

KAYANE PEREIRA BESEN

**LARVICULTURA DE KINGUIO (*Carassius auratus*) EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat

**LAGES
2021**

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

Besen, Kayane Pereira
LARVICULTURA DE KINGUIO (*Carassius auratus*) EM
SISTEMA DE BIOFLOCOS / Kayane Pereira Besen. -- 2021.
67 p.

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal, Lages, 2021.

1. Bioflocos. 2. Desempenho zootécnico. 3. Histomorfometria
intestinal. 4. Larvas. 5. Nutrição. I. El Hadi Perez Fabregat, Thiago .
II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
III. Título.

KAYANE PEREIRA BESEN

**LARVICULTURA DE KINGUIO (*Carassius auratus*) EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal.

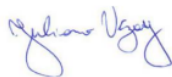
Banca examinadora

Orientador:

Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/Lages – SC

Membros:



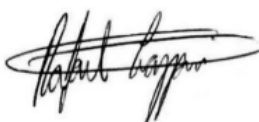
Dr. Juliano Uczay

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM/Palmeira das Missões – RS



Dra. Natália Ha

Centro Universitário Unifacvest/Lages – SC



Dr. Rafael Lazzari

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM/Palmeira das Missões – RS



Dr. Rodrigo Takata

Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro – FIPERJ/Nova Friburgo – RJ

Lages, 16 de dezembro de 2021



Assinaturas do documento



Código para verificação: **X64T3C6K**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



THIAGO EL HADI PEREZ FABREGAT (CPF: 224.XXX.108-XX) em 14/02/2022 às 07:52:28

Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:34:16 e válido até 30/03/2118 - 12:34:16.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTlwMjJfMDAwMDQ4MjRfNDgyNI8yMDIyX1g2NFQzQzZL> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00004824/2022** e o código **X64T3C6K** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Kaio e Rita, e minha irmã Fernanda, por serem meu porto seguro e sempre me encorajar a seguir com os estudos.

Ao meu marido, Gabriel, pelo amor, entusiasmo, carinho, cumplicidade, tolerância e apoio incondicional durante essa fase.

Ao meu filho Caetano, por trazer alegria e leveza nessa reta final.

AGRADECIMENTOS

Á Deus e a todos os seres de luz, pela força espiritual nessa jornada.

À minha família (papai, mamãe e irmã) que sempre me apoiaram e incentivaram nos estudos. Pela paciência e motivação durante meus dias de ansiedade e nervosismo, quando tudo parecia dar errado, vocês diziam para ter calma que no fim tudo daria certo.

Ao meu marido Gabriel Toro pelo amor, companheirismo e a sua família por todo o carinho e torcida!

Ao meu filho Caetano e a minha sobrinha Nola por iluminarem a minha vida com muita alegria e ternura.

Ao meu orientador, Professor Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat, que teve papel fundamental na elaboração deste trabalho e por todo apoio e dedicação. Pelos ensinamentos que me guiam e contribuem com a minha formação pessoal e profissional.

Ao Professor Dr. Everton Skoronski e a equipe do Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos (LABTRAT) da UDESC-CAV/Lages por possibilitarem a realização das análises de água.

Ao Professor André Thaller pela prontidão e ajuda com análises estatísticas.

Aos Professores Dr. Juliano Uczay, Dra. Natália Ha, Dr. Rafael Lazzari e Dr. Rodrigo Takata, pelas valiosas sugestões e participação na banca avaliadora.

A todos que em algum momento fizeram parte do Laboratório de Piscicultura da UDESC-CAV/Lages, pelo convívio e auxílio durante a realização dos experimentos: André Fernando Nascimento Gonçalves, Beatriz Silva da Silveira, Erick William Hessa Melim, Fernanda Picoli, Fernanda Regina Delziovo, Júlia Montibeller da Cruz, Karoline Rocha Nunes, Luiz Augusto Cipriani, Maria Eduarda Schveitzer, Mariana Bender, Matheus Gasparotto, Nandara Soares de Oliveira, Natalia Ha, Rafaela Gomes, Robson Reginatto, Samara Campos Nascimento. Em especial a minha amiga de laboratório, hoje de vida, Larissa da Cunha, pelos conhecimentos transmitidos sobre o sistema de bioflocos que foram fundamentais para a condução do presente estudo. Sempre se mostrou presente e até hoje nunca mediu esforços para me ajudar no que eu precisasse.

A todos os professores, colaboradores, técnicos de laboratório da UDESC-CAV/Lages-SC, em especial ao Professor Dr. André Sbrissia, e também ao pessoal da secretaria de pós-graduação Lara, Éderson e Leandro, por todo auxílio e dedicação nesses anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e ao Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP) pelo apoio financeiro concedido durante todo o curso.

A todos os meus familiares, ao meu cunhado e amigos que ajudaram direta ou indiretamente nesta importante etapa da minha vida.

A todos que apesar de não estarem listados aqui contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

"As coincidências são as formas
de Deus permanecer anônimo”

Carlos Cassau

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização do cultivo em sistema de bioflocos (BFT) na larvicultura inicial de kinguios (*Carassius auratus*). Para isto, foram realizados três experimentos. No primeiro, foram avaliados dois sistemas de cultivo (bioflocos e água clara) e três concentrações diárias de presas vivas (100, 200 e 300 náuplios *Artemia* larva⁻¹). No segundo experimento, foram testadas duas concentrações de sólidos suspensos totais (150 e 300 mg L⁻¹) e três densidades de larvas de kinguios (10, 20, e 30 larvas L⁻¹). Ambos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3 com seis repetições por tratamento e o desempenho zootécnico das larvas foi avaliado durante 15 dias. No terceiro experimento, foram testados os efeitos do sistema de produção (bioflocos e água clara) e de diferentes manejos alimentares na larvicultura de kingiuo (ração, *Artemia* e combinação de *Artemia* e ração) sobre o desempenho zootécnico e histomorfometria intestinal das larvas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 2x3 com quatro repetições por tratamento e duração de 15 dias. No experimento 1, o sistema BFT melhorou o crescimento e a sobrevivência de larvas de kingiuo em comparação com o sistema de água clara. O maior nível de oferta de presas vivas (300 náuplios larva⁻¹) promoveu o melhor crescimento das larvas de kingiuo, independente do sistema de cultivo. No experimento 2, verificou-se que concentrações de sólidos suspensos totais de até 300 mg L⁻¹ não afetam o desempenho zootécnico dos animais e podem ser utilizados durante a larvicultura dos kinguios. O aumento da densidade de estocagem reduziu o crescimento dos animais, mas resultou em maior biomassa produzida. No experimento 3, o cultivo em sistema BFT melhorou a sobrevivência e a saúde intestinal de larvas de kinguios. Concentrações elevadas de amônia na água levaram a uma diminuição no crescimento de larvas de kinguios cultivadas em sistema BFT. Foi observada mortalidade total nos tratamentos que receberam somente ração. A combinação do alimento vivo com o alimento inerte proporcionou melhor desempenho zootécnico na larvicultura de kinguios no sistema água clara. No sistema BFT, a suplementação com ração aparentemente não é necessária. Os resultados mostraram que o sistema BFT é uma tecnologia promissora que tem potencial para ser implementada na larvicultura de kinguios com resultados positivos sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal. Mais estudos são necessários para entender melhor os efeitos dos parâmetros de qualidade da água sobre a larvicultura de kinguios em sistema BFT.

Palavras-chave: Bioflocos. Desempenho zootécnico. Histomorfometria intestinal.
Larvas. Nutrição.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of biofloc system cultivation (BFT) in the initial larviculture of goldfish (*Carassius auratus*). For this, three experiments were carried out. In the first, two culture systems (bioflocs and clear water) and three daily concentrations of live prey (100, 200, and 300 *Artemia* nauplii larva⁻¹) were evaluated. In the second experiment, two concentrations of total suspended solids (150 and 300 mg L⁻¹) and three densities of goldfish larvae (10, 20, and 30 L⁻¹) were tested. Both trials were carried out in a completely randomized design (DIC) in a 2x3 factorial design with six replicates per treatment and larvae performance was evaluated for 15 days. In the third experiment, the effects of the production system (bioflocs and clear water) and different feeding managements in goldfish larviculture (dry food, *Artemia* nauplii, combined *Artemia* nauplii and dry food) on the growth performance and intestinal histomorphometry of the larvae were tested. The experimental design was completely randomized (DIC) in a factorial 2x3 with four replicates per treatment and a duration of 15 days. In experiment 1, the BFT culture improved the growth and survival of goldfish larvae compared to the clear water system. The highest level of live prey supply (300 nauplii larva⁻¹) promoted the best growth of goldfish larvae, regardless of the culture system. In experiment 2, it was found that concentrations of total suspended solids of up to 300 mg L⁻¹ do not affect the performance of animals and can be used during larviculture of goldfish. Increasing stocking density reduced animal growth, but resulted in greater biomass produced. In experiment 3, cultivation in a BFT system improved the survival and intestinal health of goldfish larvae. High concentrations of ammonia in the water led to a decrease in the growth of goldfish larvae cultivated in a BFT system. Total mortality was observed in treatments that received only dry food. The combination of live prey with dry food provided better performance in the larviculture of goldfish in the clear water system. In the BFT system, supplementation with feed is apparently not necessary. The results showed that the BFT system is a promising technology that has the potential to be implemented in the larviculture of goldfish with positive results on performance and intestinal health. More studies are needed to better understand the effects of water quality parameters on goldfish larviculture in BFT system.

Keywords: Bioflocs. Growth performance. Intestinal histomorphometry Larvae. Nutrition.

APRESENTAÇÃO

Esta tese contém três capítulos, sendo que nesses se encontram os seguintes manuscritos:

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais. Este capítulo está nas normas do “Manual para elaboração e normalização de trabalhos acadêmicos (Tese) da UDESC”.

CAPÍTULO 2 - Manuscrito elaborado na forma de artigo científico com o título “Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture in biofloc systems: level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs”. Esse capítulo apresenta o artigo publicado no periódico “Aquaculture” na íntegra: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736738> (Aquaculture, v. 540, p. 736-738, 2021).

CAPÍTULO 3 – Manuscrito elaborado na forma de artigo científico com o título “Efeito do cultivo em sistema BFT e do manejo alimentar sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal de larvas de kinguio (*Carassius auratus*)”. Esse manuscrito está de acordo com as normas do periódico “Aquaculture”.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 3

- Figura 1 - Sobrevivência diária de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes tipos de manejos alimentares..... 55
- Figura 2 - Vilosidade do intestino anterior de larvas de kinguios com 15 dias de ensaio experimental: (a) sistema água clara com *Artemia*; (b) sistema água clara com *Artemia* e ração; (c) sistema BFT com *Artemia*; (d) sistema BFT *Artemia* e ração; Células caliciformes (setas). PAS, obj. 10x..... 56
- Figura 3 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n=4$) do número de células caliciformes no intestino anterior de larvas de kinguios: (A) Sistema de cultivo e (B) Manejo Alimentar..... 57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 -	Trabalhos realizados que utilizaram sistema de bioflocos para criação de peixes.....	22
Tabela 2 -	Trabalhos realizados que utilizaram sistema de bioflocos na larvicultura de peixes.....	23

CAPÍTULO 2

Table 1 -	Means ($\pm$ standard deviation; $n = 6$) of the water quality variables in the clear water (CW) and bioflocs (BFT) system for goldfish larvae fed with different levels of <i>Artemia</i> nauplii during 15 days of culture.....	35
Table 2 -	Means ($\pm$ standard deviation; $n = 6$) of the water quality variables in the biofloc (BFT) system with 150 and 300 mg L ⁻¹ of total suspended solids (TSS) with different stocking densities of goldfish larvae during 15 days of culture.....	36
Table 3 -	Analysis of variance of the growth performance variables of the goldfish larvae at the end of the first experiment.....	38
Table 4 -	Means ($\pm$ standard deviation) of the growth performance variables for goldfish larviculture carried out in clear water (CW) and biofloc (BFT) systems ($n=18$) fed with different levels of <i>Artemia</i> (100, 200 and 300 nauplii larva ⁻¹) ($n=12$).....	38
Table 5 -	Analysis of variance of the growth performance variables of the goldfish larvae at the end of the second experiment.....	39
Table 6 -	Means ($\pm$ standard deviation) of the growth performance variables for goldfish larviculture carried out in biofloc (BFT) systems with different concentrations of total suspended solids (TSS) ($n=18$) and stocking densities of goldfish larvae ($n=12$).....	39

CAPÍTULO 3

Tabela 1 -	Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n = 3$) dos parâmetros de qualidade da água do sistema água clara (AC) e bioflocos (BFT) ao longo do experimento.....	52
Tabela 2 -	Composição da dieta experimental.....	53

Tabela 3 -	Composição de aminoácidos na dieta experimental.....	54
Tabela 4 -	Análise de variância das variáveis de desempenho zootécnico de larvas de kinguios ao final do ensaio experimental.....	56
Tabela 5 -	Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n= 8$) do desdobramento da interação de peso final e taxa de crescimento específico de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes manejos alimentares.....	56
Tabela 6 -	Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n= 8$) das variáveis de desempenho zootécnico de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes tipos de manejos alimentares.....	56
Tabela 7 -	Análise de variância da histomorfometria do intestino anterior de larvas de kinguios ao final do ensaio experimental.....	58
Tabela 8 -	Valores médios da histomorfometria do intestino anterior ($\pm$ desvio padrão; $n=4$) na larvicultura de kinguios, ao final do período experimental.....	58

.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1 SISTEMA BFT (BIOFLOC TECHNOLOGY).....	20
2.2 LARVICULTURA EM SISTEMA BFT.....	23
3 REFERÊNCIAS	26
CAPITULO 2 - Goldfish (<i>Carassius auratus</i>) larviculture in biofloc systems: level of <i>Artemia</i> nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs.....	32
1. Introduction	33
2. Materials and methods.....	34
2.1 Animals and facilities	35
2.2 Water quality.....	35
2.3 BFT culture system	36
2.4 Experiment 1 - Cultivation system and supply level of <i>Artemia</i> nauplii	36
2.5 Experiment 2 - Stocking density and concentration of solids in the BFT system.....	37
2.6 Evaluation of the productive performance	37
2.7. Statistical analyses	38
3. Results.....	38
3.1 Experiment 1 - Cultivation system and the supply level of <i>Artemia</i> nauplii.....	38
3.1.1. Growth performance	38
3.2 Experiment 2 - Stocking density and concentration of solids in the bft system.....	39
3.2.1. Growth performance	39
4. Discussion	39
5. Conclusions.....	42
References.....	42
CAPITULO 3 - Efeito do cultivo em sistema BFT e do manejo alimentar sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal de larvas de kinguio.....	48
1. Introdução	49
2. Material e métodos	50
2.1 Animais e instalações	51
2.2 Manejo alimentar	53
2.3 Desempenho zootécnico	54
2.4 Histomorfometria intestinal.....	54

<i>2.5 Análise estatística</i>	<i>55</i>
3. Resultados	55
<i>3.1 Desempenho zootécnico</i>	<i>55</i>
<i>3.2 Histomorfometria intestinal.....</i>	<i>57</i>
4. Discussão	59
5. Conclusão	61
Referências	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A larvicultura é a etapa inicial do cultivo de peixes. Esse período compreende todos os estágios de desenvolvimento desde o ponto de eclosão até a metamorfose completa dos indivíduos juvenis (PORTELLA *et al.*, 2014). No início da larvicultura, as larvas são organismos simples e passam da alimentação endógena (vitelo) para a alimentação exógena, com diferenciação estrutural e funcional do sistema digestório (TSAI *et al.*, 2013). Por essa razão, a alimentação de larvas é considerada uma das fases mais difíceis da aquicultura (NRC, 1993) tendo influência direta na sobrevivência e no crescimento dos peixes.

Em geral, nos primeiros dias de vida das larvas, é necessário o fornecimento de alimento vivo. A maioria das espécies de larvas de peixes não possuem sistema digestório e enzimático completamente desenvolvido, por isso elas dependem dos nutrientes e das enzimas disponíveis nas presas vivas para crescerem adequadamente (SOARES *et al.*, 2000; MAHMUD *et al.*, 2012). Quando realizado o manejo alimentar com dietas elaboradas, as larvas apresentam índices de desenvolvimento insatisfatórios, com baixo crescimento e alta mortalidade (ABI-AYAD; KESTEMONT, 1994; DEMIR; SARIGÖZ, 2016; KAISER *et al.*, 2003; KREJSZEFF *et al.*, 2008). Tradicionalmente, a larvicultura é realizada em viveiros escavados, com acesso a plâncton natural. Atualmente, existe uma tendência de intensificação da larvicultura, com a realização do cultivo *indoor* no laboratório, o que pode aumentar os custos de produção. Na larvicultura intensiva em água clara o principal alimento vivo ofertado são os náuplios de *Artemia* (ABI-AYAD; KESTEMONT, 1994; DEMIR; SARIGÖZ, 2016; KAISER *et al.*, 2003; PUELLO-CRUZ *et al.*, 2010).

Uma alternativa para substituir os sistemas convencionais de produção é a tecnologia BFT. Trata-se de um sistema sustentável de produção intensiva, altamente oxigenado, com mínima troca de água, custo de implantação relativamente baixo (ZAFAR; RANA, 2021) e pode ser aplicado para otimizar a larvicultura intensiva (EKASARI *et al.*, 2015; EKASARI *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2018; POLI *et al.*, 2015). Essa estratégia apresentou resultados positivos no desempenho zootécnico das larvas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) (EKASARI *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2018), bagre africano (*Clarias gariepinus*) (EKASARI *et al.*, 2016) e de jundiá (*Rhamdia quelen*) (POLI *et al.*, 2015). Sabe-se que os bioflocos presentes no meio de cultivo são fonte constante de alimento complementar (LI *et al.*, 2018; NAJDEGERAMI *et al.*, 2016) e podem apresentar

nutricionalmente um alto valor biológico (CRAB *et al.*, 2010; EKASARI *et al.*, 2014). Além disso, a comunidade microbiana presente nos bioflocos tem potencial para atuar como fonte de bactérias probióticas, influenciando a microbiota intestinal do hospedeiro (FERREIRA *et al.*, 2015) e melhorando a histomorfometria intestinal dos animais cultivados (MIRZAKHANI *et al.*, 2019).

O kinguio (*Carassius auratus*), conhecido popularmente como peixinho japonês, é um dos peixes ornamentais mais produzidos no mundo (DEY, 2016) e existem diversas variedades disponíveis no mercado. São animais onívoros (SALES; JANSSENS, 2003), que se alimentam principalmente de zooplâncton, microalgas, organismos bentônicos e detritos (CASTRO *et al.*, 2016). O cultivo de juvenis de kinguios em sistema BFT já foi realizado com sucesso (CASTRO *et al.*, 2016; FAIZULLAH *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015; YU *et al.*, 2020). Estudos nos estágios larvais de kinguios ainda são inéditos. Como as larvas de kinguios são grandes (LAURIA *et al.*, 1987), espera-se que elas consigam se adaptar com mais facilidade as condições de aeração intensa no cultivo em BFT. Sendo assim, o objetivo desta tese foi viabilizar a produção de larvas de kinguios em sistema BFT.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SISTEMA BFT (BIOFLOC TECHNOLOGY)

O cultivo em sistema BFT tem sido amplamente estudado e aplicado na aquicultura, pois é um modelo de tecnologia sustentável (BROL *et al.*, 2017; DURIGON *et al.*, 2019; EMERENCIANO *et al.*, 2017). O sistema BFT consiste na produção intensiva de organismos aquáticos (FRÓES *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2015) em um meio altamente oxigenado com baixa troca de água (AVNIMELECH *et al.*, 1994; SCHNEIDER *et al.*, 2005), possibilitando uma maior biossegurança, por evitar a entrada de patógenos no sistema (LAICE *et al.*, 2021; POLI *et al.*, 2015).

O princípio básico desse cultivo é a formação de bioflocos através da manipulação da relação C:N na água (AVNIMELECH, 2007; AZIM; LITTLE, 2008). Os flocos devem ser mantidos em suspensão usando aeração constante associado a adição de uma fonte de carbono para permitir a decomposição da matéria orgânica (AVNIMELECH *et al.*, 1986). Já foram testadas diversas fontes de carbono, tais como: o melaço de cana-de-açúcar (BAKAR *et al.*, 2015; BURFORD *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2016), sacarose (LI *et al.*, 2018), glicose (WANG *et al.*, 2015) entre outras. Recomenda-se uma relação C:N acima de 12:1 (AVNIMELECH, 1999), para estimular o desenvolvimento de uma biota bacteriana predominantemente heterotrófica (AVNIMELECH, 2007), a qual tem capacidade de reciclar os compostos nitrogenados presentes na água (AVNIMELECH, 1999; CRAB *et al.*, 2009; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; HARI *et al.*, 2004;) e transformá-los em proteína microbiana útil para os animais aquáticos (AVNIMELECH, 1999; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; EKASARI *et al.*, 2015). Portanto, essas comunidades bacterianas formadas servem como fonte contínua de alimento natural (BECERRIL-CORTÉS *et al.*, 2017; EMERENCIANO *et al.*, 2013) e contribuem para a manutenção da qualidade da água do cultivo, mantendo os resíduos nitrogenados abaixo dos níveis tóxicos (AVNIMELECH, 1999; CRAB *et al.*, 2009; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; HARI *et al.*, 2004).

Os bioflocos formados são tipicamente de forma irregular, sendo o tamanho das partículas bem variado (CHU; LEE, 2004) e estes devem ser mantidos distribuídos de maneira uniforme dentro do cultivo de acordo com a dinâmica promovida pela aeração (CRAB *et al.*, 2007; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; HARGREAVES, 2006; POLI *et al.*, 2015). Os bioflocos (agregados de bactérias, algas, protozoários, detritos orgânicos e inorgânicos) são parte integrante do sistema de produção (CRAB *et al.*, 2007; DE SCHRYVER *et al.*, 2008; HARGREAVES, 2006) e o conjunto dessas frações denomina-

se sólidos suspensos totais (SST) (AVNIMELECH, 1999). O SST é a variável usada para quantificar a concentração em mg L^{-1} de bioflocos na água de cultivo (POLI *et al.*, 2015). A concentração de bactérias no sistema é avaliada indiretamente através dos SST (AVNIMELECH, 1999; POLI *et al.*, 2015). Como é nova a aplicação do sistema BFT na criação de peixes de água doce, algumas condições importantes como a tolerância a diferentes concentrações de SST só foram relatadas para algumas espécies. Para se obter um bom desempenho zootécnico, recomenda-se uma baixa concentração de SST (400 mg L^{-1}) para o bagre africano (*Clarias gariepinus*) (CHEN *et al.*, 2020), concentração mediana de SST (500 mg L^{-1}) para a tilápia do Nilo (AZIM; LITTLE, 2008) e concentrações mais elevadas (600 a 800 mg L^{-1}) para a carpa prussiana (*Carassius auratus gibelio*) (QIAO *et al.*, 2018).

Como o cultivo em BFT permite o uso de densidade elevadas (FRÓES *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2015) quando comparado com os sistemas tradicionais (AVNIMELECH, 2005), pode eventualmente ocorrer picos de compostos nitrogenados tóxicos (IMANPOOR *et al.*, 2009; JHA; BARAT, 2005) e excesso de SST (RAY *et al.*, 2010) na água. Por isso, a produção no sistema BFT pode acarretar em situações de estresse para os animais cultivados ocasionando queda no desempenho zootécnico (LONG *et al.*, 2015; LUO *et al.*, 2014). Para evitar riscos à saúde dos animais, a determinação da densidade adequada e o constante monitoramento dos parâmetros de qualidade da água são fundamentais para o equilíbrio do sistema e também para alcançar melhores resultados no desempenho produtivo.

A composição nutricional dos flocos no sistema BFT depende de alguns fatores, tais como: temperatura, salinidade da água, taxa de troca da água, fonte de carbono utilizada no cultivo, biota microbiana presente na água, composição da ração, espécie produzida, entre outros (AVNIMELECH, 2007). Os bioflocos são compostos nutricionalmente por proteínas, lipídios, carboidratos e vitamina C (CRAB *et al.*, 2010; TACON *et al.*, 2002) e estão presentes em níveis que complementam as necessidades das espécies de aquicultura (CRAB *et al.*, 2010; EKASARI *et al.*, 2014). Estudos mostram que os bioflocos podem atingir mais de 30% de proteína bruta (LI *et al.*, 2018; LONG *et al.*, 2015). Além disso, os bioflocos contêm compostos bioativos, como carotenoides (DA CUNHA *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2016) e bactérias probióticas (AHMAD *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2015; PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2016).

Esses bioflocos presentes no meio de cultivo trazem benefícios para o desempenho dos peixes (FAIZULAH *et al.*, 2015; HARINI *et al.*, 2016; QIAO *et al.*,

2018; YU *et al.*, 2020); melhoria da saúde animal através de competição biológica com patógenos (PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2016; VILANI *et al.*, 2016) e estimulação do sistema imunológico (NAJDEGERAMI *et al.*, 2016). Por esses motivos, a tecnologia BFT vem sendo estudada e aplicada na criação de peixes (Tabela 1) (AHMAD *et al.*, 2019; DA CUNHA *et al.*, 2020; FAIZULAH *et al.*, 2015; FAIZULAH *et al.*, 2017; HAGHPARAS *et al.*, 2020; HARINI *et al.*, 2016; PÉREZ-FUENTES *et al.*, 2016; QIAO *et al.*, 2018; ROMANO *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2015; YU *et al.*, 2020). O cultivo em BFT é ideal para a criação de espécies que apresentam resistência a altas densidades de cultivo, possuam baixa sensibilidade a níveis elevados de compostos nitrogenados tóxicos e sejam tolerantes aos sólidos suspensos na água (EKASARI *et al.*, 2015; POLI *et al.*, 2015). O hábito alimentar também deve ser levado em consideração, dando preferência para organismos filtradores, onívoros ou detritívoros (DA CUNHA *et al.*, 2020; EKASARI *et al.*, 2015; POLI *et al.*, 2015).

Tabela 1. Trabalhos que utilizaram sistema de bioflocos para criação de peixes.

Autores	Espécie	Resultados
Ahmad <i>et al.</i> , 2019	<i>Labeo rohita</i>	Eficaz para controlar os parâmetros de qualidade da água, respostas hematológicas e diminuir o estresse
Da cunha <i>et al.</i> , 2020	<i>Carassius auratus</i>	Promove a pigmentação da pele de juvenis de kinguios mas sem efeito no desempenho zootécnico
Faizulah <i>et al.</i> , 2015	<i>Carassius auratus</i>	Melhores resultados para taxa de crescimento específico, sobrevivência e crescimento
Faizulah <i>et al.</i> , 2017	<i>Carassius auratus</i>	Melhora a relação peso-comprimento de juvenis de kinguios
Haghpars <i>et al.</i> , 2020	<i>Cyprinus carpio</i>	Melhora nos parâmetros imunológicos, na resposta do sistema antioxidante e na qualidade da água
Harini <i>et al.</i> , 2016	<i>Pseudotropheus saulosi</i>	Melhora o crescimento e a sobrevivência
Pérez-Fuentes <i>et al.</i> , 2016	<i>Oreochromis niloticus</i>	É possível reduzir 20% da ração sem danos aparentes à saúde e ao desempenho produtivo. As bactérias presentes no biofloco contribuem para o crescimento e sobrevivência, atuando como probióticos

Qiao <i>et al.</i> , 2018	<i>Carassius auratus gibelio</i>	Melhora o crescimento, a resposta imunológica e a resistência a doenças
Wang <i>et al.</i> , 2015	<i>Carassius auratus</i>	Eficaz para controlar os parâmetros de qualidade da água. O biofloco serve como suplemento alimentar
Yu <i>et al.</i> , 2020	<i>Carassius auratus</i>	Melhora no desempenho zootécnico e na resposta imunológica, aumenta a atividade das enzimas digestivas e fortalece o sistema antioxidante

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

A criação de organismos aquáticos em sistema BFT pode ser uma estratégia para melhorar a saúde intestinal dos animais. A comunidade microbiana presente nos bioflocos tem potencial para atuar como probióticos (FERREIRA *et al.*, 2015; HAI, 2015), inibindo a proliferação de patógenos por exclusão competitiva por comida e espaço na água ou no intestino dos animais cultivados (CRAB *et al.*, 2010), aumentando o valor nutricional dos alimentos devido a sua contribuição enzimática para a digestão (BALCAZAR *et al.*, 2006; VASEEHARAN; RAMASAMY 2003;). Em relação a histomorfometria intestinal, percebe-se um aumento do número das células caliciformes de alevinos de tilápias (MELLO *et al.*, 2013; NAKANDAKARE *et al.*, 2013; NAYAK, 2010) e um maior comprimento e diâmetro das vilosidades intestinais (MIRZAKHANI *et al.*, 2019). Sendo assim, essas comunidades microbianas contribuem para minimizar os gastos com a produção por ser fonte de nutrientes extras essenciais (EKASARI *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2012) e também proporcionar uma melhor absorção dos nutrientes no intestino (XU; PAN, 2013).

2.2 LARVICULTURA EM SISTEMA BFT

O uso da tecnologia BFT é recente na larvicultura de peixes e trabalhos nessa área são escassos (BESEN *et al.*, 2021; EKASARI *et al.*, 2015; EKASARI *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2018; POLI *et al.*, 2015) (Tabela 2).

Tabela 2. Trabalhos que utilizaram sistema de bioflocos na larvicultura de peixes.

Autores	Espécie	Resultados
Besen <i>et al.</i> , 2021	<i>Carassius auratus</i>	Melhora no crescimento e sobrevivência

Ekasari <i>et al.</i> , 2015	<i>Oreochromis niloticus</i>	Melhor desempenho produtivo
Ekasari <i>et al.</i> , 2016	<i>Clarias gariepinus</i>	Melhora na sobrevivência e no comprimento total
Li <i>et al.</i> , 2018	<i>Oreochromis niloticus</i>	Melhora no desempenho zootécnico e saúde intestinal
Poli <i>et al.</i> , 2015	<i>Rhamdia quelen</i>	A larvicultura pode ser realizada com concentrações de sólidos suspensos totais (SST) até 1000 mg L ⁻¹ com bons resultados no desempenho e sobrevivência.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Este sistema oferece vantagens na larvicultura de peixes, já que os bioflocos podem ser um complemento alimentar da ração e proporcionar melhorias no desempenho zootécnico (EKASARI *et al.*, 2015; EKASARI *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2018; POLI *et al.*, 2015). Apesar desse tipo de cultivo ser promissor, ainda é necessário produzir informações importantes sobre o sistema BFT durante essa fase inicial de criação, principalmente para espécies de peixes ornamentais. Por se tratar de um sistema novo e dinâmico, deve-se determinar a tolerância das espécies em relação aos parâmetros característicos de sedimentação de sólidos deste sistema. As larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), podem ser cultivadas em um sistema de bioflocos com concentração de sólidos suspensos totais (SST) até 1000 mg L⁻¹ (POLI *et al.*, 2015). Para larvas de kinguio a concentração de SST entre 150-300 mg L⁻¹ não têm efeito negativo no desempenho (BESEN *et al.*, 2021). Vale salientar que no cultivo BFT a concentração de SST tende a ser alta devido a baixa renovação de água. O excesso de sólidos suspensos pode provocar danos nas brânquias dos peixes (AU *et al.*, 2004). Na larvicultura este aspecto é ainda mais crítico, pois as larvas são sensíveis e não tem as estruturas anatômicas completamente formadas (ABI-AYAD; KESTEMONT, 1994).

2.3 KINGUIO (*Carassius auratus*)

O kinguio, conhecido popularmente como peixinho japonês, é uma espécie de teleosteo, pertencente à família Cyprinidae e subfamília Cyprininae. São peixes onívoros que se alimentam principalmente de microalgas, zooplâncton, organismos bentônicos e detritos orgânicos (SALES; JANSSENS, 2003). Essa espécie de água doce ocupa lugar de destaque no comércio (DEY, 2016) em função da sua beleza, facilidade de adaptação

as condições de cultivo e elevada prolificidade. Existem diversas variedades disponíveis no mercado, diferenciando-se pela coloração, formato do corpo e nadadeiras.

A larva de kinguio é um bom modelo animal para a realização de trabalhos de pesquisa, porque elas se desenvolvem rapidamente quando alimentadas com presas vivas (KAISER *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2000) e em um pouco mais de uma semana elas já começam a se parecer com a forma adulta (MAHMUD *et al.*, 2012). Como as larvas de kinguio são grandes (LAURIA *et al.*, 1987), elas podem se adaptar com mais facilidade a diferentes sistemas de cultivo.

É de interesse para a produção desta espécie, sistemas de cultivo que visem melhorar a sobrevivência e o desempenho das larvas. Estudo recente mostrou que o sistema BFT é uma tecnologia eficaz e promissora para a larvicultura de kinguios (BESEN *et al.*, 2021). Como trabalhos envolvendo a produção de larvas de kinguio em sistema BFT ainda são inéditos, mais estudos são necessários para entender melhor os efeitos do cultivo nos parâmetros de desempenho zootécnico e saúde intestinal.

3 REFERÊNCIAS

- ABI-AYAD, A.; KESTEMONT, P. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. **Aquaculture**, v. 128, n. 1-2, p. 163-176, 1994.
- AHMAD, I. *et al.* Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. **Aquaculture International**, v. 25, n. 3, p. 1215-1226, 2017.
- AHMAD, I. *et al.* Carbon sources affect water quality and haemato-biochemical responses of *Labeo rohita* in zero-water exchange biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 10, p. 2879-2887, 2019.
- AVNIMELECH, Y. *et al.* Studies in circulated fish ponds: organic matter recycling and nitrogen transformation. **Aquaculture Research**, v. 17, n. 4, p. 231-242, 1986.
- AVNIMELECH, Y. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. **Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, v. 46, n. 3, p. 119-131, 1994.
- AVNIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 176, n. 3-4, p. 227-235, 1999.
- AVNIMELECH, Y. Tilapia harvest microbial flocs in active suspension research pond. **Global Aquaculture Advocate**, p.57-58, 2005.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 140-147, 2007.
- AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, p. 29-35, 2008.
- BAKAR, N. S. A. *et al.* Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 102, p. 100-106, 2015.
- BALCAZAR, J. L. *et al.* The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary microbiology**, v. 114, p. 173 -186, 2006.
- BECERRIL-CORTÉS, D. *et al.* Nutritional importance for aquaculture and ecological function of microorganisms that make up biofloc, a review. **International Journal of Aquatic Science**, v. 8, n. 2, p. 69-77, 2017.
- BESSEN, K. *et al.* Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture in biofloc systems: Level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs. **Aquaculture**, v. 540, p. 736738, 2021.

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

BURFORD, M. A. *et al.* The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, v. 232, n. 1-4, p. 525-537, 2004.

CASTRO, M. G. *et al.* Length, weight and condition factor comparison of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) juveniles cultured in biofloc system. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 4, n. 6, p. 345-350, 2016.

CHEN, X. *et al.* Effects of carbohydrate supply strategies and biofloc concentrations on the growth performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in biofloc systems. **Aquaculture**, v. 517, p. 734808, 2020.

CHU, C. P.; LEE, D. J. Multiscale structures of biological flocs. **Chemical Engineering Science**, v. 59, p. 1875-1883, 2004.

CRAB, R. *et al.* Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, v. 270, p. 1-14, 2007.

CRAB, R. *et al.* Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. **Aquacultural Engineering**, v. 40, p. 105-112, 2009.

CRAB, R. *et al.* The effect of diferente carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 559- 567, 2010.

DA CUNHA, L. *et al.* Biofloc technology (BFT) improves skin pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture**, v. 522, p. 735132, 2020.

DE SCHRYVER, P. *et al.* The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, p. 125-137, 2008.

DEMIR, O.; SARIGÖZ, S. 2016. Development of a feeding program for early larval stage of goldfish (*Carassius auratus*). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 16, n. 2, p. 321-326, 2016.

DEY, V. K. The global trade in ornamental fish. **Infofish International**, v. 4, n. 16, p. 23-29, 2016.

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**, v. 506, p. 35-41, 2019.

EKASARI, J. *et al.* Primary nutritional content of Bio-Flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. **Hayati Journal of Biosciences**, v. 17, p. 125-130, 2010.

EKASARI, J. *et al.* The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. **Aquaculture**, v. 426, p. 105-111, 2014.

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

EKASARI, J. *et al.* Biofloc technology application in African catfish fingerling production: the effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. **Aquaculture**, v. 464, p. 349-356, 2016.

EKASARI, J. *et al.* Growth and health performance of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) juvenile fed with graded levels of biofloc meal. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 7, p. 1802-1811, 2019.

EMERENCIANO, M. *et al.* Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. **Aquaculture International**, v. 21, p. 1381-1394, 2013.

EMERENCIANO, M. G. C. *et al.* Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture. **Water quality**, v. 5, p. 92-109, 2017.

FAIZULLAH, M. *et al.* Impact of biofloc technology on the growth of goldfish young ones. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 8, n. 12, p. 1, 2015.

FERREIRA, G. S. *et al.* Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 448, p. 273-279, 2015.

FRÓES, C. *et al.* Fertilização orgânica com carbono no cultivo intensivo em viveiros com sistema de bioflocos do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. **Atlântica (Rio Grande)**, v. 34, n. 1, p. 31-39, 2012.

HAGHPARAST, M. M. *et al.* Evaluation of hemato-immunological parameters and stress indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) in different C/N ratio of biofloc system. **Aquaculture International**, v. 28, n. 6, p. 2191-2206, 2020.

HAI, N. V. The use of probiotics in aquaculture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, p. 917-935, 2015.

HARGREAVES, J. A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p. 344-363, 2006.

HARI, B. *et al.* Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. **Aquaculture**, v. 241, p. 179-194, 2004.

HARINI, C. *et al.* Role of biofloc in the growth and survival of blue morph, *Pseudotropheus saulosi*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 9, n. 8, p. 1-7, 2016.

IMANPOOR, M. R. *et al.* Effects of stocking density on survival and growth indices of common carp (*Cyprinus carpio*). **Iranian Scientific Fisheries Journal**, v.18, n. 3, p.1-9, 2009.

JHA, P.; BARAT, S. The effect of stocking density on growth, survival rate, and number of marketable fish produced of koi carps, *Cyprinus carpio* vr. *koi* in concrete tanks. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 17, n. 3, p. 89-102, 2005.

KAISER, H. *et al.* A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). **Aquaculture Research**, v. 34, n. 11, p. 943-950, 2003.

KREJSZEFF, S. Mass rearing of goldfish larvae and juveniles under controlled conditions. **Survival**, v. 98, n. 98.2, p. 98.2, 2008.

LAICE, M. *et al.* Use of symbiotics in biofloc (BFT) based Nile tilapia culture: Production performance, intestinal morphometry and hematological parameters. **Aquaculture**, v. 530, p. 735715, 2021.

LAURIA, S. *et al.* Notes on egg development and larval and juvenile growth of crucian carp (*Carassius carassius* (L.)). **Annales Zoologici Fennici**, v. 24, p. 315- 321, 1987.

LI, H. D. *et al.* Effect of biofloc technology on water quality and feed utilization in the cultivation of gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Aquaculture Research**, v. 49, n. 8, p. 2852-2860, 2018.

LIMA, E. C. R. *et al.* Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, n. 4, p. 948-957, 2015.

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**, v. 448, p. 135-141, 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, 1-7, 2014.

MAHMUD, Z. *et al.* Induced breeding, embryonic and larval development of comet gold fish (*Carassius auratus*) in Khulna, Bangladesh. **International Journal of Biosciences**, v. 10, p. 28-38, 2011.

MELLO, H. *et al.* Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 724-730, 2013.

MIRZAKHANI, N. *et al.* Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C: N ratios. **Aquaculture**, v. 512, p. 734235, 2019.

NAJDEGERAMI, E. H. *et al.* Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, n. 2, p. 457-465, 2016.

NAKANDAKARE, I. B. *et al.* Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do- Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, p. 121-135, 2013.

NAYAK, S. Probiotics and immunity: a fish perspective. **Fish & shellfish immunology**, v. 29, p. 2-14, 2010.

NRC. Nacional Research Council (U.S). Committee on Animal Nutrition. **1. Fishes - Nutrition - Requirements. 2. Fishes - Feedings and feeds**. Washington,DC.:National Academy of Sciences, 1993. 114p.

PÉREZ-FUENTES, J. A. *et al.* C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. **Aquaculture**, v. 452, p. 247-251, 2016.

POLI, M. A. *et al.* The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. **Aquacultural engineering**, v. 66, p. 17-21, 2015.

PORTELLA, M. C. *et al.* Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, v. 432, p. 402-417, 2014.

PUELLO-CRUZ, A. C. *et al.* Growth and survival of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, larvae at low salinity and with different diets. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, p. 823-828, 2010.

QIAO, G. *et al.* Biofloc technology (BFT): An alternative aquaculture system for prevention of Cyprinid herpesvirus 2 infection in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). **Fish & shellfish immunology**, v. 83, p. 140-147, 2018.

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

ROMANO, N. *et al.* Assessing the feasibility of biofloc technology to largemouth bass *Micropterus salmoides* juveniles: Insights into their welfare and physiology. **Aquaculture**, v. 520, p. 735008, 2020.

SALES, J.; JANSSENS, G. P. Nutrient requirements of ornamental fish. **Aquatic Living Resources**, v. 16, n. 6, p. 533-540, 2003.

SCHNEIDER, O. *et al.* Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. **Aquacultural engineering**, v. 32, n. 3-4, p. 379-401, 2005.

SOARES, C. M. *et al.* Plâncton, *Artemia* sp., dieta artificial e suas combinações no desenvolvimento e sobrevivência do quinguio (*Carassius auratus*) durante a larvicultura. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 22, p. 383-388, 2000.

TACON, A. G. J. *et al.* Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture nutrition**, v.8, p.121-137, 2002.

TSAI, H. Y. *et al.* Embryonic development of goldfish (*Carassius auratus*): a model for the study of evolutionary change in developmental mechanisms by artificial selection. **Developmental dynamics**, v. 242, n. 11, p. 1262-1283, 2013.

VASEEHARAN, B.; RAMASAMY, P. Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, p. 83-87, 2003.

VILANI, F. G. *et al.* Strategies for water preparation in a biofloc system: effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. **Aquacultural engineering**, v. 74, p. 70-75, 2016.

WANG, G. *et al.* Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. **Aquaculture**, v. 443, p. 98-104, 2015.

XU, W. J.; PAN, L. Q. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero- water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. **Aquaculture**, v. 356, p. 147-152, 2012.

XU, W. J. *et al.* Effects of bioflocs on water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture Research**, v. 44, p. 1093-1102, 2013.

YU, Z. *et al.* Monitoring of growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of Golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero-water exchange tanks of biofloc systems. **Aquaculture Reports**, v. 16, p. 100283, 2020.

ZAFAR, M. A.; RANA, M. M.. Biofloc technology: an eco-friendly “green approach” to boost up aquaculture production. **Aquaculture International**, p. 1-22, 2021.

ZHAO, D. *et al.* Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, p. 566-576, 2016.

CAPITULO 2 - Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture in biofloc systems: level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs

Kayane Pereira Besen^a, Larissa da Cunha^a, Fernanda Regina Delzियो^a, Erick William Hessa Melim^a, Luiz Augusto Cipriani^a, Rafaela Gomes^a, Everton Skoronski^a, Thiago El Hadi Perez Fabregat^{a,*}

***Corresponding author at:** Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Avenida Luiz de Camões, 2090, CEP 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brazil. thiagofabregat@hotmail.com

^aUniversidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Avenida Luiz de Camões 2090, CEP 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brazil. kakabesen@hotmail.com; laridacunha@gmail.com; fernandadelzियो@gmail.com; erick.melim@hotmail.com; ciprianiaugustoluiz@gmail.com; rafaelagomes99@hotmail.com; everton.skoronski@udesc.br; thiagofabregat@hotmail.com^{*}

Abstract

The present study evaluated the use of a biofloc system (BFT) for the larviculture of goldfish (*Carassius auratus*). Two experiments were carried out, of which the first evaluated two culture systems (BFT and clear water) and three densities of *Artemia* nauplii (100, 200 and 300 nauplii larvae⁻¹). The second experiment evaluated two concentrations of total suspended solids (150 and 300 mg L⁻¹) and three densities of goldfish larvae (10, 20, and 30 larvae L⁻¹). Both trials lasted 15 days and were performed in a completely randomized design (DIC) in a 2×3 factorial scheme, with six replicates per treatment. The cultivation with the bioflocs showed the best growth and survival of goldfish larvae. The higher supply level of *Artemia* nauplii (300 nauplii larvae⁻¹) led to the best growth of the goldfish larvae when compared to the lower densities of nauplii, regardless of the cultivation system. The concentration of total suspended solids of up to 300 mg L⁻¹ had no adverse effect on the growth performance of the animals. Best growth results in the biofloc system were obtained with 10 larvae L⁻¹. The increase in stocking density reduced growth of the larvae but resulted in higher biomass.

Keywords: Bioflocs. Growth performance. Larvae. Nutrition. Ornamental fish.

1. Introduction

The success of ornamental fish aquaculture depends on the continuous supply of high-quality larvae. Fish arviculture has been the focus of ample research (Abi-Ayad and Kestemont, 1994; Carvalho et al., 1997; Ekasari et al., 2015; Demir and Sarigöz, 2016), but the activity still shows many challenges (Ekasari et al., 2015; Giatsis et al., 2015). The fish in this phase is small and very sensitive and require strict management to obtain optimal performance and survival (Kolkovski, 2001; Kaiser et al., 2003). Fish larviculture is often subject to intensification to ensure greater control of production. Biofloc systems (BFT) are a potential alternative strategy for intensification of fish larviculture but require further studies.

BFT cultivation consists of a highly oxygenated system with little or no water exchange since favorable culture conditions are maintained by the presence of aerobic and heterotrophic bacterial communities. Bacterial biomass functions as a source of food for cultivated organisms as well (Avnimelech, 1999; De Schryver et al., 2008). In addition, the BFT cultivation has been shown to reduce disease outbreaks through competitive inhibition of pathogens by the bacterial communities (Kim et al., 2014). The cultivation of freshwater fish in the BFT system is still a recent development and only a few species have been evaluated in this system (Azim and Little, 2008; Ekasari et al., 2015; Poli et al., 2015). Studies related to the larval development of fish are even more scarce (Ekasari et al., 2015; Poli et al., 2015).

Artemia nauplii is the main living food supplied in intensive larviculture (Puello-Cruz et al., 2010). However, the high costs of *Artemia* have led to interests in supplemental or substitution food sources (Ehrlich et al., 1989; Soares et al., 2000). In BFT systems, the heterotrophic biomass is composed of bacteria, other microorganisms such as microalgae and zooplankton, as well as aggregates of organic matter in living and dead particles (Hargreaves, 2006; De Schryver et al., 2008). Bioflocs are small in size (Ekasari et al., 2014a), have proteins, lipids, carbohydrates and vitamins C, and are present at levels that may supplement the requirements of aquaculture species (Crab et al., 2010; Ekasari et al., 2014b). The bioflocs are constantly distributed throughout the water column because of aeration. These are characteristics of a suitable live food that can be used to supplement the feed of fish larvae (Kaiser et al., 2003).

The concentration of bacteria in the system is measured indirectly through the total suspended solids (Avnimelech, 1999; Poli et al., 2015). Control of the total suspended solids in the BFT system is essential to maintain water quality levels and to

achieve better productive performance (Ray et al., 2010; Poli et al., 2015). The excess of suspended solids can cause damage to fish gills (Au et al., 2004). In a larviculture BFT system, the control of solids should be more rigorous since the larvae are sensitive and are still forming anatomical structures (Abi-Ayad and Kestemont, 1994).

BFT culture permits the rearing of high densities when compared to conventional systems (Ekasari and Maryam, 2012). However, intensification in BFT systems is still limited due to hierarchical behavior of animals (Holm et al., 1990; Kestemont et al., 2003) and the accumulation of toxic nitrogen compounds in the water (Jha and Barat, 2005). In general, heterotrophic bacteria in the BFT system remove nitrogenous compounds from water (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2006). However, the conversion of nitrogen into solid material may lead to a harmful level of total suspended solids (Ray et al., 2010). Hence, establishing the proper level of suspended solids will facilitate management of the culture.

The goldfish *Carassius auratus* is an ornamental freshwater species of economic interest (Sinha and Asimi, 2007; Yanar et al., 2008). This species is widely cultivated and shows market demand, which have led to the intensification of its production (Gonçalves Junior et al., 2014; Wang et al., 2015; Da Cunha et al., 2020). Nevertheless, little information exists regarding the cultivation of ornamental fish larvae in BFT systems. The larviculture of goldfish in a BFT system may be a viable alternative to increase performance and survival when compared to intensive production in clear water systems. Hence, the present study evaluated the growth performance of goldfish larvae through two experiments. The first experiment analyzed the effect of the cultivation system (BFT and clear waters) and prey density on the growth performance and the second experiment analyzed the concentration of suspended solids and the stocking density of larvae cultivated in the BFT system.

2. Materials and methods

The present study was carried out at the Pisciculture Sector of the Center for Agricultural Sciences (CAV) at the University of the State of Santa Catarina (UDESC), Lages campus. The project was approved by the university Animal Ethics and Experimentation Committee under protocol number 3339060919. Two experiments were carried out with a duration of 15 days each. In the first, different levels of *Artemia* were tested in the larviculture of goldfish in BFT and clear water production systems. In the second experiment, the effects of stocking density and concentration of bioflocs on the

productive performance of goldfish larvae were evaluated in the BFT system. Both experiments were carried out in a completely randomized design in a 2×3 factorial scheme with six replicates per treatment.

2.1 Animals and facilities

The present study used larvae obtained from laboratory broodstock for both experiments. The experimental units consisted of cylindrical tanks with conical bottom (1 L) equipped with an aeration system from a radial compressor with porous stones placed at the bottom of the tank. The experimental units were set up in a closed room (artificial lighting with controlled photoperiod - 12 h light and 12 h dark) and maintained in a water bath ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) with the use of thermostat heaters. Food waste and feces were siphoned and 50% of the water was renewed daily.

2.2 Water quality

The temperature (measured by a digital thermometer), dissolved oxygen (dissolved oxygen meter model AZ8403), pH (Hanna HI98130) and salinity (YSI Professional Plus multiparameter probe) of the experimental units were monitored daily in the morning. The water had a low salinity ($\pm 4 \text{ g L}^{-1}$) to improve the osmotic balance of the animals. Water samples (75 ml) were collected twice a week for analyses of ammonia, nitrite, nitrate and alkalinity, which were carried out at the Water and Waste Treatment Laboratory (LABTRAT) of the CAV/UDESC. Total suspended solids (TSS) were monitored only in treatments with BFT. All analyses followed the guidelines described by Rice et al. (2012). The averages of the water quality parameters of experiments 1 and 2 are shown in Tables 1 and 2, respectively. Values of the water quality in both experiments remained within the adequate range as recommended for fish culture (Boyd and Tucker, 2012).

Table 1. Means ($\pm$ standard deviation; $n = 6$) of the water quality variables in the clear water (CW) and bioflocs (BFT) system for goldfish larvae fed with different levels of *Artemia* nauplii during 15 days of culture.

(SL nauplii larva ⁻¹)	CW			BFT		
	100	200	300	100	200	300
T ($^{\circ}\text{C}$)	22.65 $\pm$ 0.32	22.40 $\pm$ 0.15	23.00 $\pm$ 0.21	22.40 $\pm$ 0.35	22.50 $\pm$ 0.15	22.90 $\pm$ 0.21
DO (mg L ⁻¹)	8.38 $\pm$ 0.20	8.30 $\pm$ 0.18	8.43 $\pm$ 0.24	8.51 $\pm$ 0.30	8.28 $\pm$ 0.12	8.36 $\pm$ 0.20
pH	7.79 $\pm$ 0.02	7.68 $\pm$ 0.10	7.730 $\pm$ 0.09	7.83 $\pm$ 0.10	7.64 $\pm$ 0.13	7.77 $\pm$ 0.08

S (g L ⁻¹)	4.11±0.20	4.26±0.35	4.39±0.29	4.20±0.43	4.41±0.26	4.33±0.28
TAN (mg L ⁻¹)	0.26±0.14	0.31±0.13	0.29±0.18	0.06±0.04	0.14±0.05	0.14±0.05
NO ₂ (mg L ⁻¹)	0.43±0.11	0.61±0.15	0.60±0.28	0.84±0.25	0.70±0.23	1.04±0.32
NO ₃ (mg L ⁻¹)	6.78±2.11	7.20±1.74	6.10±3.72	185.24±38.91	154.29±36.18	156.71±9.07
TSS (mg L ⁻¹)	-	-	-	233.00±35.35	226.67±81.13	281.20±165.65

SL: Supply level of *Artemia*; T: temperature; DO: dissolved oxygen; pH: Hydrogenic potential; S: salinity; TAN: ammonia nitrogen; NO₂: nitrite; NO₃: nitrate; TSS: total suspended solids.

Table 2. Means ($\pm$ standard deviation; $n = 6$) of the water quality variables in the biofloc (BFT) system with 150 and 300 mg L⁻¹ of total suspended solids (TSS) with different stocking densities of goldfish larvae during 15 days of culture.

(SD L ⁻¹)	TSS 150 mg L ⁻¹			TSS 300 mg L ⁻¹		
	10	20	30	10	20	30
T (°C)	21.90±0.35	22.30±0.58	22.0±0.48	22.10±0.40	21.7±0.30	22.2±0.55
DO (mg L ⁻¹)	8.24±0.49	8.44±0.31	8.39±0.40	8.21±0.33	8.51±0.67	8.30±0.79
pH	7.55±0.92	7.39±0.88	7.19±0.70	7.25±0.52	7.78±0.71	7.44±0.27
S (g L ⁻¹)	4.44±0.88	4.15±0.71	4.28±0.54	4.30±0.22	4.26±0.39	4.12±0.22
TAN (mg L ⁻¹)	0.02±0.02	0.19±0.11	0.19±0.15	0.18±0.12	0.14±0.05	0.09±0.07
NO ₂ (mg L ⁻¹)	-	-	-	-	-	-
NO ₃ (mg L ⁻¹)	96.21±13.77	84.92±12.17	77.88±36.51	106.92±8.93	92.54±22.04	102.22±18.84
TSS (mg L ⁻¹)	148. ±30.63	186.7±18.10	183.3±67.12	308.0±24.75	318.7±38.60	343.3±62.22

SD: Stocking density; T: temperature; DO: dissolved oxygen; pH: Hydrogenic potential; S: salinity; TAN: ammonia nitrogen; NO₂: nitrite; NO₃: nitrate; TSS: total suspended solids.

2.3 BFT culture system

Bioflocs were produced prior to the experimental period to obtain a mature culture media and stable water quality. The production of the heterotrophic medium was carried out in a 500 L tank with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) that were fed with commercial feed containing 40% CP. The water temperature was kept constant ($\pm 22^\circ\text{C}$) using heaters equipped with thermostats, and a compressor system provided the aeration. This system was assembled to provide an up-flow air injection in the tank, which gentle stirred the water and kept the bioflocs in suspension. The C:N ratio used for the BFT system was 20:1, which is considered as ideal for the production of the species (Pérez-Fuentes et al., 2016). The system was fertilized daily with molasses (38% C) as the organic carbon source as described in De Schryver et al. (2008). This methodology assumes that the fish assimilate approximately 25% of the nitrogen in the feed and that the remaining 75% are converted to total ammonia nitrogen (TAN) in the water.

2.4 Experiment 1 - Cultivation system and supply level of *Artemia nauplii*

A total of 540 larvae (initial weight of 0.80 ± 0.23 mg) at the beginning of exogenous feeding were randomly distributed among the experimental units. Two types of systems (clear water and bioflocs) with different levels of live prey (100, 200 and 300 *Artemia* nauplii larvae⁻¹) were evaluated. Food wastes and feces were siphoned and 50% of the water was renewed daily. In clear water systems, the replenished water came from an artesian well and was maintained in a reserve tank at $\pm 25^{\circ}\text{C}$ with the aid of thermostat heaters. For the BFT systems, the water came from the BFT tank with the tilapia. The *Artemia* density was increased every five days according to the growth of the larvae. The larvae were fed twice a day (07:00 and 17:30).

2.5 Experiment 2 - Stocking density and concentration of solids in the BFT system

A total of 720 larvae (initial weight of 0.80 ± 0.25 mg) at the beginning of exogenous feeding were randomly distributed among the experimental units. Two concentrations of total suspended solids were evaluated in the BFT culture system (150 and 300 mg L⁻¹) and three densities of goldfish larvae (10, 20 and 30 larvae L⁻¹). The larvae were fed 300 *Artemia* nauplii larvae⁻¹, which was the best rate determined in the first experiment. The *Artemia* density increased every five days according to the growth of the larvae. The nauplii were divided into two offerings each day (07:00 and 17:30). Food waste and feces were siphoned and 50% of the water was renewed daily. The replacement water came from the BFT tank with tilapia.

2.6 Evaluation of the productive performance

Biometrics were performed at the beginning and at the end (15 days) of each experiment. The surviving larvae were anesthetized and euthanized in eugenol (1 g of 10 L⁻¹ of water). In experiment 1, the productive performance of the larvae was measured after euthanasia. The weight was measured on a precision analytical scale and the total length of the larvae was measured with a digital caliper. In experiment 2, the larvae were preserved in 10% buffered formaldehyde for 24 h and then transferred to a 70% alcohol solution and measurements were subsequently performed. The specific growth rate ($\text{SGR} = [(\ln \text{ final weight} - \ln \text{ initial weight}) / \text{number of experimental days}] \times 100$), Total biomass (TB = cumulative fish weights), total length (mm), condition factor ($\text{CF} = [\text{final weight} / \text{total length}^3] \times 100$) and survival ($\text{S} = [\text{total final animals} / \text{total initial animals}] \times 100$) of each experimental unit were evaluated.

2.7. Statistical analyses

All data were subjected to tests of normality (Shapiro-Wilk test) and homocedasticity (Levene test). When both conditions were met, data were compared using the Parametric Variance Analysis (2x3 factorial ANOVA). Since no interaction effects were shown for any variable, the factors were compared ($P < 0.05$) separately. When statistical difference ($P < 0.05$) was shown, the means were compared using the Tukey test.

3. Results

3.1 Experiment 1 - Cultivation system and the supply level of *Artemia* nauplii

3.1.1. Growth performance

No interaction ($P < 0.05$) was shown between the type of cultivation system and the supply level of the *Artemia* for the growth performance variables (Table 3).

In the BFT system (Table 4), the specific growth rate, total length and survival of the larvae were higher ($P < 0.05$) than in the clear water system. The type of system had no influence ($P > 0.05$) on the condition factor. A higher supply level of the *Artemia* nauplii per larvae ($P < 0.05$) resulted in a higher ($P < 0.05$) specific growth rate, total length and condition factor (Table 4). The supply level of *Artemia* nauplii did not affect ($P > 0.05$) survival.

Table 3. Analysis of variance of the growth performance variables of the goldfish larvae at the end of the first experiment.

	P Values		
	System (ST)	Supply level of <i>Artemia</i> (N)	Interaction (ST x N)
SGR (% day ⁻¹)	<0.001*	<0.001 *	0.6666NS
TL (mm)	<0.001*	<0.001 *	0.7415NS
CF	0.5579NS	0.0032 *	0.5760NS
S (%)	<0.001 *	0.8462 NS	0.3344NS

*: $P < 0.05$; NS: not significant. SGR: specific growth rate; TL: total length; CF: condition factor; S: survival.

Table 4. Means ($\pm$ standard deviation) of the growth performance variables for goldfish larviculture carried out in clear water (CW) and biofloc (BFT) systems ($n=18$) fed with different levels of *Artemia* (100, 200 and 300 nauplii larva⁻¹) ($n=12$).

	System (ST)		Supply level of <i>Artemia</i> (N)		
	CW	BFT	100	200	300
SGR (% day ⁻¹)	20.79 $\pm$ 1.8b	24.25 $\pm$ 1.58a	20.46 $\pm$ 1.0c	22.89 $\pm$ 0.63b	24.05 $\pm$ 0.68a
TL (mm)	11.86 $\pm$ 0.87b	13.97 $\pm$ 0.80a	11.99 $\pm$ 0.59b	13.13 $\pm$ 0.34a	13.55 $\pm$ 0.56a

CF	1.10±0.13	1.13±0.12	1.02±0.13b	1.12±0.10ab	1.20±0.07a
S (%)	47.41±15.66b	77.65±13.32a	60.85±16.72	64.44±14.83	62.22±11.62

Means followed by the same letter showed no significant difference ($P < 0.05$) according to the Tukey test. SGR: specific growth rate; TL: total length; CF: condition factor; S: survival.

3.2 Experiment 2 - Stocking density and concentration of solids in the BFT system

3.2.1. Growth performance

No interaction ($P > 0.05$) between the concentrations of the total suspended solids and the density of the larvae for none of the growth performance variables (Table 5).

The concentration of the total suspended solids had no influence ($P > 0.05$) on the growth variables of the goldfish larvae (Table 6). The increase in the stocking density reduced ($P < 0.05$) the specific growth rate and the total length of the larvae (Table 6). On the other hand, the higher stock density led to higher biomass production ($P < 0.05$).

Table 5. Analysis of variance of the growth performance variables of the goldfish larvae at the end of the second experiment.

	P Values		
	Total suspended solids (TSS)	Stocking density (SD)	Interaction (TSS x SD)
SGR (% day ⁻¹)	0.3083 NS	0.0511*	0.6977 NS
TB (mg)	0.6259 NS	<0.0001*	0.4257 NS
TL (mm)	0.8404NS	0.0014*	0.8756 NS
CF	0.0997 NS	0.9156 NS	0.9208 NS
S (%)	0.5305 NS	0.7322 NS	0.3975 NS

*: $P < 0.05$; NS: not significant. SGR: specific growth rate; TB: total biomass; TL: total length; CF: condition factor; S: survival.

Table 6. Means ($\pm$ standard deviation) of the growth performance variables for goldfish larviculture carried out in biofloc (BFT) systems with different concentrations of total suspended solids (TSS) ($n=18$) and stocking densities of goldfish larvae ($n=12$).

	TSS		Stocking density		
	150 mg L ⁻¹	300 mg L ⁻¹	10	20	30
SGR (% day ⁻¹)	26.99 $\pm$ 0.94	27.30 $\pm$ 1.26	27.58 $\pm$ 0.82a	27.19 $\pm$ 1.50ab	26.66 $\pm$ 0.67b
TB (mg)	640.3 $\pm$ 0.2	678.2 $\pm$ 0.3	369.2 $\pm$ 0.1c	735.6 $\pm$ 0.1b	954.1 $\pm$ 0.1a
TL (mm)	15.31 $\pm$ 0.59	15.28 $\pm$ 0.53	15.78 $\pm$ 0.60a	15.05 $\pm$ 0.35b	15.05 $\pm$ 0.24b
CF	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.39	1.00 $\pm$ 0.08	1.00 $\pm$ 0.47	1.00 $\pm$ 0.12
S (%)	90.51 $\pm$ 7.21	88.61 $\pm$ 8.68	90.83 $\pm$ 8.62	88.00 $\pm$ 9.00	89.86 $\pm$ 5.47

Means followed by the same letter showed no significant difference ($P < 0.05$) according to the Tukey test. SGR: specific growth rate; TB: total biomass; TL: total length; CF: condition factor; S: survival.

4. Discussion

The BFT system showed a positive effect on the growth of goldfish larvae. The present study is the first to analyze the productive performance of goldfish larvae in a

BFT system. The use of BFT for fish larviculture was also shown to improve the growth of Nile tilapia (Ekasari et al., 2015) and silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Poli et al., 2015; Ekasari et al., 2016). The positive effect of BFT cultivation on larval fish growth may be due to a greater food supply (Tacon et al., 2002; Burford et al., 2004; Avnimelech, 2007), as bioflocs constituted an extra nitrogen source for the larvae in addition to the *Artemia* nauplii. The greater availability of prey in the water is important, since the larvae need to find the food to capture it (Jomori et al., 2013). The higher performance of the goldfish larvae in the BFT system indicates that the bioflocs were consumed by the larvae and optimized growth.

Survival of the goldfish larvae in the BFT system was higher when compared to clear water system. Similar results were observed for silver catfish larvae (Poli et al., 2015). The higher survival in the BFT system of the present study may be due to the greater availability of prey. However, the same effect was not observed with the increase of *Artemia* nauplii. Increasing *Artemia* nauplii also showed no effect on survival of other species (Fabregat et al., 2015; Fabregat et al., 2017). Hence, other factors may have contributed to the greater survival of goldfish larvae in BFT. Positive effects of the BFT system have been shown for performance (Crab et al., 2010; Ekasari et al., 2015), enzymatic digestive activity (Becerra-Dorame et al., 2012) and on the immune response (Xu et al., 2013) of other species. Bioflocs contain bioactive compounds such as carotenoids (Zhao et al., 2016) and probiotic bacteria (Ferreira et al., 2015; Pérez-Fuentes et al., 2016; Ahmad et al., 2017), which can improve the health and survival of animals. The additional nutritional support provided by the bioflocs must also be taken into account (Crab et al., 2010; Ekasari et al., 2014a). In addition, pathogenic bacteria are controlled by the other microorganisms in the system (Michaud et al., 2006). Further studies are needed to understand how the BFT system affects the health of the larvae.

The density of 300 *Artemia* nauplii per larvae⁻¹ resulted in the highest growth of goldfish larvae regardless of the system used. *Artemia* provides better results in goldfish larviculture when compared to other foods (Abi-Ayad and Kestemont, 1994; Kaiser et al., 2003). Nevertheless, the ideal density of live prey for goldfish larvae was previously unknown. The recommendation of 300 *Artemia* nauplii per larvae was based on the average observed for the betta (*Betta splendens*) (Fabregat et al., 2017), the trairão (*Hoplias lacerdae*) (Luz and Portella, 2002) and the silver catfish (Fabregat et al., 2015). The highest density of prey provided the best results in both cultivation systems of the present study, and better growth was shown with the larvae in the BFT system. This

indicates that lower densities of live prey can be used in BFT or weaning can be anticipated due to greater growth. In clear water systems for goldfish larviculture, the transition from live food to dry diets can only be done after 24 days (Kaiser et al., 2003). Long-term trials regarding the weaning period are necessary to test the potential of reducing the period of supply of live food in BFT system.

The increase in the concentration of total suspended solids from 150 to 300 mg L⁻¹ had no influence on the growth and survival of the goldfish larvae. There are no prior studies regarding the concentration of solids in goldfish larviculture. Concentrations of 600 to 800 mg L⁻¹ are recommended for juveniles of (*Carassius auratus gibelio*) (Qiao et al., 2018), but these concentrations are probably inadequate for larvae due to anatomical differences (Abi-Ayad and Kestemont, 1994). Low concentrations were used in the present study to prevent negative effects on survival. Hence, the variation in the concentrations of the solids may have been insufficient to influence growth. However, it is noteworthy that the average concentration of 250 mg L⁻¹ in the first experiment was sufficient to show changes in performance when compared to the clear water system. Nevertheless, future studies may reveal that a higher concentration of bioflocs provides better growth performance of the goldfish larvae.

The increased density of the goldfish larvae in the BFT system impaired growth. The increase from 10 to 20 larvae L⁻¹ was sufficient to reduce the length of the larvae. It is noteworthy that comparisons of stocking densities between different studies are difficult due to variations in fish species and the type of culture system. Other authors have tested higher densities (50 to 600 larvae L⁻¹) of crucian carp (*Carassius carassius*) larviculture in a clear water system and also found that the increase in density impaired growth (Żarski et al., 2011). A negative correlation between density and growth was shown in the production of goldfish in cages (Feldlitz and Milstein, 2000). The decrease in growth in the higher densities may be associated with aggression during feeding (Holm et al., 1990; Kestemont et al., 2003). Survival was unaffected by the increased density. Hence, the number of animals and the total biomass was higher despite lower growth when compared to the clear water system. Therefore, the larviculture carried out with a high density but at the expense of growth is a strategy that can be adopted at the discretion of the producer.

Cultivation in the BFT system resulted in a significant increase in goldfish larvae survival. This result is unprecedented and shows the technical feasibility of the system, with implications for the goldfish production chain. It is worth noting that there were

differences in larval survival between the two experiments, the causes of which remain unclear. Since the density of solids was similar between the two experiments, other factors such as variations in the quality of the bioflocs and in the management may have influenced the results. Small changes in the strict management of fish larviculture can affect the results. More detailed biochemical analyses of the composition of the bioflocs may clarify this issue.

5. Conclusions

The larviculture of goldfish in a BFT system was shown to improve the growth and survival of larvae. The higher supply of *Artemia* nauplii (300 nauplii larvae⁻¹) led to the best growth of goldfish larvae in both cultivation systems. Concentrations of total suspended solids up to 300 mg L⁻¹ have no negative effects on the growth performance of the larvae and thus, can be used in the goldfish larviculture. Best growth results in the biofloc system are obtained with 10 larvae L⁻¹. The increase in stocking density reduced the growth of the animals but resulted in more biomass.

Declarations of interest

None.

References

- Abi-Ayad, A., Kestemont, P., 1994. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. *Aquaculture* 128, 163–176. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90111-2).
- Ahmad, I., Rani, A.B., Verma, A.K., Maqsood, M., 2017. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquac. Int.* 25, 1215–1226. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0108-8>.
- Au, D.W.T., Pollino, C.A., Wu, R.S.S., Shin, P.K.S., Lau, S.T.F., Tang, J.Y.M., 2004. Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper *Epinephelus coioides*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 266, 255–264. <https://doi.org/10.3354/meps266255>.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X).

- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>.
- Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>.
- Becerra-Dorame, M.J., Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L.R., Rivas-Vega, M.E., Lopez-Elias, J.A., Porchas-Cornejo, M.A., 2012. Production response and digestive enzymatic activity of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in microbial heterotrophic and autotrophic-based systems. *Sci. World J.* 2012 <https://doi.org/10.1100/2012/723654>.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 2012. Pond aquaculture water quality management. Springer Science & Business Media.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00541-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00541-6).
- Carvalho, A.P., Escaffre, A.M., Teles, A.O., Bergot, P., 1997. First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. *Aquac. Int.* 5, 361–367. <https://doi.org/10.1023/A:1018368208323>.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquac. Res.* 41, 559–567. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x>.
- Da Cunha, L., Besen, K.P., Ha, N., Uczay, J., Skoronski, E., Fabregat, T.E.H.P., 2020. Biofloc technology (BFT) improves skin pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 522, 735132. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735132>.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>.

- Demir, O., Sarigöz, S., 2016. Development of a feeding program for early larval stage of goldfish (*Carassius auratus*). Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 16, 321–326. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_2_12.
- Ehrlich, K.F., Cantin, M.C., Rust, M.B., Grant, B., 1989. Growth and survival of larval and postlarval smallmouth bass fed a commercially prepared dry feed and/or *Artemia* nauplii. J. World Aquacult. Soc. 20, 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1989.tb00516.x>.
- Ekasari, J., Maryam, S., 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. cultured at different stocking densities. Hayati J. 19, 73–80. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>.
- Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., De Schryver, P., 2014a. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. Aquaculture 426, 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>.
- Ekasari, J., Azhar, M.H., Surawidjaja, E.H., Nuryati, S., De Schryver, P., Bossier, P., 2014b. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. Fish Shellfish Immunol. 41, 332–339. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.004>.
- Ekasari, J., Rivandi, D.R., Firdausi, A.P., Surawidjaja, E.H., Zairin Jr., M., Bossier, P., De Schryver, P., 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture 441, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>.
- Ekasari, J., Suprayudi, M.A., Wiyoto, W., Hazanah, R.F., Lenggara, G.S., Sulistiani, R., Alkahfi, M., Zairin Jr., M., 2016. Biofloc technology application in African catfish fingerling production: the effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. Aquaculture 464, 349–356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.013>.
- Fabregat, T.E.H.P., Damian, J., Fialho, N.S., Costa, D., Broggi, J.A., Pereira, R.G., Takata, R., 2015. Toxicidade aguda ao sal comum e larvicultura intensiva do jundiá *Rhamdia quelen* em água salobra. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 67, 547–554. <https://doi.org/10.1590/1678-7660>.
- Fabregat, T.E.H.P., Wosniak, B., Takata, R., Miranda Filho, K.C., Fernandes, J.B.K., Portella, M.C., 2017. Larviculture of siamese fighting fish *Betta splendens* in low

- salinity water. Bol. Inst. Pesca 43, 164–171. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n2p164>.
- Feldlitz, M., Milstein, A., 2000. Effect of density on survival and growth of cyprinid fish fry. Aquac. Int. 7, 399–411. <https://doi.org/10.1023/A:1009282805391>.
- Ferreira, G.S., Bolívar, N.C., Pereira, S.A., Guertler, C., do Nascimento Vieira, F., Mourinho, J.L.P., Seiffert, W.Q., 2015. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 448, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.006>.
- Giatsis, C., Sipkema, D., Smidt, H., Heilig, H., Benvenuti, G., Verreth, J., Verdegem, M., 2015. The impact of rearing environment on the development of gut microbiota in tilapia larvae. Sci. Rep. 5, 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep18206>.
- Gonçalves Junior, L.P., Mendonça, P.P., Pereira, S.L., Matielo, M.D., da Silva Amorim, I. R., 2014. Densidade de estocagem durante a larvicultura do kinguio. Bol. Inst. Pesca 40, 597–604.
- Hargreaves, J.A., 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquac. Eng. 34, 344–363. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.009>.
- Holm, J.C., Refstie, T., Bø, S., 1990. The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 89, 225–232.
- Jha, P., Barat, S., 2005. The effect of stocking density on growth, survival rate, and number of marketable fish produced of koi carps, *Cyprinus carpio* vr. koi in concrete tanks. J. Appl. Aquac. 17, 89–102. https://doi.org/10.1300/J028v17n03_07.
- Jomori, R.K., Luz, R.K., Takata, R., Fabregat, T.E.H.P., Portella, M.C., 2013. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. Pesqui. Agropecu. Bras. 48, 809–815. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800001>.
- Kaiser, H., Endemann, F., Paulet, T.G., 2003. A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). Aquac. Res. 34, 943–950. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00948.x>.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., M'elard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuviera, A., Kentouri, M., Baras, E., 2003. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. Aquaculture 227, 333–356. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00513-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00513-1).

- Kim, S.K., Pang, Z., Seo, H.C., Cho, Y.R., Samocha, T., Jang, I.K., 2014. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquac. Res.* 45, 362–371. <https://doi.org/10.1111/are.12319>.
- Kolkovski, S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200, 181–201. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00700-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00700-1).
- Luz, R.K., Portella, M.C., 2002. Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. *R. Bras. Zootec.* 31, 829–834. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000400004>.
- Michaud, L., Blancheton, J.P., Bruni, V., Piedrahita, R., 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquac. Eng.* 34, 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.07.005>.
- Pérez-Fuentes, J.A., Hernández-Vergara, M.P., Pérez-Rostro, C.I., Fogel, I., 2016. C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture* 452, 247–251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>.
- Poli, M.A., Schweitzer, R., de Oliveira Nuñez, A.P., 2015. The use of biofloc technology in a south American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: effect of suspended solids in the performance of larvae. *Aquac. Eng.* 66, 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2015.01.004>.
- Puello-Cruz, A.C., Velasco-Blanco, G., Martínez-Rodríguez, I.E., Felix-Ramos, E., Voltolina, D., 2010. Growth and survival of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, larvae at low salinity and with different diets. *J. World Aquacult. Soc.* 41, 823–828. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00425.x>.
- Qiao, G., Zhang, M., Li, Y., Xu, C., Xu, D.H., Zhao, Z., Zhang, J., Li, Q., 2018. Biofloc technology (BFT): an alternative aquaculture system for prevention of cyprinid herpesvirus 2 infection in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Shellfish Immunol.* 83, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.09.015>.
- Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L., Leffler, J.W., 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture* 299, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>.

- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, 22nd. American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Sinha, A., Asimi, O.A., 2007. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). *Aquac. Res.* 38, 1123–1128. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01767.x>.
- Soares, C.M., Hayashi, C., Gonçalves, G.S., Galdioli, E.M., Boscolo, W.R., 2000. Plâncton, *Artemia* sp, dieta artificial e suas combinações no desenvolvimento e sobrevivência do quinguio (*Carassius auratus*) durante a larvicultura. *Acta Sci. Biol. Sci.* 22, 383–388. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsoci.v22i0.2861>.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquac. Nutr.* 8, 121–137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x>.
- Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L., Zheng, Z., 2015. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 443, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.015>.
- Xu, W.J., Pan, L.Q., Sun, X.H., Huang, J., 2013. Effects of bioflocs on water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks. *Aquac. Res.* 44, 1093–1102. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03115.x>.
- Yanar, M., Erçen, Z., Hunt, A.Ö., Büyükçapar, H.M., 2008. The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 284, 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.050>.
- Żarski, D., Targonska, K., Krejszef, S., Kwiatkowski, M., Kupren, K., Kucharczyk, D., 2011. Influence of stocking density and type of feed on the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquac. Int.* 19, 1105–1117. <https://doi.org/10.1111/jwas.12292>.
- Zhao, D., Pan, L., Huang, F., Wang, C., Xu, W., 2016. Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. *J. World Aquacult. Soc.* 47, 566–576. <https://doi.org/10.1111/jwas.12292>.

CAPITULO 3 - Efeito do cultivo em sistema BFT e do manejo alimentar sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal de larvas de kinguio

Kayane Pereira Besen^a, Larissa da Cunha^a, Nandara Soares de Oliveira^a, Luiz Augusto Cipriani^a, Mariana Bender^a, Rafaela Gomes^a, Everton Skoronski^a, Thiago El Hadi Perez Fabregat^{a,*}

***Corresponding author at:** Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Avenida Luiz de Camões, 2090, CEP 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brazil. thiagofabregat@hotmail.com

^aUniversidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Avenida Luiz de Camões 2090, CEP 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brazil. kakabesen@hotmail.com; laridacunha@gmail.com; nandara.soares@hotmail.com; ciprianiaugustoluiz@gmail.com; bendermari97@hotmail.com; rafaelagomes99@hotmail.com; everton.skoronski@udesc.br; thiagofabregat@hotmail.com*

Resumo

Este estudo avaliou o efeito do sistema de tecnologia bioflocos (BFT) e de diferentes manejos alimentares sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal de larvas de kinguios (*Carassius auratus*). Foram testados dois sistemas de produção (água clara e bioflocos) e três manejos alimentares (ração, *Artemia* e combinação de *Artemia* e ração) na larvicultura de kinguios durante 15 dias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3 com quatro repetições por tratamento. Larvas no início da alimentação exógena (peso inicial $0,60 \pm 0,01\text{mg}$) na densidade de 10 larvas L^{-1} foram distribuídas aleatoriamente em recipientes cilíndricos de fundo cônico com volume útil de 1 L^{-1} . No final do experimento, o desempenho foi avaliado. Também foram coletadas amostras para análises de histomorfometria intestinal. Foi observada mortalidade total nos tratamentos que receberam somente ração e esses tratamentos foram excluídos da análise estatística. Houve efeito da interação para o peso final e taxa de crescimento específico (TCE), que foram maiores no sistema de água clara em relação ao sistema BFT. O manejo alimentar apresentou efeito no sistema de água clara, onde a combinação de *Artemia* e ração

proporcionou os melhores resultados para o comprimento total, peso final e TCE. Nos demais parâmetros de desempenho não houve interação e os fatores foram comparados de forma independente. O sistema de água clara e o manejo alimentar combinado de *Artemia* e ração aumentaram o comprimento total. A sobrevivência foi maior no sistema BFT em relação ao sistema de água clara. Não houve interação entre o sistema e o manejo alimentar para as variáveis histomorfométricas e não foi observada diferença na altura, largura e espessura das vilosidades intestinais. Houve um aumento do número de células caliciformes nas vilosidades do intestino anterior das larvas produzidas em sistema BFT em comparação com o sistema de água clara. O cultivo em sistema BFT melhora a sobrevivência e a saúde intestinal de larvas de kinguios. Trata-se de um sistema com potencial para a larvicultura desta espécie, mas atenção deve ser tomada em relação a qualidade da água. Concentrações elevadas de amônia na água levaram a uma diminuição no crescimento de larvas de kinguios cultivadas em sistema BFT. A combinação do alimento vivo com alimento inerte proporcionou melhor desempenho na larvicultura de kinguios no sistema água clara. No sistema BFT a suplementação com ração aparentemente não é necessária.

Palavras-chave: Bioflocos. Desempenho zootécnico. Larvicultura. Nutrição. Histomorfometria intestinal

1. Introdução

A piscicultura ornamental é uma indústria em constante crescimento (Ladisa et al., 2017; Satam et al., 2018). Estima-se que em 2015, o comércio global legal de peixes ornamentais gerou cerca de US\$ 15 bilhões anuais e envolveu a comercialização de 500 milhões de peixes (Goswami; Zade, 2015). Trata-se de um ramo da aquicultura que contribui significativamente com a economia mundial (Goswami; Zade, 2015; Satam et al., 2018), sendo uma alternativa para pequenos produtores. Diversas espécies são cultivadas comercialmente, com destaque para o kingiuo (*Carassius auratus*) (Dey, 2016), que ocupa lugar de destaque no comércio em função de sua beleza, facilidade de adaptação as condições de cultivo e elevada prolificidade.

Os kinguios são peixes onívoros que se alimentam principalmente de microalgas, zooplâncton, organismos bentônicos e detritos orgânicos (Castro et al., 2016). Esta espécie se adapta a diferentes sistemas de produção e atualmente seu cultivo está sendo avaliado em sistema de bioflocos (BFT) (Da Cunha et al., 2020; Besen et al., 2021). A tecnologia BFT consiste em um sistema intensivo de produção em um meio altamente

oxigenado e com baixa troca de água. O princípio básico desse cultivo é reciclar os compostos nitrogenados mantendo uma alta relação C:N na água (Avnimelech, 2007; Azim; Little, 2008) para estimular o crescimento bacteriano predominantemente heterotrófico (Avnimelech, 2007). Essa biota tem a capacidade de converter amônia em biomassa microbiana útil para os animais aquáticos (Avnimelech, 1999; De Schryver et al., 2008; Ekasari et al., 2015).

A larvicultura do kinguio em sistema BFT já foi avaliada com efeitos positivos sobre o desempenho e sobrevivência dos animais (Besen et al., 2021), entretanto, ainda não foi elucidada de que forma ocorreu está melhora. Os resultados positivos podem estar associados a melhora na saúde intestinal dos animais. A comunidade microbiana presente nos bioflocos tem potencial para atuar como probióticos (Ferreira et al., 2015), inibindo a proliferação de patógenos (Crab et al., 2010), aumentando o valor nutricional dos alimentos devido a sua contribuição enzimática para a digestão (Balcazar et al., 2006) e afetando de forma positiva o epitélio intestinal (Mirzakhani et al., 2019). A avaliação da histomorfometria intestinal ainda é inédita na produção de larvas de kinguios em BFT e pode ajudar a esclarecer está questão.

Uma das etapas mais críticas da produção de peixes ornamentais é o período de larvicultura. Nessa fase inicial de criação tem-se uma alta taxa de mortalidade causada por manejo e nutrição inadequadas (Soares et al., 2000; De Azevedo et al., 2016; Demir; Sarigöz, 2016). O uso de alimentos inertes na larvicultura de peixes ornamentais, em geral, acarreta em baixo crescimento e sobrevivência (Abi-ayad; Kestemont 1994; Kaiser et al., 2003; Demir; Sarigöz, 2016). Protocolos de alimentação de larvas de kinguios envolvendo *Artemia* e ração em sistemas de água clara já foram definidos com sucesso (Abi-ayad; Kestemont 1994; Demir; Sarigöz, 2016). O manejo alimentar de larvas de kinguio em sistema BFT ainda precisa ser avaliado. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do sistema BFT e do manejo alimentar sobre o desempenho produtivo e a saúde intestinal de larvas de kinguios.

2. Material e métodos

O presente estudo foi realizado no Setor de Piscicultura do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), campus Lages. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da universidade sob o protocolo número 3339060919. Foram testados dois sistemas de produção (água clara e bioflocos) em combinação com três manejos alimentares (ração,

Artemia, e combinação de *Artemia* e ração) na larvicultura de kinguios. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3 com quatro repetições por tratamento e duração de 15 dias.

2.1 Animais e instalações

As larvas foram obtidas de reprodutores do laboratório. Após eclosão, larvas no início da alimentação exógena (peso inicial $0,60 \pm 0,01\text{mg}$) na densidade de 10 larvas L^{-1} foram distribuídas aleatoriamente em recipientes cilíndricos de fundo cônico com volume útil de 1 L. No fundo de cada recipiente foram colocadas pedras porosas acopladas em mangueiras de silicone de 4 mm de onde foi injetada a aeração proveniente de compressor radial. As unidades experimentais foram mantidas em banho-maria aquecido com termostato ($\pm 25^\circ\text{C}$) em ambiente climatizado e iluminação artificial (fotoperíodo controlado - 12h claro e 12h escuro).

A água de cultivo utilizada nas unidades experimentais do sistema água clara era proveniente de poço artesiano e mantida em um reservatório aquecida por meio de aquecedor com termostato ($\pm 25^\circ\text{C}$). A água de cultivo utilizada nas unidades experimentais do sistema BFT era proveniente de um macrocosmo produzido previamente ao período experimental. O macrocosmo consistia de um tanque de 500 L com a produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), que recebiam ração comercial com 40% de proteína bruta (PB). A quantidade de ração fornecida era de 10% do peso vivo por dia. A relação C:N utilizada no macrocosmo de tilápia foi de 20:1 (Pérez-Fuentes et al., 2016). O sistema era fertilizado três vezes na semana com melaço (38% C) (Schryver et al., 2008). A oxigenação da água era proveniente de um compressor de ar. O sistema foi montado de forma que o ar era injetado debaixo para cima, para possibilitar um maior revolvimento da água mantendo os bioflocos em suspensão.

Nos dois sistemas, a água foi ligeiramente salinizada para melhorar o equilíbrio osmótico dos animais ($\pm 4 \text{ g L}^{-1}$). Diariamente, foi renovado 70% da água de cultivo de ambos os sistemas, afim de retirar os resíduos alimentares e fezes. Os parâmetros de qualidade da água como temperatura (medida por termômetro digital), oxigênio dissolvido (medidor de oxigênio dissolvido modelo AZ8403), pH (Hanna HI98130) e salinidade (sonda multiparâmetro YSI Professional Plus) das unidades experimentais foram monitorados três vezes na semana pela manhã para verificação da estabilização dos mesmos dentro das margens recomendadas para produção de peixes (Boyd; Tucker, 2012).

Foram coletadas amostras de água (75 ml) duas vezes na semana para análises de amônia, nitrito e nitrato realizadas no Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos (LABTRAT) do CAV/UDESC. Os sólidos suspensos totais (SST) foram monitorados uma vez por semana nos tratamentos com BFT. Entretanto, esta análise foi realizada apenas na segunda semana de experimento. As amostras de SST referente a primeira semana foram perdidas. Todas as análises seguiram as diretrizes descritas por Rice et al. (2012). Os parâmetros de qualidade da água do experimento estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n=3$) dos parâmetros de qualidade da água do sistema água clara (AC) e bioflocos (BFT) ao longo do experimento.

	AC		BFT	
	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e ração	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e ração
T (°C)				
Semana 1	25,8 $\pm$ 0,42	26,6 $\pm$ 0,65	26,4 $\pm$ 0,38	25,7 $\pm$ 0,53
Semana 2	26,5 $\pm$ 0,38	26,4 $\pm$ 0,50	25,8 $\pm$ 0,56	26,6 $\pm$ 0,41
OD (mg L ⁻¹)				
Semana 1	7,77 $\pm$ 0,25	7,80 $\pm$ 0,32	7,35 $\pm$ 0,40	7,31 $\pm$ 0,38
Semana 2	7,55 $\pm$ 0,38	7,65 $\pm$ 0,42	7,22 $\pm$ 0,25	7,29 $\pm$ 0,33
pH				
Semana 1	8,57 $\pm$ 0,06	8,66 $\pm$ 0,03	8,61 $\pm$ 0,04	8,52 $\pm$ 0,05
Semana 2	8,49 $\pm$ 0,07	8,58 $\pm$ 0,03	8,61 $\pm$ 0,06	8,50 $\pm$ 0,04
S (g L ⁻¹)				
Semana 1	4,10 $\pm$ 0,55	4,25 $\pm$ 0,32	4,12 $\pm$ 0,42	4,20 $\pm$ 0,40
Semana 2	4,33 $\pm$ 0,33	4,08 $\pm$ 0,50	4,40 $\pm$ 0,38	4,16 $\pm$ 0,40
NAT (mg L ⁻¹)				
Semana 1	<0,25	<0,25	1,12 $\pm$ 0,25	1,25 $\pm$ 0,28
Semana 2	<0,25	<0,25	0,75 $\pm$ 0,28	0,87 $\pm$ 0,25
NO ₂ (mg L ⁻¹)				
Semana 1	<0,25	<0,25	0,62 $\pm$ 0,25	0,75 $\pm$ 0,28
Semana 2	<0,25	<0,25	0,62 $\pm$ 0,25	0,87 $\pm$ 0,25
NO ₃ (mg L ⁻¹)				
Semana 1	<0,25	<0,25	<0,500	<0,500
Semana 2	<0,25	<0,25	144,67 $\pm$ 1,66	150,04 $\pm$ 1,05
SST				
Semana 1	-	-	-	-
Semana 2	-	-	156,75 $\pm$ 20,46	160,50 $\pm$ 31,19

T: temperatura; OD: oxigênio dissolvido; pH: potencial Hidrogeniônico; S: salinidade; NAT: nitrogênio amoniacal; NO₂: nitrito; NO₃: nitrato; SST: sólidos suspensos totais.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

2.2 Manejo alimentar

O manejo alimentar consistia em três tratamentos, sendo: ração, *Artemia* e uma combinação de *Artemia* e ração. O manejo alimentar foi realizado duas vezes ao dia (07:00 e 17:30h).

Os náuplios de *Artemia* foram ofertados de forma manual na concentração de 300 náuplios larva⁻¹, nível que apresentou o melhor resultado em experimento anterior (Besen et al., 2021). A densidade de *Artemia* ofertada foi aumentada na mesma proporção, a cada cinco dias, para acompanhar o crescimento das larvas. Para a obtenção dos náuplios de *Artemia* os cistos foram incubados diariamente em recipientes cônicos, com capacidade para 2 litros, dotados de aeração constante, água salinizada a 30‰ e mantidas sob uma lâmpada de 60 W. Após 48 horas, a aeração era desligada para a separação dos cistos não eclodidos dos náuplios de *Artemia*, para então ser realizada a filtração em rede com 160µm. O controle dos níveis de náuplios de *Artemia* ofertados por larva, foi realizado estimando-se o número de cistos eclodidos por litro de solução salina.

Nos tratamentos que foi utilizado ração como complemento alimentar as larvas foram arraçoadas com uma dieta farelada (40,64% PB) formulada a base de farelo de soja, farelo de trigo, milho, farinha de peixe e arginina (Tabela 2). A porcentagem de PB foi determinada de acordo com Coutinho et al. (2006). A composição de aminoácidos da dieta experimental foi comparada com os requisitos de aminoácidos para o kinguio (Gatlin, 1987). O fornecimento de ração era feito antes da alimentação com *Artemia*. A média de ração ofertada no final do período experimental nos tratamentos AC *Artemia* e ração foi de 0,24±0,02 g e no BFT *Artemia* e ração foi de 0,24±0,01 g.

Tabela 2 - Composição da dieta experimental

Ingredientes (%)	
Farelo de Soja	7,0
Farelo de Trigo	12,0
Farinha de Milho	7,7
Farinha de Peixe	65,0
Óleo de soja	6,5
Premix vitamínico e mineral *	1,0
Arginina	0,8
Total	100
Composição Centesimal	
MS (%)	92,37
PB (%)	40,64
PD (%)	35,76
EB (Kcal kg ⁻¹)	4241,33

ED (Kcal kg ⁻¹)	3625,91
EE (%)	12,07
FB (%)	0,75
MM (%)	17,99
ENN (%)	22,41
Ca (%)	3,31
P Total (%)	2,50
P disponível (%)	1,73

*Ácido fólico – 2.400mg, ácido nicotínico – 48g, ácido pantotênico – 24g, biotina – 96mg, vit. A – 2.400.000UI, vit. D3 – 400.000UI, vit. E – 24.000UI, vit. B1 – 9.600mg, vit. B2 – 9.600mg, vit. B6 – 9.600mg, vit. B12 – 9.600mg, vit K3 – 4.800mg, vit. C – 96g, ferro – 100g, manganês – 40g, zinco – 6.000mg, cobalto – 20mg, iodo – 200mg, selênio – 200mg. Antioxidante – 19,6g.

MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; PD: Proteína digestível; EB: Energia bruta; ED: Energia digestível; EE: Extrato Etéreo; FB: Fibra bruta; MM: Matéria Mineral; ENN: Extrativos não nitrogenados; Ca: Cálcio; P: Fósforo.

Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

Tabela 3 – Composição de aminoácidos na dieta experimental

Aminoácidos (%)	Dieta Experimental	Exigência*
Arginina	2,88	2,72
Histidina	1,17	1,04
Isoleucina	2,62	1,59
Leucina	3,74	2,99
Lisina	3,82	3,43
Metionina	1,25	1,23
Fenilalanina	2,02	1,64
Treonina	1,96	1,84
Valina	2,75	1,79

*Requisitos de aminoácidos para o kinguio (Gatlin, 1987).

2.3 Desempenho zootécnico

As biometrias foram realizadas no início e no final do ensaio experimental. As larvas sobreviventes foram anestesiadas e eutanasiadas em eugenol (50 mg L⁻¹) (Bittencourt et al., 2012). As medições para as análises de desempenho zootécnico das larvas foram feitas logo após a eutanásia. O peso foi aferido em balança analítica de precisão e o comprimento total das larvas foi medido com um paquímetro digital. Foi avaliado o peso final (mg), comprimento total (mm), taxa de crescimento específico (TCE = $[(\ln.\text{peso final} - \ln.\text{peso inicial}) / n^{\circ} \text{ de dias experimentais}] \times 100$), fator de condição (FC = $[\text{peso final} / \text{comprimento total}]^3 \times 100$) e sobrevivência (S = $[\text{total de animais final} / \text{total de animais inicial}] \times 100$) de cada unidade experimental.

2.4 Histomorfometria intestinal

Os tratos intestinais das larvas foram analisados histologicamente no final do período experimental ($n=4$ peixes por tratamento). Cada amostra foi fixada por 24 horas

em solução de formalina tamponada 10%, desidratadas com uma série gradual de soluções de álcool, diafanizadas em xileno, embebidas em parafina e cortadas em secções de 3 µm com auxílio de micrótomo convencional, e em seguida, coradas pelo método de histoquímica Schiff, o PAS (do inglês, Periodic Acid-Schiff). As lâminas foram observadas com um microscópio óptico OptiCam (10x) e fotografadas usando uma câmera digital (Moticam 2300, 3 MP, resolução de 3264x2448) acoplada ao microscópio. Foram selecionados por critério de integridade, 6 vilosidades do intestino anterior, por campo de captura de imagem. As seguintes variáveis foram mensuradas (µm): altura total (altura do ápice da vilosidade até o término da serosa), largura e espessura das vilosidades. Nas mesmas vilosidades intestinais, foi realizada a contagem das células caliciformes (C.C), considerando cada C.C como uma unidade. Essas medidas foram aferidas por um analisador de imagem (software ToupTek ToupView - x64 versão 2270/07/03).

2.5 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos a testes para verificação da normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (teste de Levene), sendo analisados posteriormente por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA fatorial 2x3). Quando houve diferença estatística ($P < 0,05$) as médias foram comparadas pelo teste Two-way ANOVA.

3. Resultados

3.1 Desempenho zootécnico

Foi observado mortalidade total nos tratamentos que receberam somente ração e esses tratamentos foram excluídos da análise estatística. Houve efeito da interação ($P < 0,05$) para o peso final e TCE (Tabela 4), os resultados do desdobramento estão apresentados na Tabela 5. O peso final e a TCE foram maiores ($P < 0,05$) no sistema de água clara em relação ao sistema BFT. O manejo alimentar só teve efeito ($P < 0,05$) no sistema de água clara, onde a combinação de *Artemia* e ração proporcionou os melhores ($P < 0,05$) resultados para o peso final e TCE.

Tabela 4. Análise de variância das variáveis de desempenho de larvas de kinguios ao final do ensaio experimental.

Valores de P

	Sistema (ST)	Manejo alimentar (MA)	Interação (ST x MA)
PF (mg)	0,000 *	0,001 *	0,003 *
CT (mm)	0,000 *	0,041 *	0,152 NS
TCE (% dia ⁻¹)	0,000 *	0,011 *	0,054 *
FC	0,484 NS	0,820 NS	0,697 NS
S (%)	0,002 *	0,188 NS	0,113 NS

*: $P < 0,05$; NS: não significativo. PF: Peso final; CT: Comprimento total; TCE: Taxa de crescimento específico; FC: Fator de condição; S: Sobrevivência.

Tabela 5. Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n = 8$) do desdobramento da interação de peso final e taxa de crescimento específico de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes manejos alimentares.

	PF (mg)		TCE (% dia ⁻¹)	
	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e Ração	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e Ração
AC	34,03 $\pm$ 2,41Ba	47,25 $\pm$ 0,56Aa	27,15 $\pm$ 0,45Ba	29,10 $\pm$ 0,23Aa
BFT	24,65 $\pm$ 4,61Ab	24,68 $\pm$ 1,60Ab	24,68 $\pm$ 1,60Ab	25,03 $\pm$ 0,41Ab

Letras diferentes (maiúsculas na linha e minúsculas na coluna) representam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste Two-way ANOVA. PF: Peso final; TCE: Taxa de crescimento específico.

Nos parâmetros de desempenho nos quais não houve interação ($P > 0,05$) os fatores foram comparados de forma independente (Tabela 6). O sistema de água clara e o manejo alimentar de *Artemia* e ração apresentaram melhores resultados para o comprimento total. A sobrevivência foi maior ($P < 0,05$) no sistema BFT em relação ao sistema de água clara.

Tabela 6. Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n = 8$) das variáveis de desempenho de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes tipos de manejos alimentares.

	Sistema		Manejo alimentar	
	AC	BFT	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e Ração
CT (mm)	14,91 $\pm$ 0,91A	12,81 $\pm$ 0,47B	13,43 $\pm$ 1,03B	14,18 $\pm$ 1,44A
FC	1,26 $\pm$ 0,14	1,20 $\pm$ 0,15	1,22 $\pm$ 0,15	1,24 $\pm$ 0,15
S (%)	44,75 $\pm$ 12,60B	65,71 $\pm$ 8,09A	51,10 $\pm$ 19,62	58,33 $\pm$ 10,54

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste Two-way ANOVA. CT: Comprimento total; FC: Fator de condição; S: Sobrevivência.

Toda a mortalidade das larvas foi observada na primeira semana e a sobrevivência ao longo dos primeiros sete dias está apresentada na Figura 1. Nos tratamentos em sistema BFT, a mortalidade estabilizou ($P > 0,05$) após o quinto dia de experimento. No sistema AC, a sobrevivência seguiu caindo até a posterior estabilização no sexto dia.

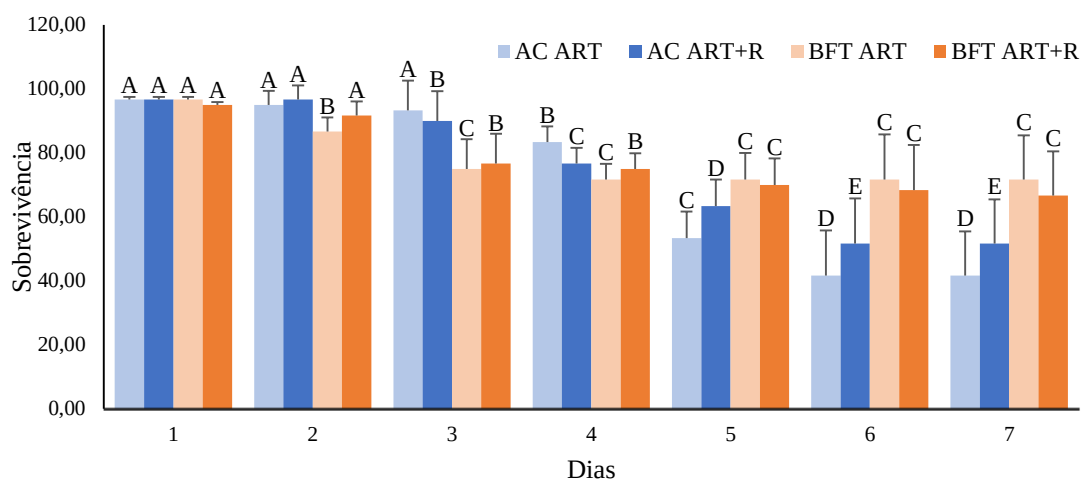


Figura 1. Sobrevivência diária de larvas de kinguios produzidas em sistema de água clara (AC) e de bioflocos (BFT) com diferentes tipos de manejos alimentares. As letras diferentes indicam diferença ($P < 0,05$) na sobrevivência entre os dias da semana de acordo com o teste Two-way ANOVA.

3.2 Histomorfometria intestinal

As vilosidades do intestino anterior das larvas dos diferentes tratamentos podem ser visualizadas na Figura 2. Não houve interação ($P > 0,05$) entre o sistema e o manejo alimentar para as variáveis histomorfométricas do intestino anterior de larvas de kinguios (Tabela 7). Portanto, esses fatores foram comparados de forma independente e não foi observada diferença na altura, largura e espessura das vilosidades (Tabela 8). Houve um aumento ($P < 0,05$) do número de células caliciformes nas vilosidades do intestino anterior (Figura 3) das larvas produzidas em sistema BFT em comparação com o sistema de água clara.

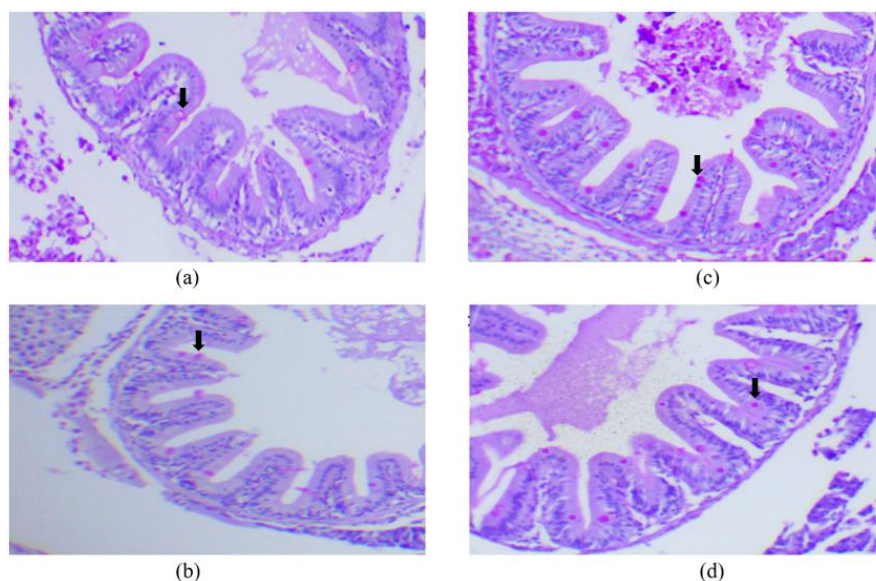


Figura 2 – Vilosidade do intestino anterior de larvas de kinguios com 15 dias de ensaio experimental: (a) sistema água clara com *Artemia*; (b) sistema água clara com *Artemia* e ração; (c) sistema BFT com *Artemia*; (d) sistema BFT *Artemia* e ração; Células caliciformes (setas). PAS, obj. 10x.

Tabela 7. Análise de variância da histomorfometria do intestino anterior de larvas de kinguios ao final do ensaio experimental.

	Valores de P		
	Sistema (ST)	Manejo alimentar (MA)	Interação (ST x MA)
T (μm)	0,166 NS	0,856 NS	0,223 NS
L (μm)	0,796 NS	0,826 NS	0,999 NS
E (μm)	0,885 NS	0,422 NS	0,737 NS
C.C (un)	0,000*	0,219 NS	0,524 NS

*: $P < 0,05$; NS: não significativo; T= Altura total; L= Largura; E= espessura; C.C: célula caliciforme.

Tabela 8. Valores médios da histomorfometria do intestino anterior ($\pm$ desvio padrão; $n = 4$) na larvicultura de kinguios, ao final do período experimental.

	Sistema		Manejo alimentar	
	AC	BFT	<i>Artemia</i>	<i>Artemia</i> e Ração
T (μm)	1,12 $\pm$ 0,04	1,24 $\pm$ 0,29	1,18 $\pm$ 0,09	1,18 $\pm$ 0,10
L (μm)	0,57 $\pm$ 0,07	0,84 $\pm$ 0,03	0,84 $\pm$ 0,04	0,57 $\pm$ 0,09
E (μm)	0,30 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,06

T= Altura total; L= Largura; E= espessura; C.C: célula caliciforme. Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste Two-way ANOVA.

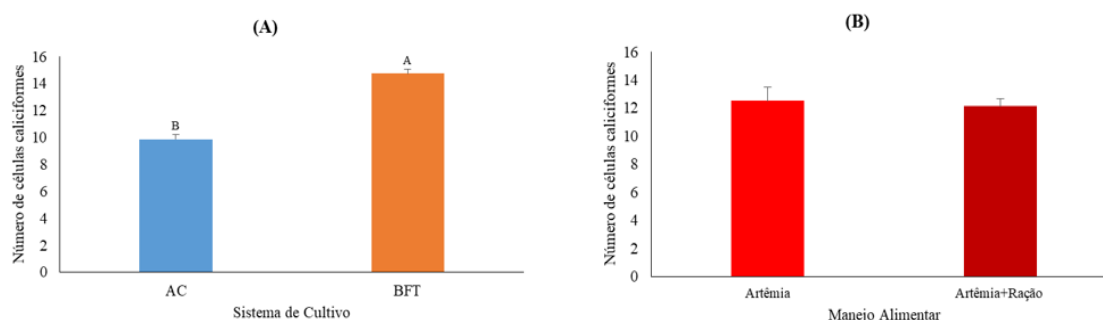


Figura 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão; $n=4$) do número de células caliciformes no intestino anterior de larvas de kinguios: (A) Sistema de cultivo e (B) Manejo Alimentar. Letras diferentes representam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste Two-way ANOVA.

4. Discussão

A sobrevivência das larvas no sistema BFT foi mais elevada do que no sistema de água clara, mesmo com a ocorrência do pico na concentração de amônia. Isto corrobora com os resultados positivos de sobrevivência observados anteriormente com larvas de kinguios em sistema BFT (Besen et al., 2021). Também mostra que mesmo em situações adversas, como o pico de amônia, o sistema BFT ainda impacta de forma positiva a sobrevivência das larvas. Os bioflocos contêm compostos bioativos como carotenoides (Zhao et al., 2016) e bactérias probióticas (Ferreira et al., 2015; Pérez-Fuentes et al., 2016; Ahmad et al., 2017), que podem melhorar a saúde dos peixes. Na avaliação da sobrevivência ao longo dos dias, a mortalidade no sistema BFT se estabilizou antes em comparação com sistema de água clara. Este resultado mostra que o sistema BFT promove o desenvolvimento de larvas de qualidade e resistentes a desafios no sistema de cultivo. Embora sujeito a variações na qualidade da água, os bons resultados de sobrevivência mostram que o sistema BFT é uma estratégia promissora que pode ser utilizada na larvicultura dos kinguios.

O cultivo em sistema BFT reduziu o crescimento das larvas de kinguios. Com a larvicultura em BFT seria esperado um melhor crescimento (Besen et al., 2021), mas pode ter havido influência da qualidade da água. Na primeira semana de experimento, houve um pico na concentração de amônia ($>1,00 \text{ mg L}^{-1}$), que associado ao pH elevado ($>8,00$) no meio de cultivo BFT pode ter acarretado no menor crescimento dos animais. Quanto mais elevado for o pH, maior será a quantidade de amônia total presente na forma tóxica (NH_3 , não ionizada) (Abakari et al., 2021). Em estudo anterior, valores de amônia total

(NAT) entre 0,26 e 0,31 mg L⁻¹ e pH próximo da neutralidade não influenciaram de forma negativa o desempenho zootécnico das larvas de kinguios (Besen et al., 2021). Mais estudos ainda são necessários para entender melhor os efeitos das variações dos parâmetros de qualidade da água do sistema BFT sobre o metabolismo de peixes nos estágios iniciais de vida.

A combinação de *Artemia* e ração proporcionou melhores resultados de desempenho zootécnico das larvas de kinguios no sistema de água clara. Outros autores já haviam demonstrado que este seria o manejo alimentar mais adequado nos sistemas tradicionais de cultivo (Kaiser et al., 2003; Demir; Sarigöz, 2016). No sistema BFT, a suplementação da ração não trouxe benefícios. Os flocos podem ter cumprido o papel da ração como alimento adicional. Segundo Besen et al. (2021), os bioflocos disponíveis no sistema BFT podem maximizar o desempenho das larvas de kinguios servindo como alimento complementar aos náuplios de *Artemia*. É possível que as larvas tenham tido dificuldade de localizar a ração na água turva do sistema BFT. Mais estudos são necessários para o desenvolvimento de estratégias para favorecer a ingestão da ração e verificar se esta foi efetivamente consumida pelas larvas em sistema BFT.

O manejo alimentar exclusivo com ração ocasionou a mortalidade das larvas de kinguios nos dois sistemas de cultivo. Outros pesquisadores relataram um menor desempenho de larvas alimentadas com dietas elaboradas (Sales; Janssens, 2003; Demir; Sarigöz, 2016) quando comparado a aquelas alimentadas exclusivamente com *Artemia* ou dieta mista (*Artemia* e ração) (Kaiser et al., 2003; Demény et al., 2012; Demir; Sarigöz, 2016). A piora do desempenho das larvas com dietas elaboradas pode ser resultado de um sistema digestório subdesenvolvido, baixa atividade enzimática e consequente digestão incompleta dos alimentos (Abi-Ayad; Kestemont, 1994; Demir; Sarigöz, 2016). No presente estudo, foi padronizada uma aeração mais intensa nos dois sistemas, uma vez que era necessária para manter os flocos em suspensão no sistema BFT. Com isto, houve um aumento na demanda energética das larvas, e o aporte de nutrientes das rações pode não ter sido suficiente para mantê-las vivas. Mesmo no sistema BFT, onde haviam os flocos disponíveis, não foi possível fazer uma alimentação exclusivamente com ração.

Não foi observado efeito do sistema de cultivo sobre o tamanho das vilosidades intestinais nas larvas de kinguios. As bactérias benéficas presentes no sistema BFT (Long et al., 2015; Najdegerami et al., 2015) poderiam ter contribuído para a histomorfometria intestinal. Resultados anteriores mostraram que o cultivo de larvas de tilápia do Nilo em sistema BFT resultou em vilosidades intestinais mais desenvolvidas (Mirzakhani et al.,

2019). A ausência de resultados positivos pode ser explicada por diferenças fisiológicas entre as espécies. Também pode ter ocorrido influência das variações na qualidade da água, impedindo a detecção de algum efeito positivo nas vilosidades intestinais. Nesse sentido, são necessárias novas pesquisas avaliando a histomorfometria intestinal em diferentes fases da larvicultura de kinguios a fim de compreender melhor os resultados obtidos no presente estudo.

As larvas de kinguios produzidas no sistema BFT apresentaram um número maior de células caliciformes no epitélio do intestino anterior em comparação com aquelas cultivadas no sistema de água clara. Este resultado é inédito para larvas de kinguio e pode explicar a maior sobrevivência observada no sistema BFT. As células caliciformes são responsáveis pela produção e secreção de muco (Knoop; Newberry., 2018). Sua função no intestino é revestir e proteger o epitélio da ação das enzimas digestivas e também criar uma barreira contra patógenos (Dawood, 2020). A adição de prebióticos, probióticos e simbióticos na dieta dos peixes estimula o desenvolvimento de células caliciformes (Nayak, 2010; Mello et al., 2013; Nakandakare et al., 2013) por alterar a comunidade microbiana intestinal em quantidade e diversidade (Hassaan et al., 2015; Huynh et al., 2017). A microbiota presente nos bioflocos pode ter proporcionado um efeito semelhante. Já se sabe que os microrganismos presentes nos bioflocos podem afetar de forma benéfica o hospedeiro, com uma melhora na saúde intestinal dos peixes (Long et al., 2015; Najdegerami et al., 2015).

Não houve diferença na histomorfometria intestinal das larvas de kinguios alimentadas exclusivamente com *Artemia* ou com a combinação *Artemia* e ração. No sistema de água clara, a suplementação com ração melhorou o crescimento, mostrando que o alimento inerte foi efetivamente ingerido. Mas não houve efeito do manejo alimentar sobre a histomorfometria intestinal. Aparentemente, a ração não contribuiu para a melhora da saúde do trato digestório das larvas. Ainda é necessário avaliar a possibilidade de suplementar as rações com microrganismos que estimulam o desenvolvimento das vilosidades intestinais e das células caliciformes (Nayak, 2010; Mello et al., 2013; Nakandakare et al., 2013). No sistema BFT, a ração não afetou o desempenho zootécnico e provavelmente não foi ingerida, o que explicaria a falta de resultado sobre a histomorfometria.

5. Conclusão

O cultivo em sistema BFT melhora a sobrevivência e a saúde intestinal de larvas de kinguios. Trata-se de um sistema com potencial para a larvicultura desta espécie, mas atenção deve ser tomada em relação a qualidade da água. Concentrações elevadas de amônia na água levaram a uma diminuição no crescimento de larvas de kinguios cultivadas em sistema BFT. Foi observada mortalidade total nos tratamentos que receberam somente ração. A combinação do alimento vivo (*Artemia*) com alimento inerte (ração) proporcionou melhor desempenho zootécnico na larvicultura de kinguios no sistema água clara. No sistema BFT, a suplementação com ração aparentemente não é necessária.

Referências

- Abakari, G., Luo, G., & Kombat, E. O., 2021. Dynamics of nitrogenous compounds and their control in biofloc technology (BFT) systems: A review. *Aquaculture and Fisheries*, 6, 441-447.
- Abi-Ayad, A., & Kestemont, P., 1994. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. *Aquaculture* 128, 163-176. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90111-2).
- Ahmad, I., Rani, A.B., Verma, A.K., Maqsood, M., 2017. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquac. Int.* 25, 1215–1226. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0108-8>.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227-235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X).
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>.
- Azim, M. E., Little, D. C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>.
- Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Múzquiz, J. L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet. Microbiol.* 114,173-186. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.009>.

- Besen, K. P., da Cunha, L., Delziovo, F. R., Melim, E. W. H., Cipriani, L. A., Gomes, R., ... & Fabregat, T. E. H. P., 2021. Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture in biofloc systems: Level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs. *Aquaculture* 540, 736738. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736738>.
- Bittencourt, F., Souza, B.E., Boscolo, W.R., Rorato, R.R., Feiden, A., & Neu, D.H. 2012. 412 Benzocaine and eugenol as anesthetics for golden fish (*Carassius auratus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64, 1597-1602. 414 <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000600028>
- Boyd, C. E., Tucker, C. S., 2012. Pond aquaculture water quality management. Springer Science & Business Media.
- Castro, M. G., Castro, M. J., De Lara, A. R., Monroy, D. M. C., Ocampo, C. J. A., & Davila, F. S., 2016. Length, weight and condition factor comparison of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) juveniles cultured in biofloc system. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 4, 345-350.
- Coutinho, P., Rema, P., Otero, A., Pereira, O., & Fábregas, J., 2006. Use of biomass of the marine microalga *Isochrysis galbana* in the nutrition of goldfish (*Carassius auratus*) larvae as source of protein and vitamins. *Aquac. Res.* 37, 793-798. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01492.x>.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., & Verstraete, W., 2010. The effect of diferente carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquac. Res.* 41, 559- 567. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x>.
- Da Cunha, L., Besen, K. P., Ha, N., Uczay, J., Skoronski, E., & Fabregat, T. E. H. P., 2020. Biofloc technology (BFT) improves skin pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 522, 735132. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735132>.
- Dawood, M. A. O., 2021. Nutritional immunity of fish intestines: important insights for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 13, 642-663. <https://doi.org/10.1111/raq.12492>.
- De Azevedo, R. V., Da Silva-Azevedo, D. K., Dos Santos-Júnior, J. M., Fosse-Filho, J. C., De Andrade, D. R., Tavares-Braga, L. G., & Vidal-Júnior, M. V., 2016. Effects of dietary mannan oligosaccharide on the growth, survival, intestinal morphometry and nonspecific immune response for Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan,

- 1910) larvae. Latin American Journal of Aquatic Research 44, 800-806. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-15>.
- De Schryver, P., Crab, R., & Detroit, T. B. N., Verstrate, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture 277, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>.
- Demény, F., Trenovszki, M. M., Sokoray-Varga, S., Béla, U. R. B. Á., ŽARSKÍ, D., Bernadett, Á. C., & MĪLJANOVI, B., 2012. Relative efficiencies of *Artemia nauplii*, dry food and mixed food diets in intensive rearing of larval crucian carp (*Carassius carassius* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12, 3. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v12_3_18.
- Demir, O., & Sarigöz, S., 2016. Development of a feeding program for early larval stage of goldfish (*Carassius auratus*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 16, 321-326. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_2_12.
- Dey, V.K., 2016. The global trade in ornamental fish. Infofish International 4, 23-29.
- Ekasari, J., Rivandi, D. R., Firdausi, A. P., Surawidjaja, E. H., Zairin Jr, M., Bossier, P., & De Schryver, P., 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture 441, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>.
- Ferreira, G. S., Bolivar, N. C., Pereira, S. A., Guertler, C., Do Nascimento, F. V., Mouriño, J. L. P., & Seiffert, W. Q., 2015. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 448, 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.006>.
- Goswami, C., Zade, V. S., 2015. Analysis of international trade and economical & commercial scope of ornamental fishes. Intern. J. Eng. Appl. Sci. 2, 257929.
- Hassaan, M. S., Soltan, M. A., Abdel-Moez, A. M., 2015. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Anim. Feed Sci. Technol. 201, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.01.007>.
- Huynh, T. G., Shiu, Y. L., Nguyen, T. P., Truong, Q. P., Chen, J. C., Liu, C. H., 2017. Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: a review. Fish Shellfish Immunol. 64, 367-382. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.035>.

- Kaiser, H., Endemann, F., & Paulet, T. G., 2003. A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Aquac. Res.* 34, 943-950. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00948.x>.
- Knoop, K. A.; Newberry, R. D., 2018. Goblet cells: multifaceted players in immunity at mucosal surfaces. *Mucosal immunology.* 11, 1551-1557. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0039-y>
- Kubitza, F. 1999. Qualidade da água na produção de peixes. 3th ed. Jundiaí: Degaspari. 97p.
- Ladisa, C., Bruni, M., Lovatelli, A., 2017. Overview of ornamental species aquaculture. *FAO Aquaculture Newsletter, Rome*, 56, 39-40.
- Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., & Wu, F., 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 448, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.017>.
- Mello, H., Moraes, J. R. E., Niza, I. G., Moraes, F. R., Ozório, R. O. A., Shimada, M. T., Engracia Filho, J. R., Claudiano, G. S., 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. *Pesq. Vet. Bras.* 33, 724-730. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600006>.
- Mirzakhani, N., Ebrahimi, E., Jalali, S. A. H., & Ekasari, J., 2019. Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C:N ratios. *Aquaculture* 512, 734235. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734235>.
- Najdegerami, E. H., Bakhshi, F., & Lakani, F. B., 2015. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish physiology and biochemistry*, 42, 457-465. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0151-9>.
- Nakandakare, I. B., Iwashita, M. K. P., Dias, D. C., Tachibana, L., Ranzani-Paiva, M. J. T., Romagosa, E., 2013. Incorporação de probióticos na dieta para juvenis de tilápias-do-Nilo: parâmetros hematológicos, imunológicos e microbiológicos. *Bol. Inst. Pesca* 39, 121-135. https://www.pesca.sp.gov.br/39_2_121-135.pdf.
- Nayak, S., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish Shellfish Immunol.* 29, 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>.

- Pérez-Fuentes, J.A., Hernández-Vergara, M.P., Pérez-Rostro, C.I., Fogel, I., 2016. C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture* 452, 247–251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.010>
- Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., Clesceri, L. S., 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd Edition, American Public Health Association, American Water Works, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Sales, J., & Janssens, G. P., 2003. Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources* 16, 533-540. <https://doi.org/10.1016/j.aquiliv.2003.06.001>.
- Satam, S. B., Sawant, N. H., Ghughuskar, M. M., Sahastrabuddhe, V. D., Naik, V. V., Pagarkar, A. U., 2018. Ornamental Fisheries: A new Avenue to Supplement Farm Income, *Advanced Agricultural Research & Technology Journal* 2, 93-197.
- Soares, C. M., Hayashi, C., Gonçalves, G. S., Galdioli, E. M., & Boscolo, W. R., 2000. Plâncton, *Artemia* sp, dieta artificial e suas combinações no desenvolvimento e sobrevivência do quinguio (*Carassius auratus*) durante a larvicultura. *Acta Sci. Biol. Sci.* 22, 383-388. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v22i0.2861>.
- Zhao, D., Pan, L., Huang, F., Wang, C., Xu, W., 2016. Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. *J. World Aquacult. Soc.* 47, 566–576. <https://doi.org/10.1111/jwas.12292>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse foi o primeiro trabalho a utilizar o cultivo BFT na larvicultura de kinguios. Os resultados mostraram que o sistema BFT é uma tecnologia promissora que tem potencial para ser implementada na larvicultura de kinguios com resultados positivos sobre o desempenho e saúde intestinal. Para viabilizar a implementação deste sistema de produção foram determinados níveis adequados de fornecimento de presas vivas, densidade de estocagem e sólidos suspensos, variáveis determinantes para garantir o sucesso da larvicultura em BFT. Também foi avaliado o manejo alimentar mais adequado.

Cabe destacar que o sistema BFT está sujeito a variações nos parâmetros de qualidade da água, e os resultados obtidos indicam que estes devem ser rigorosamente controlados para não impactar de forma negativa o desempenho das larvas. Mais estudos são necessários para entender melhor os efeitos dos parâmetros de qualidade da água sobre a larvicultura de kinguios em sistema BFT.