



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS (LINHAGEM GIFT)
EM SISTEMAS DE BIOFLOCOS: É POSSÍVEL
OTIMIZAR OS NÍVEIS PROTEICOS E
ENERGÉTICOS NA FASE DE BERÇÁRIO?**

TAYNA SGNAULIN

CHAPECÓ, 2019

TAYNA SGNAULIN

**NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS (LINHAGEM GIFT) EM SISTEMAS DE
BIOFLOCOS: É POSSÍVEL OTIMIZAR OS NÍVEIS PROTEICOS E
ENERGÉTICOS NA FASE DE BERÇÁRIO?**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Ciência e Produção Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Zootecnia**

Orientador: Maurício Gustavo Coelho Emerenciano

Co-orientador(s): Diogo Luiz de Alcântara Lopes e Sara Mello Pinho

Chapecó, SC, Brasil

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CEO/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Sgnaulin, Tayna

NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS (LINHAGEM GIFT) EM
SISTEMAS DE BIOFLOCOS: É POSSÍVEL OTIMIZAR OS
NÍVEIS PROTEICOS E ENERGÉTICOS NA FASE DE
BERCÁRIO? / Tayna Sgnaulin. -- 2019.

65 p.

Orientador: Maurício Gustavo Coelho Emerenciano

Coorientador: Diogo Luiz de Alcântara Lopes

Coorientadora: Sara Mello Pinho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2019.

1. Biofoco. 2. Nutrição . 3. Tilápis . 4. Saúde . I. Coelho
Emerenciano, Maurício Gustavo . II. de Alcântara Lopes , Diogo
Luiz. Mello Pinho , Sara. III. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Titulo.

Universidade do Estado de Santa Catarina

UDESC Oeste

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

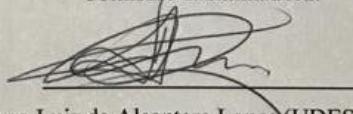
**NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS (LINHAGEM GIFT) EM SISTEMAS DE
BIOFLOCOS: É POSSÍVEL OTIMIZAR OS NÍVEIS PROTEICOS E
ENERGÉTICOS NA FASE DE BERÇÁRIO?**

Elaborada por

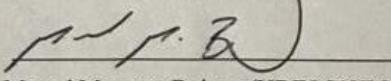
Tayna Sgnaulin

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Comissão Examinadora:



Diogo Luiz de Alcantara Lopes (UDESC/CEO)



Marcel Manente Boiago (UDESC/CEO)

Cintia Labussière Nakayama (UFMG)

Chapecó, 30 de julho de 2019.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus, pelo dom da vida e principalmente por Ele sempre estar me apoiando nas horas de desespero, me dando forças para seguir em frente.

A minha mãe Janete e a meu pai Volmir, por terem me dado à oportunidade de voar e ir em busca dos meus sonhos, sempre me apoiando, incentivando e me dando forças para seguir em frente. A meu irmão Lucas por me apoiar, me incentivar e me dar conselhos.

Ao meu orientador e amigo Maurício Emerenciano, por acreditar no meu potencial e sempre me forçar em sempre buscar mais e mais, obrigado por cada ensinamento, cada incentivo e cada conversa, tenho a certeza que a bagagem que adquiri convivendo com o senhor irão me tornar uma excelente profissional.

Ao meu coorientador Diogo de Alcantara Lopes, pela adoção e por sempre estar disposto a me ajudar.

A minha coordenadora Sara Pinho, pela dedicação e amizade.

A minha banca examinadora pelas contribuições que irão acrescentar no meu trabalho.

Aos professores do Programa de Pós Graduação da UDESC, obrigado por cada ensinamento repassado, cada conselho e por serem exemplos de profissionais.

A turma de Pós Graduação 2017/2, em especial a Mayla Regina Souza, pela grande amizade e por todos os ensinamentos repassados sobre aves e suínos.

Ao Laboratório de Aquicultura e a família LAQ por cada conversa jogada fora, cada janta, cada risada, cada reunião, cada biometria ou rotina realizada. Vocês meus grandes amigos, obrigado!

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Universidade do Estado de Santa Catarina

NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS (LINHAGEM GIFT) EM SISTEMAS DE BIOFLOCOS: É POSSÍVEL OTIMIZAR OS NÍVEIS PROTEICOS E ENERGÉTICOS NA FASE DE BERÇÁRIO?

AUTOR: Tayna Sgnaulin

ORIENTADOR: Mauricio Gustavo Coelho Emerenciano

Chapecó, 30 de julho de 2019

A tecnologia de bioflocos (BFT, em sua sigla em inglês) vem sendo amplamente empregada na aquicultura por se tratar de um sistema intensivo, porém sustentável. A técnica promove o crescimento de microrganismos que desempenham papéis importantes no meio aquático como a manutenção da qualidade de água, a competição com patógenos e principalmente no que diz respeito à alimentação complementar. Em relação as dietas de peixes, um dos itens mais caros nos custos de produção, as formulações para sistemas BFT tem se mostrado como um novo horizonte. Neste sentido, as formulações vem sendo ajustadas e a correta relação da energia e proteínas nas dietas de tilápias podem melhorar a utilização dos nutrientes, o desempenho zootécnico e a saúde do animais. Sendo assim, o objetivo foi avaliar a hematologia e o desempenho zootécnico de alevinos de tilápias, alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína e energia em sistemas de bioflocos. Além disso foi avaliado o perfil dos microrganismos do biofoco e a bromatologia dos peixes e dos agregados microbianos. Para tal, durante 42 dias, os alevinos de tilápia (peso médio inicial $0,99 \pm 0,1$ g), foram avaliados em um delineamento fatorial (proteína e energia como fatores), no qual os tratamentos constituíram-se da combinação de três níveis proteicos (22, 26 e 30% Proteína Digestível) e três níveis energéticos (3000, 3150 e 3300 kcal de Energia Digestível/kg), totalizando nove tratamentos com quatro repetições cada. Nos resultados de desempenho zootécnico, o comprimento total, fator de condição, conversão alimentar e sobrevivência não houve diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$). Para comprimento padrão, peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico houve efeito da relação energia e proteína ($p < 0,05$). Os resultados de peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico, foram observados que os níveis de 22 e 26% PD não ocorreram o efeito da energia, no entanto o nível 30% de PD foi afetado negativamente pelos níveis de energia, onde o nível de 3300 (kcal de ED/kg) apresentou resultados menores que os demais. O nível de proteína teve efeito quando utilizamos 22% PD e 3150 (kcal de ED/kg). Não ocorreu interação para análise bromatológica, índices somáticos e hematológicos($p > 0,05$). Os resultados indicam que a melhor relação energia proteína para alevinos de tilápias cultivadas em sistemas de bioflocos é 26% proteína e 3000 kcal de ED/kg.

Palavras-chave: Biofoco, Nutrição, *Oreochromis niloticus*, Saúde, Sanidade.

ABSTRACT

Master's Dissertation

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade do Estado de Santa Catarina

NUTRITION OF TILAPIAS (GIFT LINEAGE) IN BIOFLOC SYSTEMS: IS IT POSSIBLE TO OPTIMIZE PROTEIN AND ENERGY LEVELS IN THE NURSERY PHASE?

AUTHOR: Tayna Sgnaulin

ADVISER: Mauricio Gustavo Coelho Emerenciano

Chapecó, 30 july 2019

Biofloc technology (BFT) has been widely used in aquaculture because it is an intensive and sustainable system. The technique promotes the growth of microorganisms that play important roles in the aquatic environment such as the maintenance of water quality, competition with pathogens and especially to complementary feeding. Fish diet it is one of the most expensive items in production system, therefore, BFT systems have shown as a new alternative. In that context, the formulations are being adjusted and the correct energy and protein ratios in tilapia diets can improve nutrient utilization, performance and health. Therefore, the aim of this work was to evaluate the hematology and zootechnical performance of tilapia fingerlings fed with different levels of protein and energy in biofloc systems. In addition, the profile of biofloc microorganisms and bromatology of fish and microbial aggregates were evaluated. For this purpose, for 42 days, tilapia fingerlings (initial mean weight 0.99 ± 0.1 g) were evaluated in a completely randomized factorial design with two treatments (protein and energy), which the treatments consisted of a combination of three protein levels (22, 26 and 30% PD) and three energy levels (3000, 3150 and 3300 kcal), totalizing nine treatments with four replicates each. The total length, overall condition, feed conversion and survival rates did not differ significantly between treatments. Energy and protein levels affected standard length, final weight, weight gain and specific growth rate. The final weight, weight gain and specific growth rates at 22% and 26% DP levels were not affected by energy level; however, the 30% DP level was negatively affected by energy levels. Protein levels were affected by 22% DP and 3150 kcal DE/kg. There were no effects on bromatological analysis, somatic or hematological indices. These results suggest that the optimal protein energy ratio for tilapia fingerlings grown in biofloc systems is 26% protein and 3000 kcal ED/kg.

Keywords: Biofloco, Nutrition, *Oreochromis niloticus*, Health, Sanity.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1: Dados de produção da pesca e aquicultura mundial.....	11
Figura 2: Tilápis da Linhagem GIFT.....	12
Figura 3: Sistema de produção em bioflocos na FURG-RS.....	14
Figura 4: Microrganismos mais frequentes em bioflocos, protozoários flagelados (A), protozoários ciliados (B), 7 nematóides (C) e copépodes (D) (aumento de 10x).....	15
Figura 5: Evolução de publicações de trabalhos com tilápia em sistema de bioflocos.....	16

CAPÍTULO II – MANUSCRITO

Figure 1: Distribution profile of the most common planktonic organisms in tilapia cultivation in bioflocks, during the experimental period.....	49
---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – MANUSCRITO

Table 1: Percentage composition and nutritional values of experimental diets with different energy and protein levels.....	46
Table 2: Mean (\pm standard deviation), minimum and maximum values of water quality parameters in the treatments and macrocosms throughout the experimental cultivation.	48
Table 3: Zootechnical performance of tilapia fingerlings cultivated in biofloc system and fed a diet formulated under different energy and protein levels.....	50
Table 4: Somatic indices (HSI and CY) of tilapia fingerlings grown in biofloc system and fed a diet formulated under different protein and energy levels.....	51
Table 5: Bromatological analysis of the biofloc and carcass of tilapia fingerlings grown in biofloc system and fed a diet formulated under different protein and energy levels.	52
Table 6: Hematological parameters of tilapia fed different levels of protein and energy in biofloc system.....	53

SUMÁRIO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
1.1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1.1 Aquicultura.....	11
1.1.2 Bioflocos	13
1.1.3 Nutrição de tilápia.....	17
1.1.4 Parâmetros hematológicos de tilápia em BFT.....	18
1.1.5 Berçário	19
1.2. OBJETIVOS.....	21
1.1.1 Objetivo geral	21
1.1.2 Objetivos específicos	21
1.3 HIPOTESE.....	22
2. CAPÍTULO II (MANUSCRITO) <i>Tilapia nutrition in biofloc systems: it is possible to optimize protein and energy levels in the nursery phase?</i>	23
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
4. REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO	54
5. CARTA DE APROVAÇÃO CETEA	62
6. ANEXOS	63

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

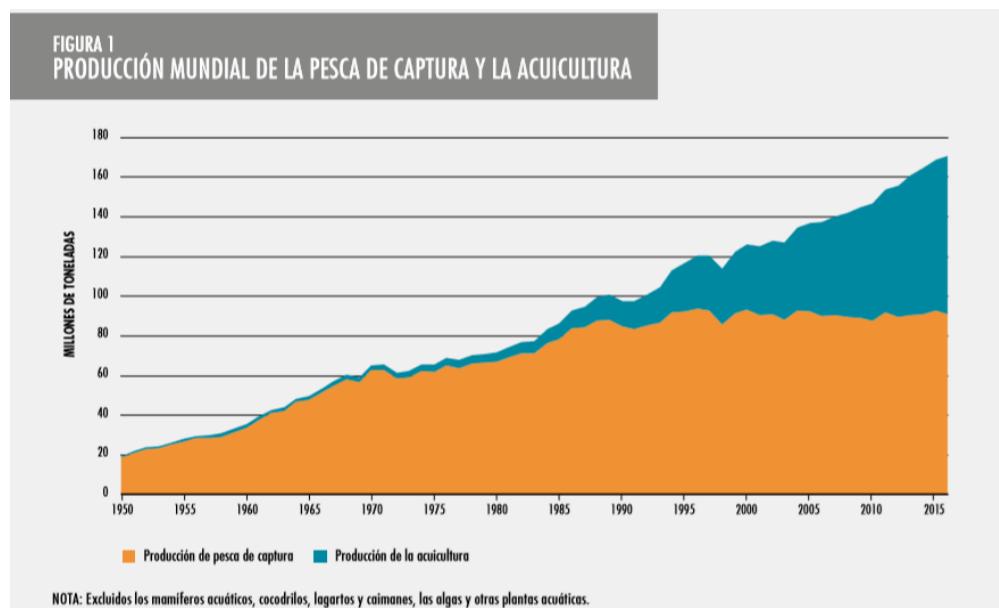
1.1. INTRODUÇÃO

1.1.1 Aquicultura

Estimativas recentes revelam que a população mundial deve chegar a 9 bilhões de pessoas no ano de 2050 e, segundo recomendações da Organização Mundial da Saúde - OMS, para que a população tenha um estilo de vida saudável, é recomendado o consumo de no mínimo 12 kg de pescado por habitante ao ano. O Brasil, assim como muitas regiões do mundo, ainda não atingiu o recomendado pela OMS (WHO, 2007), o que nos mostra que há uma demanda considerável por produtos de origem animal aquática (FAO, 2016).

Até os anos 90, o principal fornecedor de proteína de origem animal aquática mundial era a indústria pesqueira. A partir dos anos 2000, a aquicultura começou a contribuir significativamente com o fornecimento de pescados (Figura 1). Isso ocorreu devido à sobre exploração de algumas espécies, que teve por consequência a estagnação dos estoques naturais e o aumento do consumo de pescadas pela população. Estimativas da FAO apontam que em 2025 a aquicultura vai ultrapassar a pesca na produção de pescados (FAO, 2016).

Figura 1: Dados de produção da pesca e aquicultura mundial.



Fonte: FAO, 2018.

O cenário mundial, marcado pelo aumento populacional e pela crescente demanda por alimentos, aliado à estagnação dos estoques naturais, coloca a produção

de alimentos para a humanidade como um dos maiores desafios da sociedade atual. Nesse contexto, a FAO aposta que a aquicultura é a atividade com maior potencial para atender à crescente demanda por alimentos de origem aquática (FAO, 2016).

A aquicultura se caracteriza como uma atividade de produção de organismos aquáticos. No Brasil a atividade com maior destaque é a piscicultura continental, que representa a maior parcela de produção de pescados nacional. Estima-se que em 2018 foram produzidas, aproximadamente, 722.560 toneladas de peixes de água doce no Brasil, 4,5 % a mais que em 2017 (691.700 toneladas) (PEIXE BR, 2019). Vale ressaltar que entre esse volume produzido, 400.280 toneladas foram provenientes do cultivo de tilápia, o que representou um crescimento de 11,9% em relação ao ano anterior, cuja produção ficou estimada em 357.639 toneladas (PEIXE BR, 2018).

A tilápia lidera a produção brasileira de peixes já há alguns anos, muito em função de suas características biológicas. A tilápia GIFT (Figura 2) é a linhagem mais cultivada no Brasil, pois apresenta bons resultados de desempenho zootécnico, de rusticidade, domesticação, ciclo de cultivo curto, domínio da reprodução e bons rendimentos de filé, além de ter a qualidade da carne com reconhecida aceitação pelo consumidor, e um mercado consolidado e em crescente expansão (WATANABE et al., 2012).

Figura 2: Tilápia linhagem GIFT.



Fonte: Tayna Sgnaulin

Apesar do mercado da tilapicultura estar relativamente bem desenvolvido no Brasil, diversos desafios são apontados para garantir o crescimento sustentável dessa

atividade. A intensificação dos sistemas de produção, aliado as más práticas de manejo, alevinos de má procedência, dietas mal formuladas e o fator clima em algumas regiões do Brasil, favorecem o surgimento de enfermidades, desencadeando baixo desempenho e grandes prejuízos econômicos e sociais (KUBITZA, 2008). Grande parte da produção de tilápia provém de sistemas semi-intensivos (FERNANDES, 2010). Nesses sistemas, normalmente há dependência de grandes volumes de água. Isto porque, é preciso manter a qualidade de água para um bom desenvolvimento dos animais, uma vez que os peixes excretam amônia e esse composto é tóxico para eles. Além disso, dentro dos sistemas semi-intensivos, é comum ocorrer a descarga dos efluentes ricos em nutrientes em ambientes aquáticos naturais sem que haja tratamento preliminar, o que pode causar a eutrofização de ambientes adjacentes (BUHMANN et al., 2015; HU et al., 2015). Além do risco de eutrofização, as águas com excesso de matéria orgânica são propícias para a disseminação de patógenos e proliferação de doenças e, diante dessa realidade, é crescente o interesse na aplicação de manejos ou sistemas que visem atingir elevada produtividade com o mínimo impacto ambiental (MARTINS et al., 2010; RIJN, 2013).

1.1.2 Bioflocos

As primeiras pesquisas com a tecnologia de bioflocos (figura 3), surgiram no início da década de 1970, no Ifremer-COP (*French Research Instituto de Exploração do Mar, Centro Oceânico do Pacífico*) com diferentes espécies de camarões peneídeos (EMERENCIANO et al., 2013). Posteriormente, no início dos anos 1990, novos estudos foram realizados em Israel e na Waddel Mariculture Center, nos Estados Unidos, com tilápias e o camarão branco do pacífico (AVNIMELECH, 1994). Com os excelentes resultados das pesquisas, a tecnologia foi se espalhando pelo mundo e, encontra-se difundida com sucesso e em grande escala em países da Ásia, América Latina e América Central, tendo também destaque, em menor escala, em países como Estados Unidos, Coreia do Sul, Itália, China e Brasil (EMERENCIANO et al., 2013). Especificamente no Brasil, a tecnologia chegou somente no ano de 2005, quando Wasielesky e colaboradores iniciaram pesquisas com o biofoco na Universidade Federal do Rio Grande – FURG, utilizando o camarão branco do pacífico (WASIELESKY et al., 2006; EMERENCIANO et al., 2007; KRUMMENAUER et al., 2011).

Figura 3: Sistema de produção em bioflocos na FURG-RS.

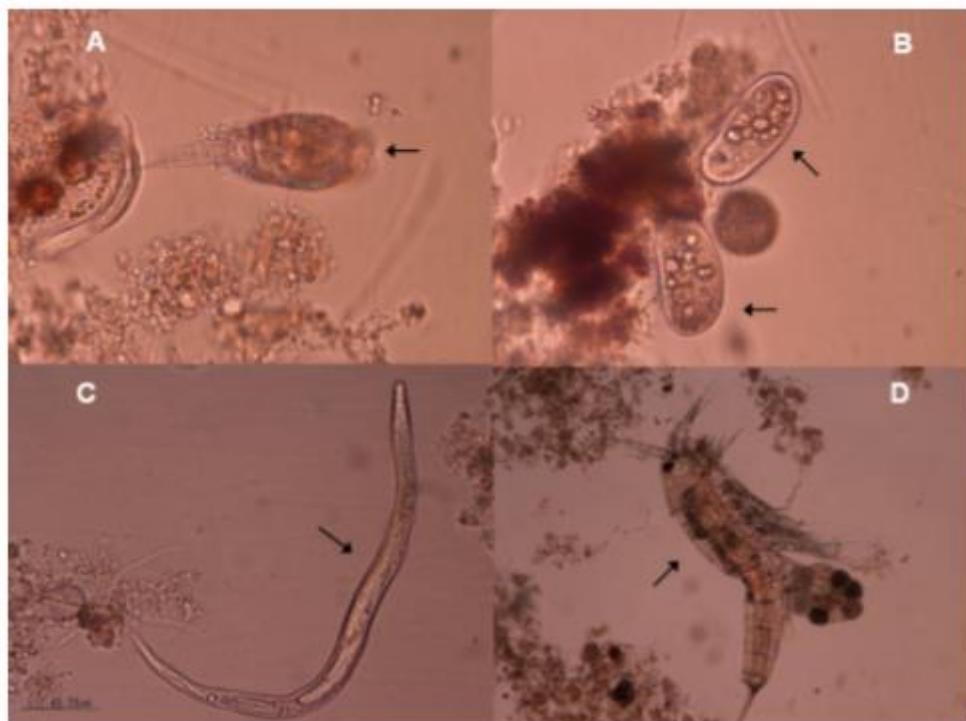


Fonte: Tayna Sgnaulin

O cultivo em biofoco, também chamado de *Biofloc Technology* ou BFT na sua sigla em inglês é uma tecnologia considerada como a revolução azul. (EMERENCIANO et al., 2013). A tecnologia é caracterizada por produzir altas quantidades de pescado em pequenas áreas, com redução no consumo de água. Para manter a qualidade de água adequada no cultivo e não prejudicar o desenvolvimento dos organismos cultivados, é realizado o estímulo do crescimento de uma comunidade microbiana, através da manipulação da relação carbono/nitrogênio da água (TIMMONS et al., 2002; EBELING et al., 2006; KRUMMENAUER, 2012; EMERENCIANO et al., 2017). Os microrganismos (figura 4) fomentados no meio de cultivo se constituem principalmente de bactérias autotróficas e heterotróficas, que tem como principal função realizar os processos de nitrificação da amônia, do nitrito e do nitrato no sistema de produção, transformando esses compostos tóxicos em biomassa microbiana (AVNIMELECH, 1999; 2007), contribuindo assim para a melhoria da qualidade de água dos cultivos, através da assimilação dos nitrogenados. Além das bactérias supracitadas, outros microrganismos são estimulados, tais como rotíferos, nematoides, ciliados e microalgas (PINHO, 2015; MOLINARI, 2015; RAY et al., 2010). Esses microrganismos, por sua vez, se agregam aos restos de fezes e ração, formando o que se denomina de flocos

microbianos, ou bioflocos, que são ricos em nutrientes como proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos e vitaminas.

Figura 4: Microrganismos mais frequentes em bioflocos, protozoários flagelados (A), protozoários ciliados (B), 7 nematóides (C) e copépodes (D) (aumento de 10x).



Fonte: Emerenciano et al., 2013

Esta microbiota rica nutricionalmente é um importante item alimentar dos peixes cultivados, e serve como complemento à dieta alimentar dos animais cultivados (JU et al., 2008; WEI et al., 2016; BOSSIER e EKASARY, 2017), pois estão disponíveis constantemente para os animais, e podem contribuir significativamente para melhoria da conversão alimentar. Outra contribuição importante desses microrganismos é a biosseguridade do sistema produtivo, pois é na presença deles que ocorre competição biológica entre os patógenos, e a consequente inibição da proliferação dos microrganismos patogênicos (EMERENCIANO et al., 2017).

Para que ocorra o aproveitamento integral do biofoco é necessário que a espécie desejada apresente algumas características biológicas específicas como: i) hábito alimentar filtrador e/ou detritívora, com aparatos morfológicos adaptados para aproveitar os agregados; ii) resistência a altas densidades de cultivo; iii) baixa sensibilidade a níveis elevados de NH₄ e NO₂; iv) e tolerância aos sólidos suspensos (EMERENCIANO et al.,

2013). Os organismos mais cultivados e que se adaptam bem ao sistema de BFT são as tilápias (*Oreochromis sp.*) e o camarão branco do Pacífico (*Litopenaus vannamei*) (AVNIMELECH, 2011; EMERENCIANO et al., 2013).

Atualmente, o uso da tecnologia de biofloco está mais difundido no mundo para o cultivo de camarões, mas nos últimos anos houve um crescimento significativo nas pesquisas com as tilápias, que vêm apresentando também resultados positivos (Figura 5).

Figura 5: Evolução de publicações de trabalhos no Scopus com tilápia em sistema de bioflocos.



Fonte: Sara Pinho

Pesquisas demonstram que a tilápia se adapta muito bem em sistema de biofloco, sendo possível melhorar significativamente seu desempenho zootécnico e seu sistema imune (AZIM e LITTLE, 2008; EKASARI et al., 2013; LUO et al., 2014; LONG et al., 2015; BROL, et al., 2017; MANSOUR e ESTEBAN, 2017; DURIGON et al., 2019a; DURIGON et al., 2019b). Além disso, em função do biofloco ser rico em nutrientes, se observa uma redução significativa na demanda proteica das dietas dos peixes cultivados, inclusive das tilápias. Azim e Little (2008) relataram que a tecnologia de biofloco proporcionou uma redução de 11% nos níveis de proteína bruta nas dietas de juvenis de tilápias, sem que houvesse prejuízo no desempenho zootécnico dos animais. O mesmo foi observado por Mansour e Esteban (2017), onde tilápias alimentadas com 20% de proteína bruta e estocadas em biofloco, superaram os resultados de desempenho significativamente, quando comparados com os peixes alimentados com 30% de proteína bruta e estocados em água clara.

1.1.3 Nutrição de tilápia

Em sistemas convencionais de cultivo de peixes, cerca de 50 – 60% dos custos estão atrelados à alimentação (SCORVO FILHO et al., 2006). Uma dieta corretamente balanceada influencia diretamente nos custos da produção da atividade, pois a absorção dos nutrientes torna-se mais eficiente, não ocorre o desperdício de nutrientes através da excreção dos animais, e se observa melhora na qualidade de água do cultivo. Para uma correta formulação da dieta, é necessário ter conhecimentos dos hábitos alimentares da espécie, da fisiologia digestiva e das exigências nutricionais do animal. A correta relação entre energia e proteína nas dietas é um fator crucial na exigência da espécie, pois ela influencia diretamente no crescimento, na eficiência alimentar e na composição corporal dos peixes. (PORTZ E FURUYA, 2012).

As proteínas são consideradas os nutrientes de maior importância para os peixes, uma vez que possuem funções de formação e manutenção dos tecidos, regulação do metabolismo, transporte de oxigênio e defesa (PORTZ E FURUYA, 2012). Muitos estudos já foram realizados com o intuito de avaliar os níveis ideais de proteína na dieta de tilápias cultivadas em sistemas de água clara (FURUYA, 2010). Bomfim et al., (2008), utilizando o conceito de proteína ideal, suplantou dietas de alevinos tilápias ($0,80 \pm 0,17$ g) com aminoácidos sintéticos, e concluiu que é possível diminuir os níveis de proteína de 32% para 28%, sem afetar o desempenho zootécnico dos animais. O mesmo foi observado por Furuya et al., (2005) que, trabalhando com alevinos de tilápia de aproximadamente 4g, também utilizando o conceito de proteína ideal, concluiu que é possível reduzir os níveis de proteína de 30% para 27,5%.

Para que todos os processos fisiológicos estejam em funcionamento, os peixes necessitam constantemente de energia, a qual é adquirida do alimento ingerido ou de reservas corporais na forma de gordura, proteína e glicogênio (KAUSHIK E MÉDALE, 1994). Um nível de energia acima do exigido para o metabolismo da espécie resulta em rápida saciedade dos animais, que cessam a alimentação e, portanto, param de ingerir proteína e outros nutrientes essenciais (HAYASHI et al., 2002). Boscolo et al. (2005), avaliando o desempenho de tilápia do Nilo ($21,0 \pm 4,0$ g) em sistema convencional durante a fase de reversão sexual, com cinco níveis de energia digestível (ED) de 3.300, 3.525, 3.750, 3.975 e $4.200\text{ Kcal/ kg}^{-1}$, observou que o aumento nos níveis de ED proporcionou a redução no desempenho zootécnico dos animais. Carneiro (2016) estudou a relação de proteína/energia digestível de tilápias (200 a 450g) utilizando rações com cinco níveis de

proteína digestível (PD): 14, 19, 24, 29 e 34%, e quatro de energia digestível (ED): 2.600, 2.800, 3.000 e 3.200Kcal/ kg⁻¹, e pode concluir que os melhores resultados de desempenhos foram com 24% de PD e 3.000Kcal/ kg⁻¹ de ED para tilápias.

Furuya, et al. (2012) ressaltam, por fim, que apesar dos grandes avanços que a nutrição de tilápias teve nos últimos anos, ainda faz-se necessários novos estudos, para que sejam avaliadas diferentes fases de cultivo, sistemas de produção e linhagens.

1.1.4 Parâmetros hematológicos de tilápia em BFT

Uma forma eficiente de avaliar o estado da saúde dos animais é através das análises de sangue. O uso da hematologia em trabalhos bioflocos e nutrição de peixes, está cada vez mais comum, pois os parâmetros hematológicos dos peixes refletem o estado de saúde dos animais (HARIKRISHNAN et al., 2011). Assim, sabendo se os animais estão saudáveis ou não, se torna mais fácil o entendimento dos resultados zootécnicos.

Os valores hematológicos dos peixes podem ser influenciados por fatores bióticos e abióticos, a idade dos peixes, fase reprodutiva, sistema de cultivo, alimentação, restrição de nutrientes, processo infecciosos, variação na qualidade de água e estresse (MORAES; MARTINS, 2004; TAVARES DIAS E MORAES, 2004).

O sangue é um tecido conectivo de propriedades especiais, sua matriz extracelular é líquida (plasma), composta por 90% de água, 7% de proteínas (globulinas e albumina) que são imprescindíveis para manutenção da pressão oncótica, além disso, é composto por metabólitos como hormônios, enzimas e eletrólitos variados, de acordo com (RANZANI-PAIVA, 2007). A porção figurada do sangue é composta por eritrócitos, leucócitos e trombócitos cuja origem, desenvolvimento e função, principalmente dos leucócitos, não são conhecidas por completo nos peixes, causando controvérsias entre diferentes estudos (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004). Os eritrócitos são células sanguíneas que tem como função principal transporte de oxigênio para os tecidos (VIADANNA, 2012). Os leucócitos dividem-se em linfócitos, monócitos grânulócitos e têm como principal função a defesa dos organismos a estímulos, externos e internos (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004). Os trombócitos são equivalentes as plaquetas dos mamíferos com funções de coagulação sanguínea e participação no sistema imune inato (STOSIK et al., 2002).

Durigon et al., (2019), reduzindo níveis de proteínas na dieta de tilápias em sistemas de bioflocos não encontrou diferenças estáticas nas análises hematológicas, podendo indicar uma melhora no sistema imune dos peixes, visto que são células do organismo que tem função de defesa contra corpos estranhos, como bactérias ou vírus. Luo et al., (2014), avaliando o desempenho de tilápias (~24,17 g) cultivadas em sistemas de bioflocos, observaram que o sistema imune das mesmas, foram melhores quando cultivadas em sistemas de bioflocos, a melhora do sistema imune dos animais está ligado ao consumo dos flocos microbianos, pois o biofoco fornece micróbios naturais e compostos bioativos, como carotenóides, vitaminas lipossolúveis (JU et al., 2008), e outros compostos imunoestimuladores (CRAB et al., 2012) que estimulam a resposta imune dos peixes cultivados, melhorando a saúde dos animais.

1.1.5 Berçário

O uso de berçários para o cultivo de camarões marinhos já é uma realidade em cultivos semi-intensivos desde os anos 90 (ABCC, 2011). Atualmente, essa prática está se tornando um nicho de mercado para a produção de peixes em função dos benefícios para a produção. Dentre esses benefícios podemos citar: i) a eficiência produtiva, pois geralmente ocorre um crescimento compensatório dos animais quando repovoados nos viveiros convencionais; ii) aumento no número de ciclos por ano e diminuição no tempo de cultivo nos viveiros de engorda final, pois os peixes são estocados com peso maior; iii) maior controle da sobrevivência, da alimentação, dos parâmetros de qualidade de água, uniformidade do lote e prevenção contra patógenos e predadores nessa fase inicial crítica (LEONARDO et al., 2009; SCOPEL e SILVA, 2017). Outra vantagem importante é que em regiões subtropicais do Brasil, pode-se utilizar estufas agrícolas e obter um maior controle da temperatura, obtendo maiores taxas de crescimento e consequentemente mais ciclos durante o ano.

Diversos estudos têm demonstrado a efetividade da produção de juvenis tilápias utilizando a tecnologia de bioflocos (AVNIMELECH, 1999; MILSTEIN et al., 2001; AVNIMELECH, 2007; AZIM e LITTLE, 2008; AVNIMELECH, 2011 EKASARI et al., 2015, BROL et al., 2017), porém é possível observar que existe uma lacuna nas pesquisas quanto à utilização da referida tecnologia nas fases iniciais de cultivo. Por exemplo,

Avnimelech (2007) trabalhou com juvenis de 47 gramas; Azim e Little (2008) utilizaram animais entre 80 e 120g, enquanto que Crab et al. (2009) realizaram experimentos com juvenis de 50 a 105,5g, ficando explícito a necessidade de se realizar estudos complementares a fim de avaliar a aplicabilidade do biofloco nas fases iniciais de cultivo.

1.2. OBJETIVOS

1.1.1 *Objetivo geral*

- Avaliar diferentes níveis de proteína e energia no desempenho zootécnico e hematológico de tilápias (linhagem GIFT) cultivadas em sistemas de bioflocos na fase de berçário.

1.1.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar os níveis de proteína digestível de 22, 26 e 30% de PD e energia digestível de 3000, 3150 e 3300 kcal de ED/kg;
- Avaliar os índices hepatossomáticos e rendimento de carcaças;
- Caracterizar a comunidade planctônica presente na água do cultivo;
- Realizar análises hematológicas dos peixes e avaliar seu status de saúde e nutricional;
- Avaliar a composição bromatológica do biofloco e dos peixes.

1.3 HIPOTESE

Devido à disponibilidade dos agregados microbianos (bioflocos) para consumo dos peixes, será possível reduzir os níveis de proteína e energia (digestíveis) na dieta, sem afetar os parâmetros zootécnicos e hematológicos dos alevinos de tilápias.

2. CAPÍTULO II (MANUSCRITO)

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de um manuscrito com sua formatação de acordo com as orientações da revista *Aquaculture* (QUALIS CAPES A2 na área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros com fator de impacto igual a 1,893), ao qual será submetido, sendo ele intitulado:

2.1 MANUSCRITO: *Tilapia nutrition in biofloc systems: it is possible to optimize protein and energy levels in the nursery phase?*

1 Research Article: **Aquaculture Journal (Elsevier)**

2
3 Nutrition of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) in biofloc technology system:
4 it is possible to optimize digestible protein and digestible energy levels during nursery
5 phase?
6
7

8 Tayna Sgnaulin^a, Emerson Giuliani Durigon^b, Sara Mello Pinho^c, Gabriela Tomas
9 Jerônimo^d, Diogo Luiz de Alcantara Lopes^a, Maurício Gustavo Coelho Emerenciano^{a,e *}
10

11 ^aSanta Catarina State University (UDESC), Animal Science Postgraduate Program
12 (PPGZOO/UDESC), Chapecó, SC, Brazil

13 ^bSanta Maria Federal University (UFSM), Animal Science and Biological Sciences
14 Department, Palmeira Das Missões, Palmeira Das Missões, RS, Brazil

15 ^cSão Paulo State University (UNESP), Aquaculture Center (CAUNESP), Jaboticabal, SP,
16 Brazil

17 ^dSanta Catarina Federal University (UFSC), Aquatic Organisms Health Laboratory
18 (AQUOS), Aquaculture Department, Florianópolis, SC, Brazil

19 ^eUDESC, Nutrition Laboratory of Aquatic Organisms (LANOA/UDESC), Laguna, SC,
20 Brazil. *Present address:* CSIRO Agriculture and Food, Aquaculture Program, Bribie
21 Island Research Centre, Woorim, QLD, Australia

22
23
24
25
26
27
28
29
30 ***Corresponding Author:**

31 Maurício Gustavo Coelho Emerenciano

32 CSIRO Agriculture and Food, Aquaculture Program, Bribie Island Research Centre,
33 Bribie Island, QLD, Australia

34 E-mail: mauricio.emerenciano@csiro.au

35 **Abstract:**

36 The objective of this work was to investigate different dietary digestible protein (22%,
37 26% and 30% of DP) and digestible energy (3000, 3150 and 3300 kcal DE kg⁻¹) levels on
38 zootechnical performance and hematological parameters of Genetically Improved
39 Farmed Tilapia (GIFT) fingerlings (0.99 ± 0.1 g of mean initial weight) over 42 days. In
40 addition, proximate analysis of carcass and biofloc biomass, as well as planktonic
41 community characterization were performed. A factorial design (digestible protein and
42 digestible energy as factors) was applied totaling nine treatments with four repetitions
43 each. The FCR (~1.17) and survival (>98%) were similar between all treatments
44 (P>0.05). The final weight, weight gain and SGR presented interaction effects (P<0.05)
45 in which at 22% and 26% DP levels were not affected by energy level; however, the 30%
46 DP level was affected by energy levels with best results using 3150 kcal DE kg⁻¹. In regard
47 to somatic parameters, carcass yield and condition factor were similar between all
48 treatments (P>0.05). Standard length presented interaction effect (P<0.05); while total
49 length and hepatosomatic index were affected by protein levels. Hematological
50 parameters showed differences according to different dietary protein levels and carcass
51 proximate composition were affected by both protein and energy levels. The monitoring
52 of planktonic community indicated a variation over time specially on the number of
53 dinoflagellates, rotifers and protozoa groups. These results suggested that optimal
54 digestible protein and digestible energy levels for tilapia fingerlings raised in freshwater
55 biofloc systems are 26% DP and 3000 kcal DE kg⁻¹.

56 **Keywords:** BFT; hematology; nutrition; *Oreochromis niloticus*.

57

58 **1. Introduction**

59 The United Nations Food and Agriculture Organization considers aquaculture to be
60 an activity with enormous potential to meet the growing demand for food (FAO, 2016).
61 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the most commonly farmed fish worldwide
62 because of its rapid development, robustness, and good meat quality, enjoying a
63 consolidated and expanding market (Watanabe et al., 2012). Additionally, the Genetically
64 Improved Farmed Tilapia (GIFT) strain of Nile tilapia (*O. niloticus*) was established in
65 Malaysia from fish of the sixth generation of selection for increased harvest weight. In
66 2001 and 2002, the founder stock was transferred in batches from the GIFT Foundation
67 International Inc., Philippines, to the Aquaculture Extension Center, Department of
68 Fisheries, Jitra, Kedah State, Malaysia. In 2002, the progeny of the first spawning season

69 was produced in Malaysia, thus creating what we call the base population (Ponzoni et al.,
70 2005; Nguyen et al., 2007). This species is expected by the FAO to become a major
71 contributor to the increase in world aquaculture production by 2025 (FAO, 2016).

72 The water shortage coupled with growth stagnation of natural fish stocks and growing
73 demand for seafood all make food production one of the greatest challenges of
74 contemporary society. It is crucial to exploit efficient technologies that fit with growing
75 demands while contributing to environmental preservation (Martins et al., 2010; Rijn,
76 2013). In regards to aquaculture sector, the biofloc technology (BFT) has been
77 increasingly employed (Avnimelech, 2015). Such technology can produce large amounts
78 of fish in small areas with reduced water use (Emerenciano et al., 2013). To maintain
79 adequate water quality in cultivation without impairing fish development, biofloc systems
80 include microbial communities that are stimulated by manipulating carbon/nitrogen ratios
81 in water (Timmons et al., 2002; Ebeling et al., 2006; Emerenciano et al., 2017). These
82 communities improve water quality via nutrient cycling, as well as serving as
83 complementary food sources for fish (Avnimelech, 2007). This is because microbial
84 flocs, formed by microorganisms and recycled uneaten feed and feces, are constantly
85 available in the system improving feed conversion (Azim and Little, 2008; Brol et al.,
86 2017).

87 The use of nurseries is a practice becoming popular in intensive fish production
88 because brings many benefits such as (i) higher productive efficiency due compensatory
89 growth when animals are transferred; (ii) increase in the number of cycles per year; and
90 (iii) better control in terms of survival, feeding, water quality parameters, batch
91 uniformity, and prevention against pathogens and predators at this critical early stage
92 (Leonardo et al., 2009; Scopel and Silva, 2017).

93 In regards to feed and feeding, it is well-known that protein is a key nutrient (and is
94 one of the most expensive ingredients) for optimal animal growth and directly linked to
95 the physiological processes (Abdel-Tawwab et al., 2010). Nevertheless, it is important to
96 consider not only dietary protein content but also energy levels (Furuya et al., 2005) as
97 unbalanced energy levels affects the growth, feed efficiency and body fat deposition
98 (Gonçalves et al., 2009; De Freitas et al., 2011). Therefore, it is necessary to determine
99 the specific nutrition requirements in different production systems to achieve maximum
100 efficiency of nutrient absorption, thereby improving zootechnical performance and
101 contributing to the reduction of production costs (Abdel-Tawwab and Ahmad, 2009).
102 Preliminary studies evaluated dietary crude protein levels for tilapia in BFT (Azim and

103 Little, 2008; da Silva et al., 2018), but scarce information is related to digestible fractions
104 in such environment. In this sense, the objective of the present study was to evaluate the
105 effect of digestible protein and digestible energy levels on zootechnical performance and
106 hematological parameters of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) raised in
107 biofloc system during nursery phase in freshwater conditions. In addition, proximate
108 analysis of carcass and biofloc biomass, as well as planktonic community characterization
109 were performed.

110

111 **2. Material and Methods**

112 The experiment was carried out at the Aquaculture Laboratory (LAQ) of Santa
113 Catarina State University (UDESC), Laguna, SC, Brazil. The fish (*O. niloticus* GIFT
114 strain all-male fingerlings) were obtained from the Santa Catarina Agricultural and Rural
115 Extension Research Company (EPAGRI), and were transported in specific plastic bags
116 to the experimental location. The fish were acclimated for seven days in 1000-L water
117 tanks and subsequently transferred to the experimental tanks.

118

119 *2.1 Experimental Design and Infrastructure*

120 The experimental design was completely randomized, with nine treatments and four
121 repetitions. The treatments consisted of various combinations of digestible protein levels
122 (22%, 26% and 30% SD) and energy levels (3000, 3150 and 3300 kcal DE/kg). The
123 experimental units were allocated in a single system adopting the “macrocosm-
124 microcosm” model with continuous water circulation (Emerenciano et al., 2007;
125 Wasielesky et al., 2006). Three benches with twelve experimental units each (circular
126 plastic tanks called “microcosms” of 100 L) were used, with a useful volume of 70 L.
127 Each workbench had a matrix tank (circular plastic boxes called “macrocosms” of 1000
128 L, with a useful volume of 700 L each), all interconnected. The objective of using the
129 macrocosm-microcosm system was to maintain the characteristics of water quality
130 parameters and the same qualitative and quantitative profile of microorganisms in all
131 experimental units (Emerenciano et al., 2007). The procedure and experimental setup was
132 the same adopted by Sousa et al. (2019), Durigon et al. (2019a) and Durigon et al.
133 (2019b).

134 The water from macrocosm tanks (0 ppt) were pumped to the experimental units using
135 an 80-Watt, 3500 L h⁻¹ submerged pump (Atman® brand, Zhujiang Sanjiao, China), with
136 gravity return. In addition, to maintain temperatures close to 27 °C, thermostat heaters

137 (Atman®, Zhujiang Sanjiao, China) were used at 1 W L⁻¹. Oxygenation of the water in
138 the experimental units was provided by a radial air compressor (2 CV), and one porous
139 stone (20 mm in diameter and 30 mm in height) per tank was used to assist in the
140 suspension of microbial flocs, both located in the center of experimental units. In the
141 macrocosm tanks, micro-perforated hose rings (70 cm length) were arranged centrally in
142 the macrocosm's bottom.

143 For the formation and maintenance of the microbial community of the biofloc system,
144 five days before the beginning of the experiment, 100 L of bioflocs were inoculated in
145 each macrocosm. This inoculum came from a previous intensive BFT tilapia culture
146 performed at LAQ/UDESC. The inoculum characteristics were TAN <0.85 mg L⁻¹, NO₂
147 <0.62 mg L⁻¹ and settling solids ~12mL/L. Thirteen fingerlings (0.99 ± 0.1 g) were
148 stocked in each experimental unit, totaling 468 fingerlings. The experiment lasted 42
149 days.

150

151 2.2 Feeding and diets

152 The diets were formulated and manufactured at the Nutrition Laboratory of Aquatic
153 Organisms (LANOA/UDESC) based on ideal protein concept (Furuya et al., 2005). The
154 nine diets were formulated to maintain established digestible protein (% DP) and
155 digestible energy levels (kcal DE kg⁻¹) as follow: 22:3000, 22:3150, 22:3300, 26:3000,
156 26:3150, 26:3300, 30–3000, 30:3150 and 30–3300. The diets were isophosphoric,
157 isocalcitic and isoaminoacidic for lysine, methionine and threonine. The feedstuff values
158 of digestible protein and digestible energy were based on values described by Furuya
159 (2010). The feed manufacturing, ingredients composition and calculated nutritional
160 composition are described in Durigon et al. (2019a). The analyzed nutritional
161 composition is presented in Table 1. The animals were fed three times a day (08:30, 13:30,
162 and 18:00 h) in the initial proportion of 8% of biomass and adjusted according to weekly
163 biometrics.

164

165 2.3 Water quality

166 Daily monitoring (08:00 h) of pH (YSI-10A, Yellow Springs Instruments Inc., OH,
167 USA), temperature, dissolved oxygen (USI-55, Yellow Springs Instruments Inc., OH,
168 USA) and settleable solids (Imhoff cones) were performed. Total ammonia nitrogen
169 (TAN), nitrite, nitrate and orthophosphate (AT-100P photocolorimetric ALFAKIT kits,
170 ALFAKIT, Florianópolis, SC, Brazil), as well as alkalinity (by titration method -

171 ALFAKIT 2460 and 2058 kits, ALFAKIT, Florianópolis, SC, Brazil) were weekly
172 assessed.

173

174 *2.4 Planktonic community*

175 To characterize the composition of the planktonic community present in the water,
176 methodology proposed by Brol et al. (2017) and Sgnaulin et al. (2018) were applied.
177 Three water samples (50 mL) were collected, one from each macrocosm, twice a week
178 over the six-week experimental period, totaling 36 samples. At the time of collection, the
179 samples were preserved (4% formaldehyde) and stained with Bengal Rose for later
180 counting and identification of the organisms. Invertebrate counting and identification was
181 performed in a reticulated petri dishes under a under a stereomicroscope (Bioptika, model
182 L20T, Bioptika, Colombo, PR, Brazil). For the other groups of microorganisms
183 (microzooplankton), two 1-mL homogenized aliquots were taken and screened using a
184 Sedgewick-Rafter chamber under a microscope (20x), where randomly 50 chamber
185 spaces were counted for each sample and identified to the lowest taxonomic level
186 according to Barnes, (1990).

187

188 *2.5 Zootechnical and somatic parameters*

189 At the end of the experiment, all fish were anesthetized using (1 mg L^{-1}), individually
190 weighted on an analytic balance (@Bel Engineering, Italy) and evaluated according to the
191 following zootechnical parameters: final weight (g), weight gain (g), specific growth rate
192 ($\% \text{ d}^{-1}$) ($\text{SGR} = 100 \times ((\ln \text{final total weight}) - (\ln \text{total initial weight})) / (\text{duration of}$
193 $\text{experiment (d)})$, feed conversion ratio ($\text{FCR} = \text{feed offered (g)} / \text{weight gain (g)}$), and
194 survival (%). In regards to somatic parameters, total length (cm), standard length (cm)
195 and condition factor ($\text{CF} = (\text{final weight} * 100) / (\text{total length}^3)$) were analyzed. For
196 hepatosomatic index ($\text{HSI} = (\text{liver weight} / \text{fish weight}) * 100$) and carcass yield ($\text{CY} =$
197 $(\text{viscera weight} / \text{fish weight}) * 100$), ten fish were euthanized and their internal organs
198 (liver and viscera) were weighed using methods approved by CONCEA-Brazil (National
199 Council of Animal Experimentation Control).

200

201 *2.6 Hematological Analysis*

202 At the end of the experiment, after biometry, ten fish per treatment were anesthetized
203 for blood collection (UDESC Animal Use Ethics Committee - Protocol 3817270818).

204 Blood was obtained by caudal vein puncture with the aid of syringes containing 10%
205 EDTA to determine the number of erythrocytes after diluting 1: 200 in sodium chloride
206 solution (0.65%) (Ghiraidelli et al., 2006). For total leukocyte count, thrombocytes and
207 leukocyte differential blood slides were made and then stained with May-
208 Grunwald/Giemsa (Rosenfeld, 1947), and read by the indirect method (Ishikawa et al.,
209 2008).

210

211 2.7 Proximate Analysis

212 After the collection of blood and organs, ten fish from each treatment were collected
213 for carcass proximate analysis according to the methodology proposed by AOAC (1999).
214 To determine lipid content, we used the technique of Bligh and Dyer (1959). A proximate
215 composition of the biofloc biomass was also performed, where the culture water
216 (approximately 400 L from the three macrocosms) was settled for approximately 30
217 minutes and the supernatants were discarded. This process was repeated several times to
218 obtain a biomass with as little water as possible; and then the remaining material was
219 dried (oven drying at 55 °C for 72 hours). Fish and bioflocs samples were stored in a
220 freezer (-20 °C) until analysis.

221

222 2.8 Statistical Analysis

223 Descriptive statistics was performed for water quality parameters with means,
224 standard deviation, maximum and minimum values. For zootechnical and hematological
225 parameters and carcass proximate analysis analysis of variance (two-way ANOVA) was
226 used since the assumptions of normality (Shapiro-Wilk test) and homogeneity of variance
227 (Levene test) were met (Sokal and Rohlf, 1995). Significant differences between
228 treatments were detected by Tukey's test (Sokal and Rohlf, 1995). All data were analyzed
229 at 5% significance level.

230

231 3. Results

232 3.1 Water quality

233 Table 2 shows the results of water quality parameters. There were no variations
234 between treatments and macrocosms. The average temperature, dissolved oxygen and pH
235 were 27.66 ± 2.05 °C, 7.64 ± 0.68 mg L⁻¹ and 7.71 ± 0.36 , respectively. Nitrogen
236 compounds did not show substantial changes; the average ammonia (TAN) level was
237 0.58 ± 0.47 mg L⁻¹, nitrite 0.01 ± 0.01 mg L⁻¹ and nitrate 0.39 ± 0.02 mg L⁻¹. Alkalinity

had average values of $91.78 \pm 35.28 \text{ mg L}^{-1}$, minimum value of 54.67 mg L^{-1} and maximum 150.67 mg L^{-1} . Orthophosphate reached maximum value of 16.07 mg L^{-1} with average values of $12.95 \pm 2.31 \text{ mg L}^{-1}$. In regards to settling solids, the average values observed was $15.52 \pm 8.58 \text{ mL L}^{-1}$, with minimum value of 1.33 mL L^{-1} and maximum 29 mL L^{-1} .

243

244 *3.2 Planktonic community*

245 Over the 42-day experimental period, a total of seven taxa were found during the
246 characterization and counting of planktonic organisms of the bioflocs: microalgae,
247 protozoa, rotifers, dinoflagellates, copepods, nematodes and insect larvae. The most
248 frequent groups of microorganisms during cultivation are shown in Figure 1. Protozoa,
249 rotifers and dinoflagellates groups peaked in the fourth week. Microalgae group
250 decreased over time showing a slightly recovery after week 4.

251

252 *3.3 Zootechnical and somatic parameters*

253 The zootechnical parameters are shown in Table 3. The FCR (~1.17) and survival
254 (>98%) were similar between all treatments ($P>0.05$). The final weight, weight gain and
255 SGR presented interaction effects ($P<0.05$) in which at 22% and 26% DP levels were not
256 affected by energy level; however, the 30% DP level was affected by energy levels with
257 best results using $3150 \text{ kcal DE kg}^{-1}$. Means values of final weight and weight gain (upper
258 part of the table) indicated no differences between 26 and 30% DP, but did when
259 comparing 22 and 30% DP. The different digestible energy levels evaluated didn't
260 showed differences ($P>0.05$).

261 In regard to somatic parameters (Table 4), carcass yield and condition factor were
262 similar between all treatments ($P>0.05$). Standard length presented interaction effect
263 ($P<0.05$) in which in the lowest DP level was affected by the energy levels. Total length
264 and hepatosomatic index (HSI) were affected by protein levels. The highest values of HSI
265 were observed in 22% DP levels, in contrast of higher values total length observed in 26
266 and 30% DP levels.

267

268 *3.4 Proximate composition of fish and biofloc*

269 The results of proximate analysis of fish and biofloc biomass are presented in Table
270 5 and showed no interaction. The results of averages indicated that carcass crude protein

271 content was affected by dietary energy levels with lower CP content using higher dietary
272 energy level. The carcass dry matter and lipid content were both affected by dietary
273 protein and energy levels ($P<0.05$). The higher dietary energy level enable a higher fat
274 accumulation in the carcasses. In regards to biofloc biomass, the results (basis on dry
275 matter) showed $0.80 \pm 0.23\%$ for crude lipid, $18.89 \pm 0.28\%$ for crude protein and 18.35
276 $\pm 0.96\%$ for ash content.

277

278 *3.5 Hematological Analysis*

279 The hematological results are presented in Table 6. There was no interaction between
280 digestible protein and digestible energy levels. For energy, there were no significant
281 differences between levels ($p <0.05$). Analyzing the protein levels, erythrocytes and
282 neutrophils were higher in 30% PD level, statistically differing from 26% PD but similar
283 to 22%. Total leukocytes and lymphocytes were statistically higher in 30% PD when
284 compared to the other levels.

285

286 **4. Discussion**

287 The water quality parameters remained within the recommended ranges and
288 acceptable levels for the species (El-Sayed, 2006), suggesting that these factors did not
289 interfere with the assessed parameters. The observed values were similar to those of other
290 tilapia crops using BFT (Azim and Little, 2008; Brol, et al., 2017; Sousa et al., 2019).
291 Alkalinity levels in the present study ($\sim 91 \text{ mg L}^{-1}$) were slightly lower than recommended
292 levels for BFT systems ($<100 \text{ mg L}^{-1}$; Avnimelech, 2015). High alkalinity levels lead
293 proper nitrification processes carried-out by chemoautotrophic (Ebeling et al., 2006) and
294 ammonia assimilation by heterotrophic bacteria (Emerenciano et al., 2017). The settling
295 solids in the present study ($\sim 15 \text{ mL/L}$) remained within the recommended levels for the
296 species. According to Avnimelech, (2007), the volume of solids should not exceed 20 to
297 30 mL L^{-1} , and high levels may influence the oxygen uptake, impairing respiration,
298 affecting performance and the microbial profile (Pinho et al., 2017).

299 The studies related to protein requirements for tilapia in biofloc systems are scarce.
300 Most of them evaluated dietary crude protein levels rather than digestible fractions; and
301 also didn't consider the combination of different energy levels (Azim and Little, 2008; da
302 Silva, et al 2018). Durigon et al. (2019b) evaluating the same diets for tilapia fingerlings
303 but in brackish conditions (10 ppt) observed that 26% DP and $3150 \text{ kcal DE kg}^{-1}$ provided
304 the better outcomes in terms of fish performance and health conditions. In the present

study (freshwater conditions and similar fish size), the results suggested optimal levels as 26% DP and 3000 kcal DE kg⁻¹. The difference in terms of energy levels might be due to a higher energy requirement necessary for osmoregulation and proper energy budge in brackish conditions (El-Sayed, 2006; Durigon et al., 2019a). The reduction in protein levels in both studies is associated with the correct energy and protein ratio, as well as by the continuous presence of microbial flocs (Avnimelech, 2007; Little and Little, 2008; Mansour and Esteban, 2017). Besides the proper energy levels, the reduction of protein levels without affecting the tilapia growth might also be possible due to biofloc are rich in proteins, essential amino acids, fatty acids and vitamins (Tacon et al., 2002; Ju et al., 2008; Kunh et. al., 2009; Wei et al., 2016; Bossier and Ekasary, 2017). According to Avnimelech (2009), the absorption of microbial protein by tilapia in biofloc environments can be equivalent to the daily absorption of 1.56 g of proteins, representing about 25% of conventional feed protein. The present study revealed biofloc biomass protein and lipid levels of ~19 and ~0.8%, respectively, both levels compared to those reported by Emerenciano et al. (2011) and Emerenciano et al. (2013). Even so, based on performance results and volume of biofloc (settling solids), the microbial aggregates might contribute as a food supplement to fish, mainly in those cultivated with lower levels of protein. The proximate composition of bioflocs vary according to the cultivated species, the bacteria:phyto:zooplankton ratio, type of carbon source and salinity (Avnimelech, 2007; Martínez-Córdoba et al., 2014).

In regards to other production systems, Abdel-Tawwab et al. (2010) evaluated the effect of protein levels on tilapia raised in conventional systems. The authors reported positive effects on animal growth and physiological status with ideal dietary protein levels of 45% for ~0.5 g fingerlings, while 20 g juveniles performed optimally with 35% PC diets. Balarin and Haller (1982), Tacon (1987), El-Sayed and Teshima (1991) reported that ideal protein levels for tilapia fingerlings in conventional systems ranged from 30 to 50% protein. On the other hand, recent studies considering the “ideal protein” concept and the correct energy-protein ratios found reduced levels. For example, Junior et al. (2016), studying energy and protein in net-fed tilapia, observed higher growth in fish fed diets containing lower protein levels (24 and 26% DP), but with high energy levels. According to authors, such reduction is attributed to a protein-sparing effect, also reported by other authors (De-Silva et al., 1992; Meyer and Fracalossi, 2004; NRC 2011). In the present study, the same sparing effect was observed in which tilapia fed with 26% DP performed similar to those fed with 30% DP using 3000 kcal DE kg⁻¹. Carneiro et al.

339 (2017) evaluated different digestible protein (DP) for GIFT Nile tilapia (~33g) juveniles
340 using diets based on soybean meal and corn in RAS systems. The results using bigger
341 animals suggested that 28.3% of digestible protein (31.6% of crude protein) as optimum
342 for Nile tilapia between 30 and 130g. The differences in initial fish size,
343 ingredients/formulation, salinity, biofloc nutritional and microbial characteristics
344 certainly affect the results in terms of better energy and protein levels. More studies are
345 encouraged in this field using different species and tilapia strains.

346 Hematological parameters reflect the health and nutritional status of the fish
347 (Harikrishnan et al., 2011). In the present study, energy levels did not influence the
348 evaluated parameters, but did in Durigon et al. (2019b) in several parameters probably as
349 a result higher energy demand for osmoregulation in brackish conditions. Nevertheless,
350 our study demonstrated the increase in erythrocyte count in fish fed the highest protein
351 level in the diet may have been due to the higher oxygen demand needed to degrade
352 proteins. Studies with other species have also shown influence of dietary protein levels
353 on erythrocyte numbers. Camargo et al. (2005) observed an increase in red blood cell
354 numbers in South American catfish *Rhamdia quelen* fed 50% crude protein. Similar
355 results were reported by Nunes et al. (2013) in pacu *Piaractus mesopotamicus* fed 32%
356 of crude protein, compared to fish fed 24% and 28%. Abdel-Tawwab et al. (2010) also
357 found alterations in red blood cell lines in response to protein in the diets of Nile tilapia
358 (*Oreochromis niloticus*). Despite these reports, specific mechanisms in fish describing
359 the relationship of erythropoiesis to dietary protein levels have yet to be elucidated. Total
360 leukocytes, including neutrophils and lymphocytes, participate in inflammatory and
361 immunological processes in fish tissues (Ranzani-Paiva et al., 2004; Tavares-Dias and
362 Moraes, 2004). We believe that leukocytosis counts observed in the 30% DP treatment
363 may be a modulation of the fish's immune system, augmenting their responses to adverse
364 effects such as stress and pathogens, as reported by Tort (2011). Qiang et al. (2013)
365 evaluated the interactive effects of water temperature and dietary protein level on
366 haematological parameters in Nile tilapia juveniles. The authors observed that, in fish
367 treated similarly to those of the present study, there were increased RBC and leukocyte
368 counts and lower mortality rates when challenged by the bacterium *Streptococcus iniae*.
369 Therefore, we suggest that higher protein levels in Nile tilapia diets may strengthen
370 nonspecific immunity and reduce susceptibility to disease. More studies are needed in this
371 field aiming to clarify the role of biofloc on hematological parameters of fish.

372 The results on carcass proximate parameters demonstrated that dietary protein and
373 energy levels significantly affected the carcasses protein content and fat accumulation.
374 The treatment with 22% and 26% PD led to greater fat accumulation than did the 30%
375 PD treatment. These results corroborate to those found by Abdel-Tawwab et al. (2010),
376 who observed that tilapia grown in conventional systems fed lower levels of protein had
377 higher fat accumulation. Xu and Pan (2012) stated that bioflocs may influence the shrimp
378 body composition enabling a higher carcass lipid deposition. This can be attributed to the
379 continuous availability of nutrients in a form of essential amino acids, fatty acids (PUFA
380 and HUFA) and other nutritional elements provided by BFT (Izquierdo et al., 2006, Ju et
381 al., 2008, Emerenciano et al., 2013). In regards to dietary energy levels in the present
382 study, the higher energy levels in the diet enabled a lower protein deposition in carcass,
383 but higher fat deposition. The same trend was corroborated by Durigon et al. (2019b)
384 using the same diets in brackish conditions for tilapia and by Meyer and Fracalossi, (2005)
385 for *R. quelen*. Both authors reported that fish fed with higher energy levels in diets had
386 higher body fat levels.

387 The hepatosomatic index was affected by protein level. According to Hoar and
388 Randall (1971), fish can store large amounts of fat and glycogen in their livers,
389 influencing its weight (Heldlner and Crawford, 1977). Hilton (1982) observed that high
390 carbohydrate levels in diets of the trout *S. gairdneri* resulted in increased liver glycogen
391 and liver weight. In the present study, tilapia fed with 22% PD had heavier livers, possibly
392 because of higher carbohydrate levels in the diet. On the other hand, differences in dietary
393 protein and energy levels didn't affect the carcass yield.

394 The knowledge on microbial profile is essential in biofloc systems because the
395 nutritional value of the bioflocs consumed by fish is associated with the microbial
396 diversity present in the system (Martínez-Córdoba et al., 2014). In the present work, the
397 average concentration of rotifers was low compared those reported by Azim and Little
398 (2008) and Brol et al. (2017). The low concentration of these microorganisms found in
399 the present study may be related to the temporal variation of the density and diversity of
400 the microorganisms. The diversity of BFT microorganisms can be affected by several
401 factors, including carbon source, water salinity, fish consumption, light intensity,
402 predation and/or substrate competition with bacteria and other organisms (Martinez-
403 Cordoba et al., 2014). The low amounts of microorganisms may also be related to
404 competition among them or even due to their consumption, mainly rotifers and

protozoans, because they are considered important food items for farmed fish (McGoogan and Catlin, 1999). The most abundant microorganisms in the biofloc were protozoa. These results corroborate results from other studies in bioflocs (Azim and Little, 2008; Monroy-Dosta, et al., 2013). Microalgae were also found in large quantities; however, there was a decrease during the experiment. This may be linked to the increase of solids and turbidity of water (Brol et al., 2017) affecting the light incidence in the water, and suppressing photoautotrophic microorganisms' growth.

412

413 **5- Conclusion**

414 The present study suggests that diets containing 26% DP and 3000 kcal DE kg⁻¹ are
415 feasible for nursery of GIFT tilapia fingerlings raised in biofloc system in freshwater
416 without affecting the fish performance and health.

417

418 **Acknowledgements**

419 The authors thank the National Council for Scientific and Technological
420 Development - CNPq (project number 483450 / 2013-8) and the Santa Catarina State
421 Support Foundation for Scientific and Technological Research - FAPESC (projects
422 2013TR3406 and 2015TR543). M. Emerenciano is CNPq PQ research fellow (310356 /
423 2017-2) and G.T. Jerônimo received a postdoctoral fellowship (168148 / 2017-0). In
424 addition, the first author received a masters scholarship from CAPES. The authors also
425 thank the LAQ-UDESC team for their technical support during this experiment.

426

427 **References**

- 428 Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., 2009. Effect of dietary protein regime during growth
429 period on growth performance, feed utilization and body chemical composition of
430 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Aquaculture 40, 1532-1537.
431 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.10.027>
- 432
- 433 Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2010. Effect of
434 dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed
435 utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.).
436 Aquaculture 298, 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.10.027>
- 437
- 438 AOAC,1999. International, Official methods of analysis, 16th edn. Washington.

- 439
- 440 Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge
441 bioflocs technology ponds. Aquaculture 264, 140-147.
442 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- 443
- 444 Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by
445 tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing. Aquaculture, 287, 163-168.
446 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.009>
- 447
- 448 Avnimelech, Y., 2015. Biofloc Technology - A Practical Guide Book, 3. ed. The World
449 Aquaculture Society, Baton Rouge: Louisiana, EUA.
- 450
- 451 Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water
452 quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis*
453 *niloticus*). Aquaculture 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>
- 455
- 456 Balarin, J.D., Haller, R.D., 1982. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and
457 cages. In: Muir, J.F., Roberts, R.J. (Eds.), Recent Advances in Aquaculture. Crom
458 Helm, London, United Kingdom, 265-356.
- 459
- 460 Barnes, R.D., 1990. Os Crustáceos, in: *Zoologia Dos Invertebrados*. São Paulo, Brasil,
461 pp. 713-862.
- 462
- 463 Bligh, E., Dyer, W., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can.
464 J. Biochem. 37, 911-917.
- 465
- 466 Bossier, P., Ekasari, J., 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support
467 sustainable development goals. Microbial Biotechnology 10, 1012-1016. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>
- 469
- 470 Brol, J., Pinho, S.M., Sgnaulin, T., Pereira, K. Da R., Thomas, M.C., Mello, G.L.,
471 Miranda-Baeza, A., Emerenciano, M.G.C., 2017. Tecnologia de bioflocos (BFT) no

- 472 desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem.
473 Archivos Zootecnia 66, 229-235. <http://dx.doi.org/10.21071/az.v66i254.2326>
- 474
- 475 Carneiro, W. F., Pandini, F., Silva, L. C. R., Santos, L. D., Rossato, K. A., Meurer, F.,
476 2017. Digestible protein requirement for Nile tilapia fed with rations based on
477 soybean meal and corn. Acta Sci Anim Sciences, 39, 343-349. Doi: 10.4025/
478 actascianimsci.v39i4.36122.
- 479
- 480 Camargo, S.O., Martins, C., 2005. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*)
481 submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. Ciência Rural. Rural 35, 1406-
482 1411.
- 483
- 484 De Freitas, J. M. A., Sary, C., Luchesi, J.D, Feiden, A., Boscolo, W.R., 2011. Proteína e
485 energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede1. Revista Brasileira de
486 Zootecnia 40, 12, 628-2633.
- 487
- 488 De-Silva, S.S, Gunasekera, R.M., Shim, K.F., 1992. Interactions of varying dietary-
489 protein and lipid-levels in young red tilapia - evidence of protein sparing.
490 Aquaculture, 95, 305-318. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90096-P](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90096-P)
- 491
- 492 Durigon, E. G., Almeidab, A. P. G., Jerônimo, G. T., Baldisserotto, B., Emerenciano, M.
493 G. C., 2019a. Digestive enzymes and parasitology of Nile tilapia juveniles raised in
494 brackish biofloc water and fed with different digestible protein and digestible energy
495 levels. Aquaculture 506, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.022>
- 496
- 497 Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Jerônimo, G.J., Sgnaulin T., Emerenciano, M.G.C.,
498 2019b. Biofloc Technology: adjusting the levels of digestible protein and digestible
499 energy in the diets of juveniles of Nile tilapia raised in brackish water. Aquaculture
500 and Fisheries, online first. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>
- 501
- 502 Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the
503 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of
504 ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. Aquaculture 257, 346-358.
505 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

- 506
507 El-Sayed, A.-F.M., Teshima, S., 1991. Tilapia nutrition in aquaculture. Rev. Aquat. Sci.
508 5, 247-265.
509
510 El-Sayed, E.M., 2006. Tilapia culture., CABI publi. ed. Massachusetts, USA.
511
512 Emerenciano, M.G.C., Wasielesky, W.. Soares, R.B., Ballester, E.C., Izeppi, E.M.,
513 Cavalli, R.O. 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus*
514 *paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. Acta Scientiarum Biological
515 Sciences 29, 1-7.
516
517 Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2011. Biofloc
518 technology application as a food source in a limited water exchange nursery system
519 for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). Aquaculture
520 Research 43, 447-457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03012.x>
521
522 Emerenciano, M., Gaxiola, G., Cuzon, G., 2013. Biofloc Technology (BFT): A Review
523 for Aquaculture Application and Animal Food Industry. INTECH open
524 science_open minds. Cap 12, 301-327. <http://dx.doi.org/10.5772/66416>
525
526 Emerenciano, M. G. C., Martínez-Córdova, L. R., Martínez Porchas, M., Miranda-Baeza,
527 A., 2017. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in
528 Aquaculture. 1ed.: InTech, 1, 91-109.
529
530 FAO, 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura.
531
532 Furuya, W. M., Botaro, D., Macedo, R. G. D., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Silva, T. D.
533 C., Furuya Barrivieira, V.R., Sales, P. J. P. 2005. Aplicação do conceito de proteína
534 ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo
535 (*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia 34, 1433-1441.
536
537 Gonçalves, G. S., Pezzato, L. E., Barros, M. M., Julia, M., Rosa, S., 2009. Níveis de
538 proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do- nilo formuladas

- 539 com base no conceito de proteína ideal. Revista Brasileira de Zootecnia 38, 2289-
540 2298. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001200001>
- 541
- 542 Ghiraidelli, L., Martins, M.L., Yamashita, M.M., Jerônimo, G.T., 2006. Haematology of
543 *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) and *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) maintained in
544 different conditions of handling and feeding from the State of Santa Catarina, Brazil.
545 Acta Scientiarum Biological Sciences 28, 4, 319-325.
- 546
- 547 Harikrishnan, R., Kim, M.C., Kim, J.S., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Protective
548 effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status
549 of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. Fish
550 & Shellfish Immunology 30, 886-893.
- 551
- 552 Heldlinger, R.C., Crawford, S.O., 1977. Effect of temperature and feeding rate on the liver-
553 somatic index of the Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*. Jour. Fish Res. Board
554 34, 633-638.
- 555
- 556 Hilton, J.W., 1982. The effect of pre-fasting diet and water temperature on liver glycogen
557 and liver weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during fasting. Jour.
558 Fish Biol. 20, 69-78. <https://doi.org/10.1139/f77-099>
- 559
- 560 Hoar, W.S., Randall, O.J., 1971. Fish physiology. New York, Academic Press Inc., 457.
- 561
- 562 Ishikawa, N.M., Ranzani-Paiva, M.J.T., Lombardi, J. V., 2008. Metodologia para
563 quantificação de leucócitos totais em peixe *Oreochromis Niloticus*. Archives
564 Veterinary Scienc 13, 54-63.
- 565
- 566 Izquierdo, M., Forster, I., Divakaran, S., Conquest, L., Decamp, O., 2006. Effect of green
567 and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition
568 of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition 12, 192-
569 202. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00385.x>
- 570
- 571

- 572 Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C., Horgen, F.D., 2008.
573 Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by
574 biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Reserch* 39, 118-
575 133. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x>
- 576
- 577 Junior, A. C. F., Carvalho, P. L. P. F. De, Pezzato, L. E., Koch, J. F. A., Teixeira, C. P.,
578 Cintra, F. T., et al. 2016. The effect of digestible protein to digestible energy ratio
579 and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis
580 and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. *Aquaculture*, 456,
581 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.001>
- 582
- 583 Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Lawrence, A.L., Marsh, L., Flick, G.J., 2009. Microbial
584 flocs 15 generated in bioreactors is a superior replacement ingredient for fishmeal
585 or soybean 16 meal in shrimp feed. *Aquaculture* 296, 51–57.
586 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.07.025>
- 587
- 588 Leonardo, A. F. G. et al. 2009. Avaliação econômica da produção de juvenis de tilápia-
589 do-nilo, alimentados com ração comercial e com a produção primária advinda da
590 adubação orgânica e inorgânica. *Custos e @gronegócio*, 1808-2882 (5), 22-35.
- 591
- 592 Mansour, A.T., Estebanb, M.A., 2017. Effects of carbon sources and plant protein levels
593 in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status
594 of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 64, 202-209.
595 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>
- 596
- 597 Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C.J., Heinsbroek, L.T.N., Shneider, O.,
598 Blancheton, J.P., Roque, E., Verreth, J.A.J., 2010. New developments in
599 recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental
600 sustainability. *Aquacultural Engineering* 43, 83-93.
601 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2010.09.002>
- 602
- 603 Martínez-Córdova, L.R., Emerenciano, M., Miranda-Baeza, A., Martinez-Porcha, M.,
604 2014. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: na updated

- 605 review. Reviews in Aquaculture 6, 1-18. 131-148.
606 <http://dx.doi.org/10.1111/raq.12058>
- 607
- 608 McGoogan, B. B., Gatlin, I.D.M., 1999. Dietary manipulations affecting growth of red
609 drum, *Sciaenops ocellatus*. I Effects of dietary protein and energy levels.
610 Aquaculture 178, 333-348. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00137-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00137-4)
- 611
- 612 Meyer, G. and Fracalossi, D.M., 2004. Protein requirement of jundiá fingerlings,
613 *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. Aquaculture 240, 331-343.
614 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.034>
- 615
- 616 Meyer, G., Fracalossi, D.M., 2005. Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino
617 acid requirements based on muscle amino acid composition. Scientia Agricola 62,
618 401-405. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162005000400015>
- 619
- 620 Monroy-Dosta, M., Del, C., Lara-Andrade, R., CastroMejía, J., Castro-Mejía, G., &
621 Coelho-Emerenciano, M. G., 2013. Composición y abundancia de comunidades
622 microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. Revista de Biología Marina
623 y Oceanografía 48(3), 511-520. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572013000300009>
- 625
- 626 NRC. 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academic Press,
627 Washington, D.C.,376.
- 628
- 629 Nguyen, N.H., Khaw, H.L., Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Kamaruzzaman, N., 2007. Can
630 sexual dimorphism and body shape be altered in Nile Tilapia by genetic means?
631 Aquaculture, 272, 36-48.
- 632
- 633 Nunes, C.S., Moraes, G., Fabrizzi, F., Hackbarth, A., Arbelaez - Rojas, G. A., 2013.
634 Growth and hematology of pacu subjected to sustained swimming and fed different
635 protein levels. Pesquisa Agropecuária Brasileira 48, 645-650.
636 <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000600010>
- 637

- 638 Pinho, S. M., Molinari, D., de Mello, G. L., Fitzsimmons, K. M., and Emerenciano, M.
639 G. C. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the
640 aquaponics production of different lettuce varieties. Ecological Engineering, 103,
641 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009>
- 642
- 643 Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Saadiah, T., Kamaruzzaman, N., 2005. Genetic parameters
644 and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile Tilapia
645 (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 247, 203-210.
- 646
- 647 Qiang, J., Yang, H., Wang, H., Kpundeh, M.D., Xu, P., 2013. Interacting effects of water
648 temperature and dietary protein level on hematological parameters in Nile tilapia
649 juveniles, *Oreochromis niloticus* (L.) and mortality under *Streptococcus iniae*
650 infection. Fish & Shellfish Immunology 34, 8-16.
651 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.09.003>
- 652
- 653 Ranzani-Paiva, M. T. J., Silva-Souza, A. T., 2004. Hematologia de Peixes Brasileiros. In:
654 Sanidade de Organismos Aquáticos / organizadores Maria José Tavares Ranzani-
655 Paiva, Ricardo Massato Takemoto, Maria de Los Angeles Perez Lizama. – São
656 Paulo: Editora Varela.
- 657
- 658 Rijn, J., 2013. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. Aquacultural
659 Engineering 53, 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.010>
- 660
- 661 Rosenfeld, G., 1947. Corante pancromatico para hematología e citología humana. Nova
662 combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de
663 emprego rápido. Meml. Inst. Butantan 20, 328-334.
- 664
- 665 Scopel, B.R., Da Silva A.N., 2017. Utilização de berçário em raceways em fazendas de
666 camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no Brasil. Aquaculture Brasil. Ed. 4
667 jan/fev.
- 668
- 669 Silva, M., Alvarenga E.R., Alves, G.F.O., Manduca, L.G., Turra, E.M., Brito, T.S., Sales,
670 S.C., Junior, A.F.S., Borges, W. J. M., Teixeira, E.A., 2018, Crude protein levels in

- 671 diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc
672 system. Aquaculture Research 49, 2693-2703. <https://doi.org/10.1111/are.13730>
- 673
- 674 Sgnaulin, T., de Mello, G.L., Thomas, M.C., Garcia, J.R.E., de Oca, G.A.R.M.,
675 Emerenciano, M.G.C., 2018. Biofloc technology (BFT): An alternative aquaculture
676 system for piracanjuba *Brycon orbignyanus*? Aquaculture 485, 119-123.
677 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.043>
- 678
- 679 Sokal, R., Rohlf, J., 1995. Biometry, the principles and practice of statistics in biological
680 research. WH Freeman, New York.
- 681
- 682 Sousa, A. A., Pinho, S. M., Rombenso, A. N., de Mello, G. L., Emerenciano, M. G. C.,
683 2019. Pizzeria by-product: A complementary feed source for nile tilapia
684 (*Oreochromis niloticus*) raised in biofloc technology? Aquaculture 501, 359-367.
- 685
- 686 Tacon, A.G.I., 1987. The nutrition and feeding of farm fish and shrimp a training manual.
687 1. The essential nutrients. FAO Brasilia Brazil, GCP/RLA/075/ITA Field Document
688 2/E, 117.
- 689
- 690 Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E.,
691 2002. Effect of 15 culture system on the nutrition and growth performance of
692 Pacific white shrimp 16 *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets.
693 Aquaculture Nutrition 8, 121-137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x>
- 695
- 696 Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto:
697 Villimpress Complexo Gráfico, 144p.
- 698
- 699 Timmons, M. B., Ebeling, J. M., Wheaton, F. W., Summerfelt, S. T., Vinci, B. J., 2002.
700 Recirculating aquaculture systems, second edition, Ithaca, New York.
- 701
- 702 Tort, L. 2011. Stress and immune modulation in fish. Developmental & Comparative
703 Immunology 35, 1366-1375. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.07.002>
- 704

- 705 Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C. L., 2006. Effect of natural
706 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive
707 culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 258, 396-403.
708 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>.
- 709
- 710 Watanabe, W.O., Losordo, T.M., Fitzsimmons, K., Hanley, F., 2012. Tilapia Production
711 Systems in the Americas: Technological Advances, Trends, and Challenges.
712 Reviews in Fisheries Science 10, 465-498. <https://doi.org/10.1080/20026491051758>
- 713
- 714
- 715 Wei, Y.; Liao, S.; Wang, A. 2016. The effect of different carbon sources on the nutritional
716 composition, microbial community and structure of bioflocs. Aquaculture 465, 88-
717 93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>
- 718
- 719 Xu, W.J and Pan, L.Q., 2013. Potentiation of the immune response and antioxidant status
720 of juveniles of *Litopenaeus vannamei* in culture tanks based on bioflocs,
721 manipulating high food input C / N ratio. Aquaculture 412-413, 117-124.
- 722

723 **Tables and Figures legends:**

- 724 **Table 1:** Percentage composition and nutritional values of experimental diets with
725 different energy and protein levels.
- 726 **Table 2:** Mean (\pm standard deviation), minimum and maximum values of water quality
727 parameters in the treatments and macrocosms throughout the experimental cultivation.
- 728 **Table 3:** Zootechnical performance of tilapia fingerlings cultivated in biofloc system and
729 fed a diet formulated under different energy and protein levels.
- 730 **Table 4:** Somatic indices (HSI and CY) of tilapia fingerlings grown in biofloc system
731 and fed a diet formulated under different protein and energy levels.
- 732 **Table 5:** Bromatological analysis of the biofloc and carcass of tilapia fingerlings grown
733 in biofloc system and fed a diet formulated under different protein and energy levels.
- 734 **Table 6:** Hematological parameters of tilapia fed different levels of protein and energy in
735 biofloc system.
- 736 **Figure 1:** Distribution profile of the most common planktonic organisms in tilapia
737 cultivation in bioflocks, during the experimental period.

Table 1: Percentage composition and nutritional values of experimental diets with different energy and protein levels.

 Centesimal composition analyzed

DM (%)	88.03	88.54	90.41	90.22	89.70	89.49	88.79	89.99	91.78
MM (%)	9.11	9.54	9.24	10.65	10.82	8.63	8.54	9.44	9.31
CP (%)	24.18	24.29	24.06	27.49	27.67	27.50	31.98	31.50	31.93
Lipids(%)	7.27	11.44	16.13	6.78	10.44	14.20	5.99	8.39	12.78
ENN (%)*	43.61	39.45	37.18	41.02	36.49	34.91	37.56	35.97	33.09
EB (kcal/kg)**	3859.46	4084.71	4418.28	3892.39	4059.26	4337.28	3928.57	4061.32	4378.84

PD; Digestible protein; ED: digestible energy; DM; Dry matter; CP: Crude protein; MM: mineral matter; ENN: Non-Nitrogen Extractive; EB: Gross Energy.

* ENN: Determined by the calculation: $ENN = MS - (PB + MM + Lipids + FB)$.

** Determined by calculation: $EB = [(CP \times 5.65) + (Lipids \times 9.4) + (ENN \times 4.15)] \times 10$.

a Agroforte, Laguna, SC, Brazil.

b Novus, Indaiatuba, SP, Brazil.

c Novus, Indaiatuba, SP, Brazil.

d Evonik, São Paulo, SP, Brazil.

e DSM-Roche: Vitamin A, 24000 UI; D3, 6000 UI; E, 300mg; K3, 30mg; B1, 40mg; B2, 40mg; B6, 35mg; B12, 80mg; folic acid, 12mg; pantothenate Ca, 100mg; vitamin C, 600mg; biotin, 2mg; choline, 1.000mg; iron, 200mg; copper, 35mg; manganese, 100mg; zinc, 240mg; iodine, 1.6mg; cobalt, 0.8mg; Campinas, SP, Brazil.

f DSM-Roche, Acorvit 35, Ascorbic acid 35%, Campinas, SP, Brazil.

g Vulkanox® BHT, 2,6 Di-tert-butyl-P-cresol, Germany.

h Unflavored gelatin, Dr. Oetker, São Paulo, SP, Brazil.

i Protein and energy digestible values of feedstuff were based on values cited by Furuya, (2010).

Table 2: Mean (\pm standard deviation), minimum and maximum values of water quality parameters in the treatments and macrocosms throughout the experimental cultivation.

Parameters	22:3000	22:3150	22:3300	26:3000	26:3150	26:3300	30:3000	30:3150	30:3300	Macrocosmo
Dissolved oxygen (mg.L ⁻¹)	7.56 \pm 0.56 (6.68 - 9.13)	7.59 \pm 0.60 (6.48 - 9.08)	7.56 \pm 0.63 (6.15 - 9.16)	7.59 \pm 0.61 (6.38 - 8.99)	7.60 \pm 0.61 (6.42 - 9.07)	7.59 \pm 0.62 (6.31 - 9.13)	7.55 \pm 0.57 (6.29 - 9.16)	7.56 \pm 0.61 (6.31 - 8.93)	7.61 \pm 0.60 (6.51 - 9.12)	7.64 \pm 0.68 (6.65 - 8.89)
Temperature (°C)	27.06 \pm 2.07 (22.40 - 30.08)	27.64 \pm 2.07 (22.50 - 30.70)	27.70 \pm 2.05 (22.60 - 30.90)	27.66 \pm 2.09 (22.40 - 31.10)	27.66 \pm 2.09 (22.50 - 30.80)	27.64 \pm 2.08 (22.50 - 30.70)	27.67 \pm 2.13 (22.20 - 30.90)	27.65 \pm 2.12 (22.20 \pm 30.90)	27.66 \pm 2.06 (22.40 - 30.60)	27.74 \pm 2.05 (22.43 - 31.17)
pH	7.70 \pm 0.34 (6.90 - 8.07)	7.74 \pm 0.33 (7.00 - 8.08)	7.74 \pm 0.33 (7.10 - 8.06)	7.73 \pm 0.34 (7.00 - 8.06)	7.72 \pm 0.33 (7.00 - 8.07)	7.73 \pm 0.33 (7.10 - 8.09)	7.73 \pm 0.32 (7.10 - 8.04)	7.75 \pm 0.32 (7.10 - 8.20)	7.73 \pm 0.35 (6.90 - 8.20)	7.71 \pm 0.36 (6.93 - 8.10)
Ammonia (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.58 \pm 0.47 (0.13 - 1.23)
Nitrite (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01 \pm 0.01 (0.00 - 0.02)
Nitrate (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.39 \pm 0.02 (0.19 - 0.68)
Orthophosphate (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.95 \pm 2.31 (9.97 - 16.07)
Alkalinity (mg L ⁻¹ of CaCO ₃)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	91.78 \pm 35.28 (54.67- 150.67)
Settable solids (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.52 \pm 8.58 (1.33 - 29)

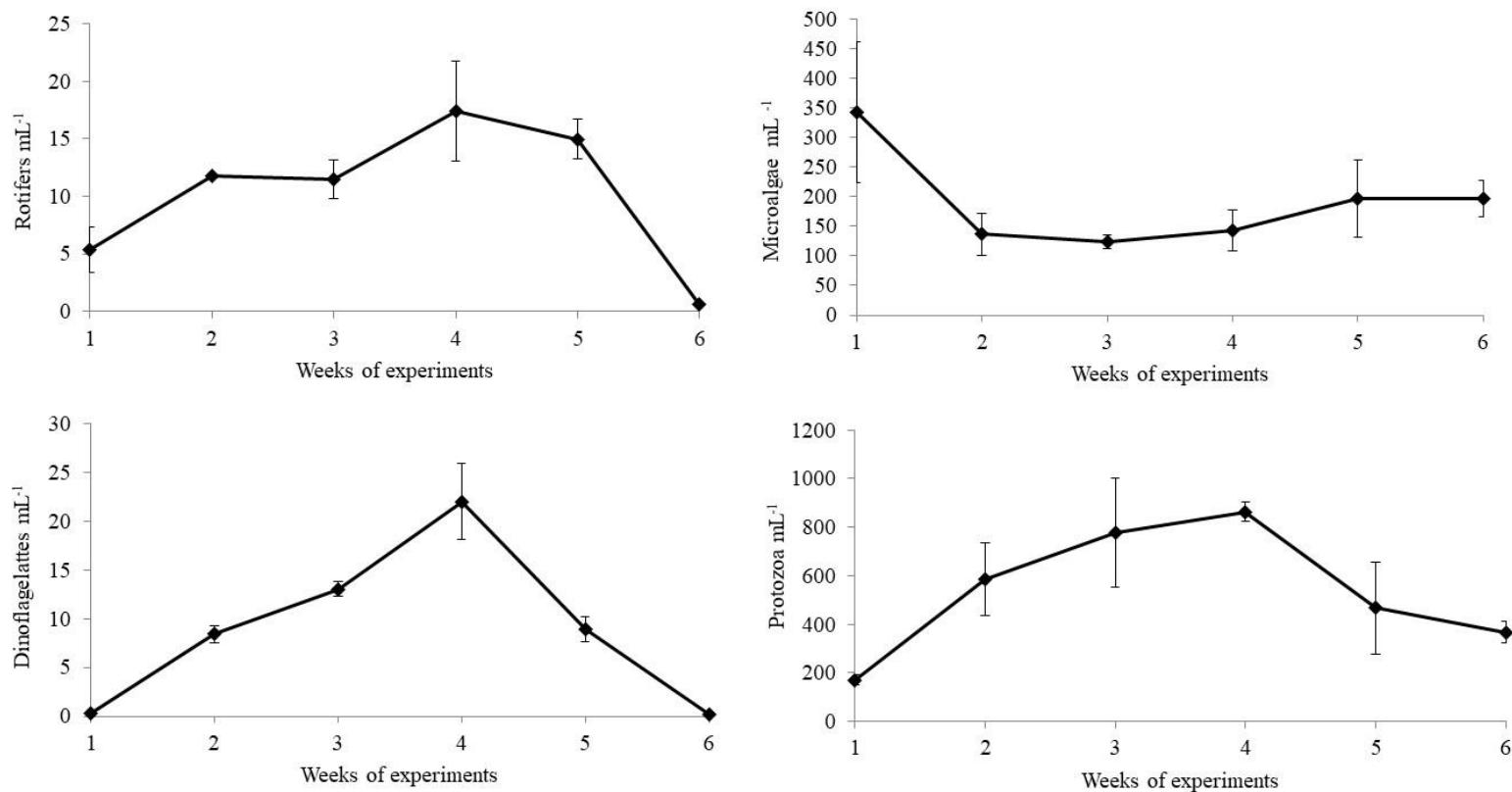


Figure 1: Distribution profile of the most common planktonic organisms in tilapia cultivation in bioflocks, during the experimental period.

Table 3: Zootechnical performance of tilapia fingerlings cultivated in biofloc system and fed a diet formulated under different energy and protein levels.

Proteína	Energia	CT (cm)	CP (cm)	FC	PF (g)	CA	GP (g)	SOB (%)	TCE (%/dia)
22	3000	7,65 ± 0,24	6,22 ± 0,14 Bb	0,81 ± 0,01	6,86 ± 0,29 Aa	1,18 ± 0,06	5,88 ± 0,29 Aa	100 ± 00	4,62 ± 0,11 Aa
22	3150	7,82 ± 0,12	6,41 ± 0,11 Bb	0,82 ± 0,00	6,89 ± 0,45 Ab	1,20 ± 0,10	6,14 ± 0,45 Ab	100 ± 00	4,70 ± 0,17 Ab
22	3300	8,15 ± 0,29	6,61 ± 0,07 Aa	0,81 ± 0,03	7,36 ± 0,38 Aa	1,16 ± 0,07	6,37 ± 0,38 Aa	100 ± 00	4,78 ± 0,12 Aa
26	3000	8,12 ± 0,14	6,60 ± 0,23 Aa	0,82 ± 0,05	7,14 ± 0,45 Aa	1,21 ± 0,09	6,15 ± 0,45 Aa	100 ± 00	4,70 ± 0,15 Aa
26	3150	8,09 ± 0,18	6,59 ± 0,18 Aa	0,81 ± 0,01	7,28 ± 0,30 Aab	1,18 ± 0,06	6,29 ± 0,31 Aab	100 ± 00	4,74 ± 0,10 Aab
26	3300	8,08 ± 0,12	6,46 ± 0,15 Aa	0,80 ± 0,01	7,21 ± 0,16 Aa	1,18 ± 0,03	6,22 ± 0,15 Aa	100 ± 00	4,73 ± 0,04 Aa
30	3000	8,15 ± 0,37	6,49 ± 0,18 Aab	0,80 ± 0,02	7,38 ± 0,30 ABa	1,15 ± 0,05	6,39 ± 0,30 Aa	98,07 ± 3,84	4,77 ± 0,09 ABa
30	3150	8,06 ± 0,13	6,50 ± 0,17 Aab	0,81 ± 0,01	7,78 ± 0,31 Aa	1,11 ± 0,05	6,79 ± 0,31 Aa	98,07 ± 3,84	4,90 ± 0,09 Aa
30	3300	8,14 ± 0,18	6,55 ± 0,20 Aa	0,80 ± 0,01	7,12 ± 0,13 Ba	1,17 ± 0,04	6,13 ± 0,13 Ba	100 ± 00	4,68 ± 0,05 Ba
Médias									
22		7,85 ± 0,31 B	6,37 ± 0,20 B	0,81 ± 0,02	7,04 ± 0,42 B	1,19 ± 0,08	6,05 ± 0,42 B	100 ± 00	4,67 ± 0,15
26		8,10 ± 0,14 A	6,55 ± 0,18 A	0,81 ± 0,03	7,21 ± 0,31 AB	1,19 ± 0,06	6,22 ± 0,31 AB	100 ± 00	4,72 ± 0,10
30		8,12 ± 0,23 A	6,51 ± 0,17 AB	0,80 ± 0,01	7,43 ± 0,37 A	1,14 ± 0,05	6,44 ± 0,37 A	96,15 ± 4,44	4,78 ± 0,12
3000		7,97 ± 0,34	6,43 ± 0,24	0,81 ± 0,03	7,13 ± 0,39	1,18 ± 0,07	6,14 ± 0,39	98,07 ± 3,84	4,70 ± 0,13
3150		7,96 ± 0,21	6,46 ± 0,19	0,81 ± 0,01	7,32 ± 0,50	1,17 ± 0,09	6,33 ± 0,50	98,07 ± 3,84	4,75 ± 0,17
3300		8,12 ± 0,19	6,54 ± 0,14	0,81 ± 0,02	7,23 ± 0,26	1,17 ± 0,05	6,24 ± 0,26	100 ± 00	4,73 ± 0,08
P	Proteína	0,007	0,033	NS	0,023	NS	0,027	NS	NS
	Energia	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Interação	NS	0,032	NS	0,018	NS	0,02	NS	0,04

Mean ± standard deviation. TL: total length; SL: Standard Length; CF: Condition Factor; FW: final weight; FC: Feed Conversion; WG: weight gain; SOB: Survival; SGR: Specific growth rate. Uppercase letters indicate difference between the same protein level at different energy levels and lowercase letters indicate difference between the same energy level with different protein levels (by Tukey test P <0.05) in the upper part of the table. Lower case capital letters indicate difference between protein levels and lower case letters indicate difference between energy levels. (by Tukey test P <0.05)

Table 4: Somatic indices (HSI and CY) of tilapia fingerlings grown in biofloc system and fed a diet formulated under different protein and energy levels.

Protein	Energy	HSI	CY
22	3000	2.80 ± 0.12	15.05 ± 1.19
22	3150	2.85 ± 0.20	15.94 ± 0.69
22	3300	3.18 ± 0.39	15.79 ± 1.49
26	3000	2.50 ± 0.17	14.62 ± 0.53
26	3150	2.74 ± 0.30	14.77 ± 1.42
26	3300	2.58 ± 0.20	16.02 ± 0.93
30	3000	1.90 ± 0.22	15.95 ± 1.44
30	3150	1.69 ± 0.17	15.84 ± 1.73
30	3300	1.96 ± 0.07	14.78 ± 1.37
Mean			
	22	2.93 ± 0.30 A	15.36 ± 1.11
	26	2.60 ± 0.21 B	15.13 ± 1.15
	30	1.85 ± 0.19 C	15.52 ± 1.48
	3000	2.40 V 0.42	15.21 ± 1.17
	3150	2.42 ± 0.58	15.28 ± 1.31
	3300	2.57 ± 0.46	15.53 ± 1.31
P	Protein	< 0.001	NS
P	Energy	NS	NS
P	Interaction	NS	NS

Mean ± standard deviation. HSI: Hepatomatic index; CY: carcass yield. Uppercase letters indicate difference between the same protein level at different energy levels and lowercase letters indicate difference between the same energy level with different protein levels (by Tukey test P <0.05) in the upper part of the table. Lower case capital letters indicate difference between protein levels and lower case letters indicate difference between energy levels. (by Tukey test P <0.05).

Table 5: Bromatological analysis of the biofloc and carcass of tilapia fingerlings grown in biofloc system and fed a diet formulated under different protein and energy levels.

Protein	Energy	HSI	Carcass yield (%)	Total length (cm)	Standard length (cm)	Condition factor
22	3000	2.80 ± 0.12	84.95 ± 1.19	7.65 ± 0.24	6.22 ± 0.14 Bb	0.81 ± 0.01
	3150	2.85 ± 0.20	84.06 ± 0.69	7.82 ± 0.12	6.41 ± 0.11 Bb	0.82 ± 0.00
	3300	3.18 ± 0.39	84.21 ± 1.49	8.15 ± 0.29	6.61 ± 0.07 Aa	0.81 ± 0.03
26	3000	2.50 ± 0.17	85.38 ± 0.53	8.12 ± 0.14	6.60 ± 0.23 Aa	0.82 ± 0.05
	3150	2.74 ± 0.30	85.23 ± 1.42	8.09 ± 0.18	6.59 ± 0.18 Aa	0.81 ± 0.01
	3300	2.58 ± 0.20	83.98 ± 0.93	8.08 ± 0.12	6.46 ± 0.15 Aa	0.80 ± 0.01
30	3000	1.90 ± 0.22	84.05 ± 1.44	8.15 ± 0.37	6.49 ± 0.18 Aab	0.80 ± 0.02
	3150	1.69 ± 0.17	84.16 ± 1.73	8.06 ± 0.13	6.50 ± 0.17 Aab	0.81 ± 0.01
	3300	1.96 ± 0.07	85.22 ± 1.37	8.14 ± 0.18	6.55 ± 0.20 Aa	0.80 ± 0.01
Means						
22	2.93 ± 0.30 A	84.64 ± 1.11	7.85 ± 0.31 B	6.37 ± 0.20 B	0.81 ± 0.02	
26	2.60 ± 0.21 B	84.87 ± 1.15	8.10 ± 0.14 A	6.55 ± 0.18 A	0.81 ± 0.03	
30	1.85 ± 0.19 C	84.48 ± 1.48	8.12 ± 0.23 A	6.51 ± 0.17 AB	0.80 ± 0.01	
3000	2.40 V 0.42	84.79 ± 1.17	7.97 ± 0.34	6.43 ± 0.24	0.81 ± 0.03	
3150	2.42 ± 0.58	84.72 ± 1.31	7.96 ± 0.21	6.46 ± 0.19	0.81 ± 0.01	
3300	2.57 ± 0.46	84.47 ± 1.31	8.12 ± 0.19	6.54 ± 0.14	0.81 ± 0.02	
P	Protein	< 0.001	NS	0.007	0.033	NS
	Energy	NS	NS	NS	NS	NS
	Interaction	NS	NS	NS	0.032	NS

Mean ± standard deviation. CP: Crude protein; DM: dry matter; MM: Mineral matter. Uppercase letters indicate difference between protein levels and lowercase letters indicate difference between energy levels. (Tukey P <0.05).

Table 6: Hematological parameters of tilapia fed different levels of protein and energy in biofloc system.

	Erythrocytes $\times 10^5 \mu\text{L}^{-1}$	Leukocytes $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	Thrombocytes $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	Neutrophils $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	Monocytes $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	Lymphocytes $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$
22	19.45 ± 6.09 AB	36.56 ± 19.48 B	17.92 ± 16.30	0.89 ± 0.81 AB	1.42 ± 1.21	34.31 ± 18.46 B
26	17.49 ± 4.94 B	34.35 ± 18.46 B	14.92 ± 9.40	0.50 ± 0.73 B	1.63 ± 2.29	32.22 ± 17.23 B
30	21.44 ± 8.18 A	51.26 ± 39.34 A	16.51 ± 14.58	1.04 ± 1.59 A	1.77 ± 1.55	48.54 ± 38.29 A
3000	17.95 ± 6.56	36.31 ± 22.01	14.14 ± 11.11	0.73 ± 1.06	1.52 ± 1.74	34.07 ± 20.75
3150	20.49 ± 4.70	44.02 ± 22.94	19.81 ± 12.37	0.86 ± 1.13	1.88 ± 2.12	41.29 ± 21.40
3300	19.81 ± 8.33	41.41 ± 38.17	15.04 ± 16.66	0.81 ± 1.19	1.39 ± 1.28	39.35 ± 37.53
Protein	0.004	0.002	NS (0.49)	0.03	NS (0.59)	0.002
P	Energy	NS (0.07)	NS (0.30)	NS (0.05)	NS (0.78)	NS (0.34)
	Interation	NS (0.09)	NS (0.15)	NS (0.11)	NS (0.39)	NS (0.56)
						NS (0.11)

Small letters indicate the difference between protein levels and capital letters indicate the difference between energy levels (Tukey P <0.05).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível observar nos resultados de desempenho zootécnico, que a utilização da tecnologia de bioflocos na engorda de alevinos de tilápias na fase de berçário é uma alternativa para os produtores, pois foi possível reduzir a quantidade de proteína digestível na dieta para 26%, sem afetar o desempenho das mesmas. A energia não apresentou diferenças estatísticas nas variáveis, exceto para a composição bromatológica da carcaça das tilápias, onde o nível 3000 kcal ED apresentou melhores resultados. Esses resultados foram possíveis, devido à presença dos agregados microbianos (bioflocos) estarem constantemente disponível durante o cultivo e possivelmente suprindo a demanda dos animais.

O correto estabelecimento de níveis ideais de proteína e energia utilizando o conceito da proteína ideal para tilápias da linhagem GIFT, cultivadas na fase de berçário em sistemas de bioflocos, melhoram o desempenho zootécnico dos peixes, diminuindo níveis de proteína e ajustando os níveis energéticos. Sendo assim, é possível promover uma produção sustentável intensificada de maior rentabilidade econômica para os produtores.

4. REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO

ABCC. Associação Brasileira de Carcinicultura. 2011.

AVNIMELECH, Y.; KOCHVA, M.; DIAB, S.; Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. Israel J. Aquaculture Bamidgeh, 46. 119-131. 1994.

AVNIMELECH, Y. Carbono: nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, 176, 227-235, 1999.

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

AVNIMELECH, Y. Tilapia Production Using Biofloc Technology: Saving Water, Waste Recycling Improves Economics. **Global Aquaculture Advocate**, May/Jun 2011, p. 66-68, 2011.

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

BOMFIM, M. A. D. et al. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápis-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(10), 1713-1720. 2008.

BROL, J. et al. Tecnologia de bioflocos (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. **Arch. Zootec.** 66 (254): 229-235. 2017.

BOSCOLO, W.R. et al. Energia digestível para larvas de tilápis-do-nilo *Oreochromis niloticus* na fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34, 1813-1818. 2005

BOSSIER, P., EKASARI, J., Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. **Microb. Biotechnol.** 10, 1012–1016. 2017.

BUHMANN, A.K. et al. Optimization of culturing conditions and selection of species for the use of halophytes as biofilter for nutrient-rich saline water. **Agricultural Water Management** 149, 102–114. 2015.

CARNEIRO, W.F. Determinação da exigência de proteína/energia digestível para a tilápis do Nilo com rações a base de farelo de soja e milho. Dissertação do Programa de pós-graduação em aquicultura e desenvolvimento sustentável. Universidade Federal Do Paraná. Setor palotina departamento de zootecnia. 2016.

CRAB, R. et al. Bioflocs technology application in over-wintering of tilapias. **Aquaculture Engineering**, v.40, p. 105-112, 2009.

CRAB, R. et al. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture** 356–357, 351–356. 2012.

DURIGON, E..G. et al. Digestive enzymes and parasitology of Nile tilapia juveniles raised in brackish biofloc water and fed with different digestible protein and digestible energy levels. **Aquaculture**, 506,2019, 35-41. (2019a).

DURIGON, E.G. et al. Biofloc Technology: adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in the diets of juveniles of Nile tilapia raised in brackish water. **Aquaculture and Fisheries**. 2019b.

HAYASHI, C. et al. Exigência de Proteína Digestível para Larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a Reversão Sexua.R. **Bras. Zootec.**, 31, 2, 823-828. 2002.

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

EKASARI, J. et al. Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. brood fish **Aquac. Res.** 10.1111/are.12185. 2013.

EKASARI, J. et al. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. **Aquaculture**. 441, 72–77. 2015.

EMERENCIANO, M.G.C. et al. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, 29, 1-7. 2007.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. INTECH open science_open minds. Cap 12, 301-327, 2013.

EMERENCIANO, M. G. C. et al. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture. 1ed.: InTech, 1, 91-109, 2017.

FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2016.

FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2018.

FERNANDES, J. B. K. Sistemas de produção de peixes. Colunas Assinadas. 2010.

FURUYA, W. et al. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1433-1441, 2005.

FURUYA, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias, Toledo: GFM.

FURUYA, W.M., BARROS, M.M., PEZZATO, L.E., CYRINO, J.E.P. Exigências nutricionais e alimentação em tilápia. FRACALOSSI, DM e CYRINO, JEP Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira-NUTRIAQUA. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia aquática, 1º ed ampliada. p. 255-268. 2012.

HARIKRISHNAN, R. et al. Efeito protetor da dieta enriquecida com ervas e probióticos no status hematológico e imunológico de *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) contra *Edwardsiella tarda*. Peixe Marisco **Immunol.**, 30 pp. 886 - 893. 2011.

HU, Z. et al. Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. **Bioresource Technology**, 1-7, 2015.

JU, Z.Y. et al. Increased growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of flake fractions or whole shrimp flake in a formulated diet **Aquac. Nutr.** , 14, pp. 533 - 543. 2008.

KRUMMENAUER, D. et al. Superintensive Culture of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a Biofloc Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities. **Journal of the World Aquaculture Society** 42, 726-733, 2011.

KRUMMENAUER, D. Otimização do manejo para o cultivo do camarão-branco *Litopenaeus vannamei* em sistemas de estufas com bioflocos. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Universidade Federal do Rio Grande- RS. 2012.

KUBITZA, F. Tilápias na mira dos patógenos. Panorama da Aquicultura, maio/junho. 28-37. 2008

LEONARDO, A. F. G. et al. Avaliação econômica da produção de juvenis de tilápia-donilo, alimentados com ração comercial e com a produção primária advinda da adubação orgânica e inorgânica. **Custos e @gronegócio on line**, v. 5, n. 1808–2882, p. 22–35, 2009.

LONG, L. et al. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 448, 135–141. 394. 2015.

LUO, G. et al. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. **Aquaculture** 422–423, 1–7. 2014.

MANSOUR, A.T., ESTEBANB, M.A., Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, Volume 64, May. Pages 202-209. 2017.

MARTINS, C.I.M. et al. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. **Aquacultural Engineering** 43, 83–93. 2010.

MILSTEIN, A. et al. Growth performance of hybrid bass and hybrid tilapia in conventional and active suspension intensive ponds. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 53, p. 147-157, 2001.

MOLINARI, D. Inclusão de Farinhas de Inseto em Dietas para o Camarão Branco do Pacífico L. Vannamei (Boone, 1931) em Sistemas Bioflocos. 2015. 55p. Trabalho de conclusão de curso - Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, Laguna, 2015.

MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleóstes em piscicultura intensiva, In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSI, D.M., et al. (Ed) **Tópicos especiais em piscicultura de água tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 343-383.2004.

PEIXE BR. **Anúario Peixe BR da Piscicultura**. 2018.

PEIXE BR. **Anúario Peixe BR da Piscicultura**. 2019.

PINHO, S.M. Aquaponia: Aplicação da Tecnologia de Bioflocos na Produção de Diferentes Cultivares de Alface (*Lactuca sativa*).2015. 46p. Trabalho de conclusão de curso Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, Laguna, 2015.

PORTZ, L; FURUYA, W. M. Energia, proteína e aminoácidos. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, p. 65-77, 2012.

RAY, A.J. et al. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. **Aquaculture**, 310,130-138, 2010.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes. In: 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, 2007. Anais... 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes. Botucatu, São Paulo. Universidade Estadual Paulista, 74p. 2007.

RIJN, J. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering** 53, 49–56. 2013.

SCOPEL, B.R. E DA SILVA A.N. Utilização de berçário em raceways em fazendas de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no Brasil. **Aquaculture Brasil**. Ed. 4 (jan/fev), 2017.

SCORVO FILHO, J. D. et al. Custo operacional de produção da criação de tilápias vermelha da flórida e tailandesa em tanques-rede de pequeno volume. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 71-79, 2006.

STOSIK, M. et al. Phagocytic and bactericidal activity of blood thrombocytes in carps (*Cyprinus carpio*). **Veterinární Medicína**, 47,1,21-25, 2002.

TAVARES-DIAS M. e MORAES F.R., Hematologia de peixes teleósteos. Villimpress, Ribeirão Preto. 144p. 2004.

TIMMONS, M. B. et al. **Recirculating aquaculture systems**, second edition, Ithaca, New York. 2002.

VIADANNA, P.H.O., Uso de imunoestimulante *Saccharomyces cerevisiae* em peixes da espécie *Cyprinus carpio*. Dissertação apresentada no Programa de Pós Graduação em Patologia Experimental. Universidade de São Paulo. 2012.

WATANABE, W.O. et al. Tilapia Production Systems in the Americas: Technological Advances, Trends, and Challenges. **Reviews in Fisheries Science** 10 (3-4), 465-498. 2012.

WASIELESKY, W. et al. Cultivo em meios com flocos microbianos: um caminho a ser percorrido. **Panorama da Aquicultura**, v. 16, n. 96, p. 14–23, 2006.

WEI, Y.; LIAO, S.; WANG, A., The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture** 465, 1 December, Pages 88-93. 2016.

WHO. Protein and amino acid requirements in human nutrition. 2007.

5. CARTA DE APROVAÇÃO CETEA



UDESC
UNIVERSIDADE
DO ESTADO DE
SANTA CATARINA

LAGES
CENTRO DE CIÊNCIAS
AGROVETERINÁRIAS

*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Nutrição de tilápias (linhagem GIFT) em sistemas de bioflocos: é possível otimizar os níveis proteicos e energéticos na fase de berçário?", protocolada sob o CEUA nº 3817270818 (ID: 66671), sob a responsabilidade de **Diego Luiz de Alcantara Lopes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 19/09/2018.

We certify that the proposal "Nutrition of tilapia (GIFT line) in biofloc systems: is it possible to optimize protein and energy levels in the nursery phase?", utilizing 468 Fishes (males and females), protocol number CEUA 3817270818 (ID: 66671), under the responsibility of **Diego Luiz de Alcantara Lopes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 09/19/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 11/2018 a 01/2019 Área: Zootecnia

Origem:	Não aplicável biótico
Espécie:	Peixes
Linhagem:	Oreochromis niloticus
sexos:	Machos e Fêmeas
idade:	20 a 30 dias
Peso:	1 a 1 g

Local do experimento: Laboratório de Aquacultura do Oeste - LAQUA- Oeste / UDESC Oeste.

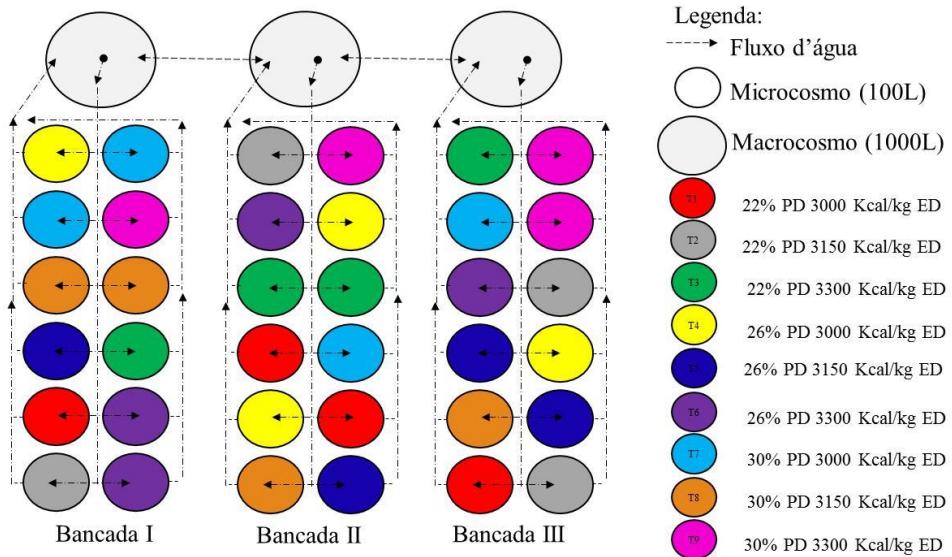
Lages, 19 de setembro de 2018

Marcia Regina Pfuetzenreiter
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. Ubirajara Maciel da Costa
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

6. ANEXOS

Figura 1: Esquema do dispositivo experimental do tipo “macrocosmo-microcosmos” a ser implementado no experimento.



Fonte: Jessica Brol

Figura 2: Dispositivo experimental.



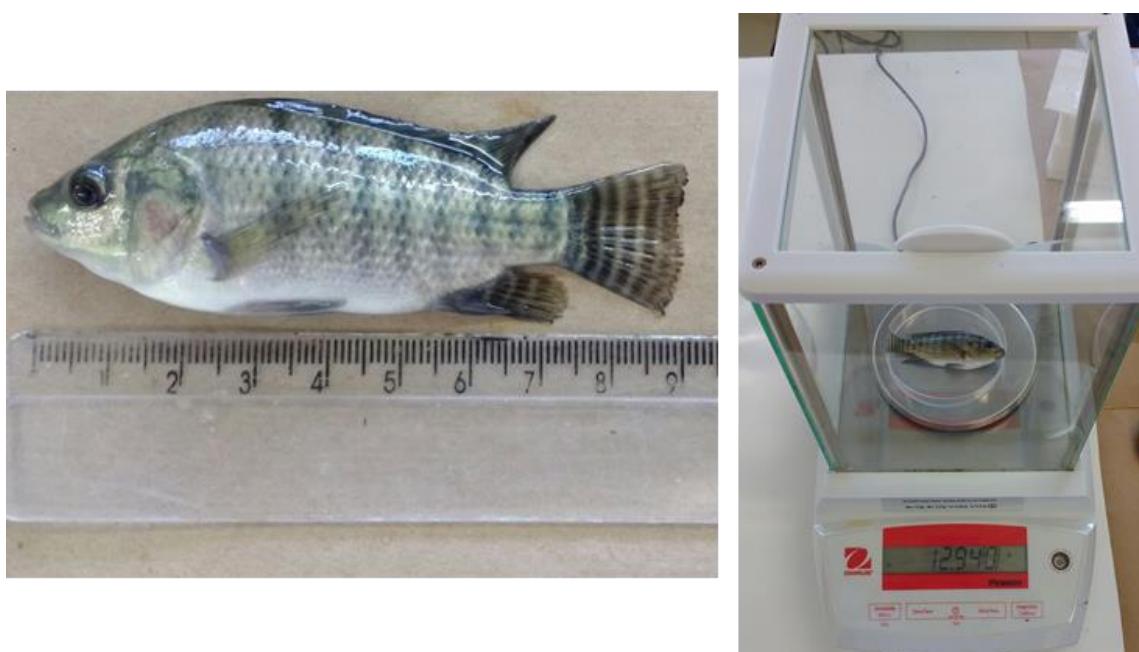
Fonte: Tayna Sgnaulin

Figura 3: Dietas experimentais.



Fonte: Tayna Sgnaulin

Figura 4: Biometrias.



Fonte: Tayna Sgnaulin

Figura 5: Coleta de índice hepatossómatico e rendimento de carcaça.



Fonte: Tayna Sgnaulin

Figura 6: Coleta de sangue para análise hematológica.



Fonte: Tayna Sgnaulin