (US\$ por 1000 peixes)	32,89±2,02 ^c	48,98±3,32 ^b	54,36±3,17 ^b	65,01±4,17 ^a	55,52±2,05 ^b	<0,0001
Incremento na margem de lucro (%)	-45,76	-11,78	-2,09	17,09	0,00	nc
Lucratividade (%)	133,67±17,08 ^{ab}	146,85±19,43 ^{ab}	134,79±8,74 ^{ab}	156,98±29,34 ^a	97,13±12,37 ^b	0,0266

3480 DPS – dias por semana; nc: não calculado; *Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey
3481 (P < 0,05).

3482

3483

3484

ANEXO II - FIGURAS

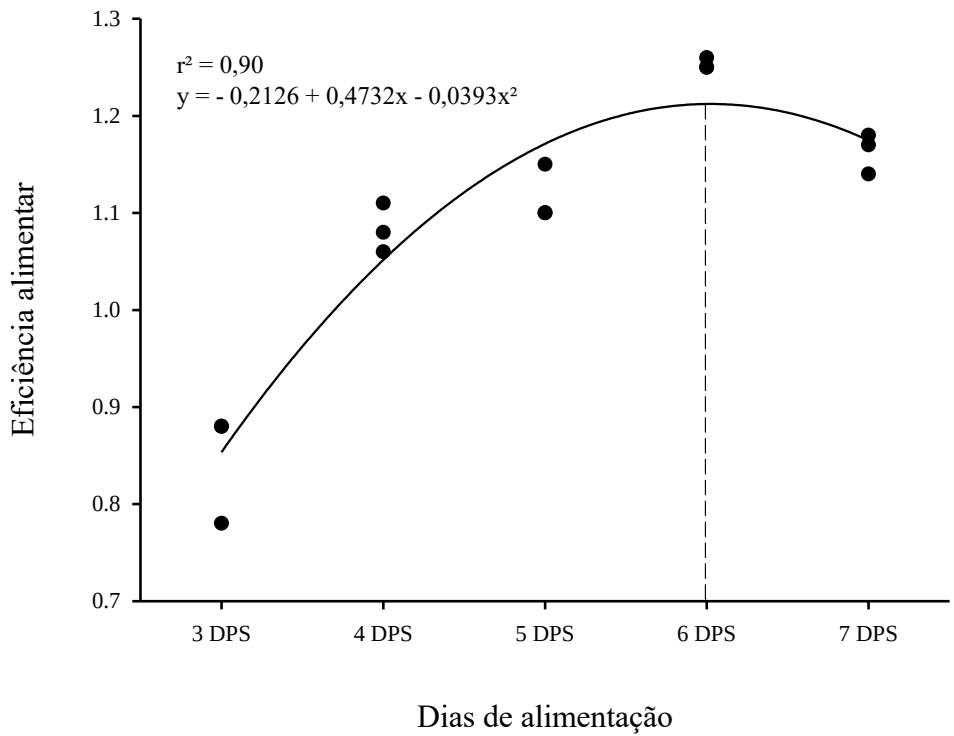


Figura 1: Relação entre eficiência alimentar de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

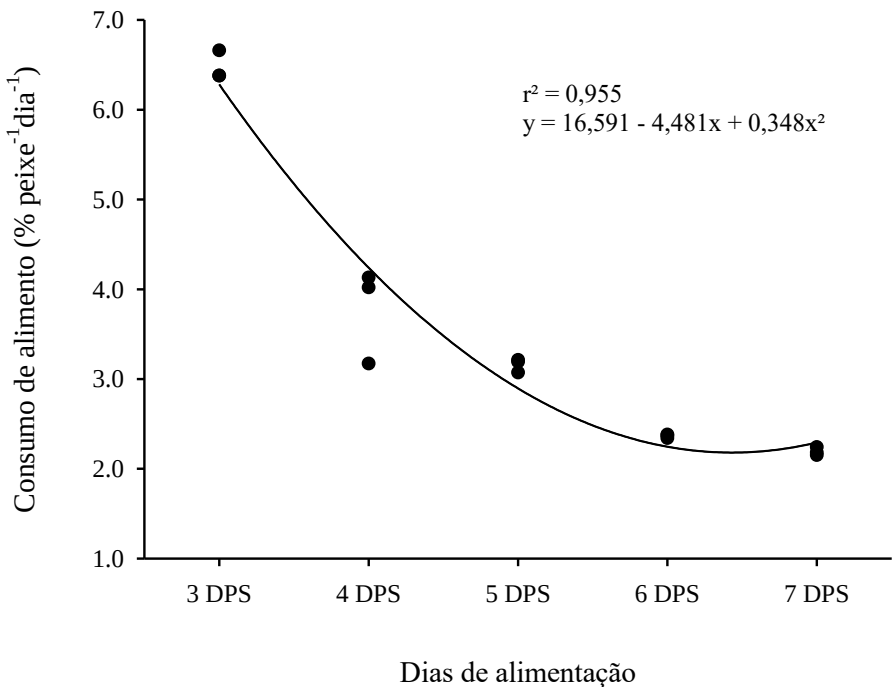


Figura 2: Relação entre consumo de ração de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

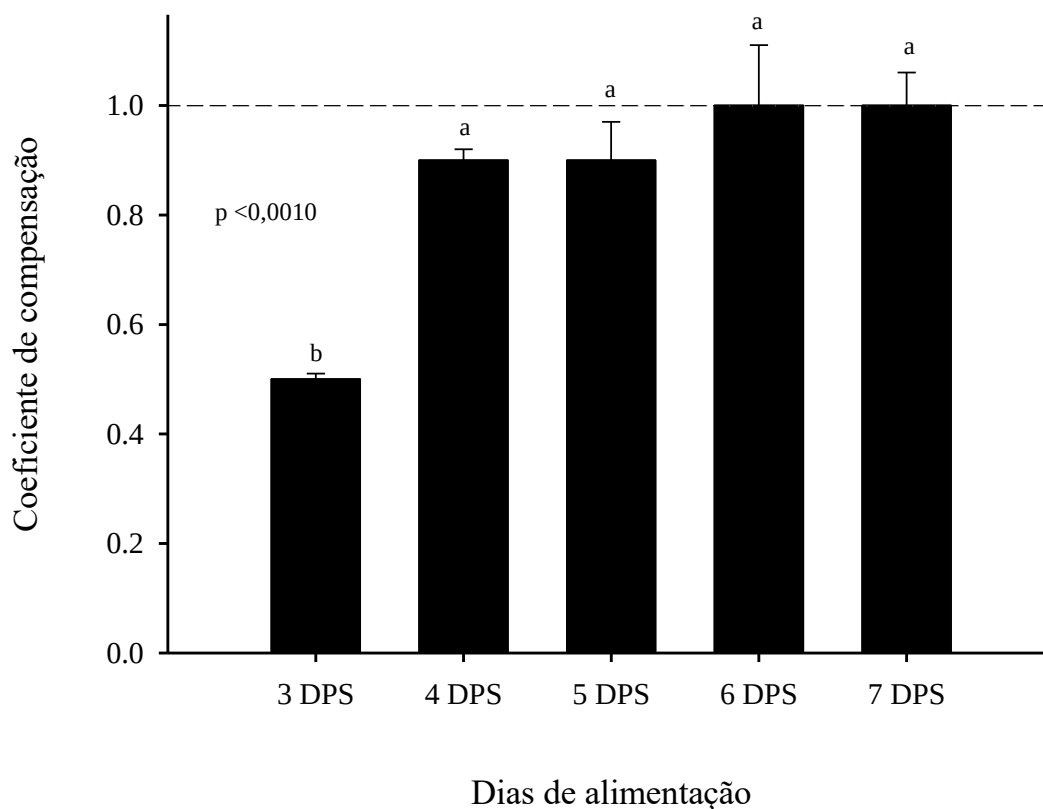


Figura 3: Coeficiente de compensação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

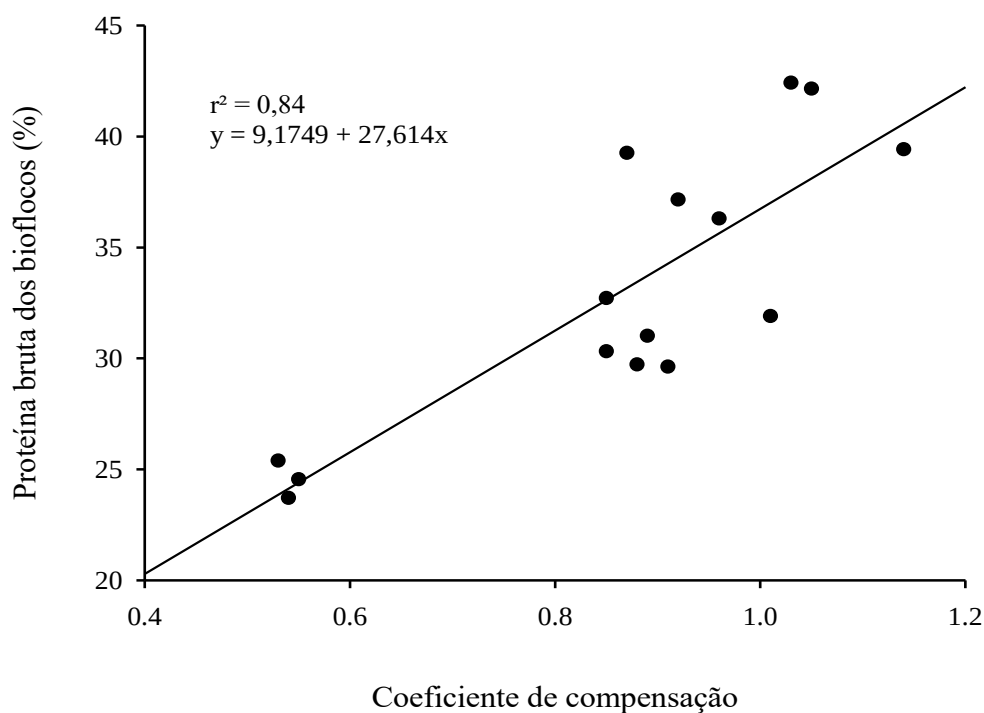


Figura 4: Correlação entre a proteína bruta do bioflocos e o coeficiente de compensação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

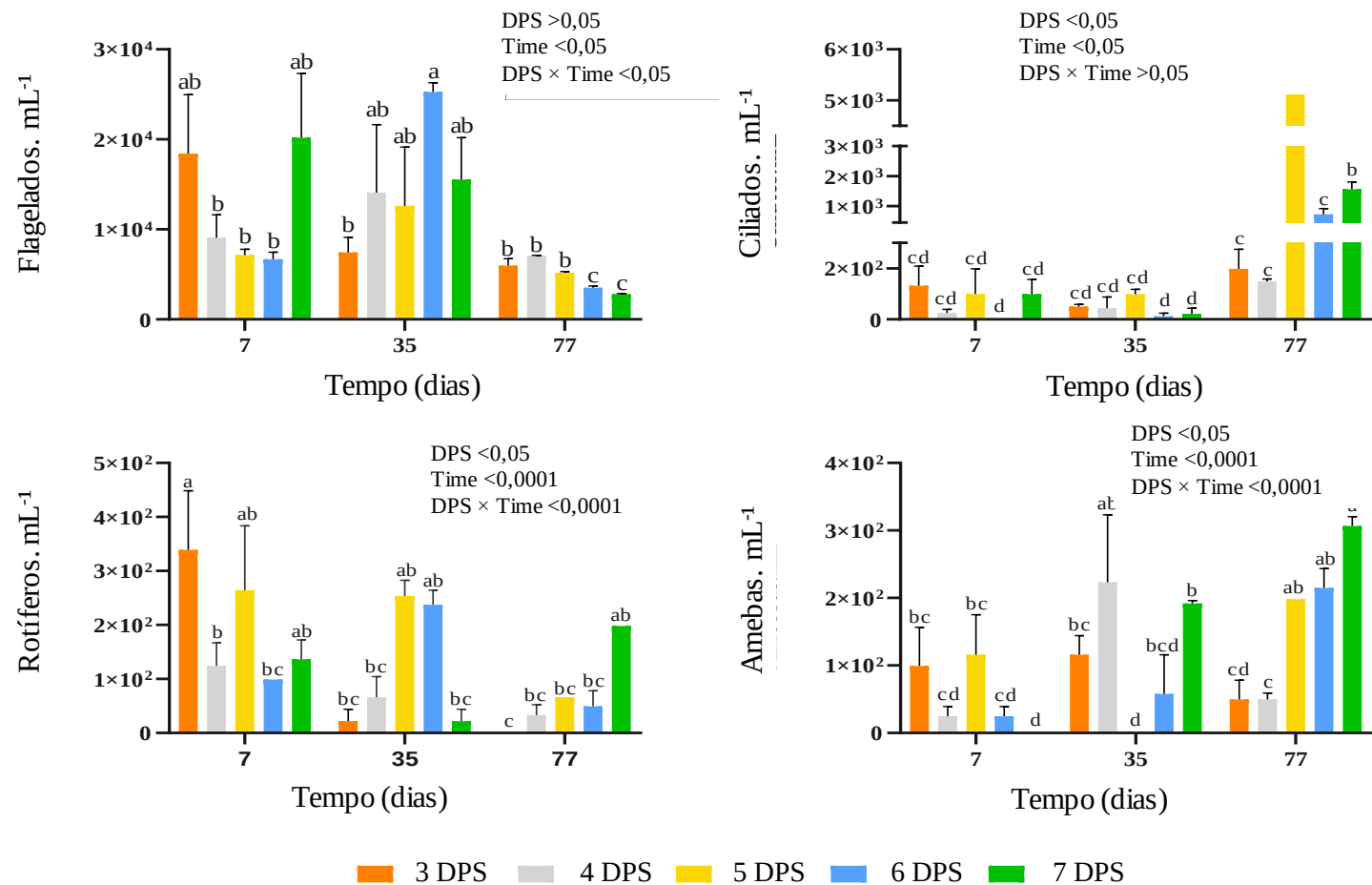


Figura 5: Variação da abundância de microrganismos – (A) flagelados, (B) ciliados, (C) rotíferos e (D) amebas em diferentes tempos na criação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes ciclos de restrição alimentar em sistema de bioflocos (BFT)

CONCLUSÃO GERAL

Os agregados microbianos podem ser aliados importantes no manejo alimentar de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), porém a sua composição nutricional pode ser um fator limitante para aplicação de manejos mais restritivos, pois o perfil nutricional dos agregados microbianos é diretamente influenciado pelo aporte de nutrientes no sistema. O *design* do sistema pode interferir tanto na qualidade nutricional do bioflocos, como na sua capacidade de compensar o crescimento dos peixes na ausência e/ou restrição de ração. Nossos estudos foram conduzidos em sistema estático, o que nos permitiu observar e avaliar a influência do manejo na dinâmica do sistema.

A comunidade microbiana também pode ser influenciada pelos diferentes manejos alimentares seja na sua abundância ou na sua concentração total. Na ausência e/ou a restrição de alimento inerte os animais tendem a buscar ativamente por alimento, aumentando assim o consumo aparente dos agregados microbianos. Como estratégia de produção em um sistema de bioflocos estático, os juvenis de tilápia podem ser submetidos a restrição alimentar de ração sem prejuízos ao seu crescimento em duas condições distintas:

- 1) Restrição total: por até uma semana (capítulo II); e
- 2) Restrição parcial: ciclos de 1 dia de restrição/6 dia de alimentação (capítulo III).

A restrição de alimento inerte associada ao bioflocos permite manter e melhorar a eficiência alimentar (capítulo II e III), ao reduzir a quantidade de alimento a ser ofertado (26.8%). Esse aspecto da alimentação é altamente desejável na criação comercial, posto que os gastos com ração representam até 60% dos custos de produção. Embora nessa fase, o consumo total de ração seja muito menor em relação as fases

posteriores (recria e terminação), as rações comerciais destinadas as fases iniciais de criação são mais caras pelo seu alto teor de proteína bruta. Nas condições de restrição alimentar propostas (capítulo II e III), é intrigante como o bioflocos contribuiu para a manutenção da sobrevivência dos animais mediante ao desafio nutricional. Esse aspecto é importante na produção de juvenis de tilápia, haja visto que no Brasil há uma crescente demanda por juvenis (20 a 50g) destinados à produção de peixes em tanques-rede e para a antecipação da produção em viveiros escavados, como estratégia de redução do tempo no ciclo de produção. Nessa fase, esses animais são comercializados por unidade e apresentam valor agregado na composição do seu preço. Logo, além de reduzir custos com alimentação o sistema BFT pode contribuir na manutenção estratégica de lotes de juvenis de tilápia destinados a comercialização, especialmente em regiões com gradientes climáticos como o sudeste e o sul do país.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Em termos de contribuição dos bioflocos na alimentação dos peixes é de extrema importância compreender melhor quais os fatores que associados ao aporte de alimento no sistema podem influenciar a composição nutricional dos agregados microbianos. Esse conhecimento, pode auxiliar na manipulação nutricional dos bioflocos e aumentar a capacidade de compensação de crescimento durante manejos alimentares restritos.

Em nosso estudo, exploramos a capacidade do bioflocos em auxiliar a manutenção do crescimento frente a ausência de alimento, e em ciclos de ausência e presença de alimento. No entanto, existem diversas estratégias que podem ser exploradas no campo da alimentação, onde os agregados microbianos podem contribuir como fonte suplementar de alimento. Logo, estudos que explorem os processos de realimentação após períodos de restrição alimentar na perspectiva de tempo de realimentação, frequência de alimentação, da qualidade do alimento ofertado durante esse período e/ou desses fatores associados são bem-vindos.