



## Suplementação da dieta de juvenis de tilápia criados em tanques bft (bioflocos) com dl-metionina

### Dietary supplementation of tilapia juveniles reared in bft (bioflocs) tanks with dl-methionine

Francisco Roberto dos Santos Lima<sup>1</sup> , Marcos Luiz da Silva Apoliano<sup>1</sup> , Davi de Holanda Cavalcante<sup>1</sup> , Marcelo Vinícius Carmo Sá<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará, CE, Brasil

\*Correspondente - [marcelo.sa@ufc.br](mailto:marcelo.sa@ufc.br)

#### Resumo

O presente estudo teve por objetivo determinar os efeitos da suplementação da ração balanceada de juvenis de tilápia do Nilo (peso médio inicial = 2,76 ± 0,06 g), submetidos à restrição na oferta de alimento artificial em tanques BFT de cultivo (18 juvenis/tanque 100 L), com DL-metionina, sobre a qualidade da água, composição dos bioflocos e desempenho zootécnico. Os tratamentos experimentais foram constituídos por dois grupos controle: 1 – sem restrição alimentar, sem suplementação com metionina; 2 – com restrição alimentar de 25%, sem suplementação com metionina. Os quatro tratamentos experimentais foram os seguintes: 1 – restrição alimentar de 25%, suplementação da ração com 0,5% de DL-metionina misturada à ração; 2 – restrição alimentar de 25%, suplementação da ração com 1,0% de DL-metionina misturada à ração; 3 – restrição alimentar de 25%, suplementação da ração com 2,0% de DL-metionina misturada à ração; 4 – restrição alimentar de 25%, suplementação do melaço em 1,0% de DL-metionina. A suplementação da ração balanceada com DL-metionina não afetou a qualidade da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, em tanques BFT, nem a composição centesimal do bioflocos. Após 8 semanas, o ganho em peso corporal dos peixes mantidos nos tanques com restrição alimentar e suplementação da ração com 1% ou 2% de DL-metionina não diferiu ( $P > 0,05$ ) do observado nos tanques sem restrição alimentar. Concluiu-se que é possível restringir as taxas de arraçoamento de juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT de cultivo, em 25%, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação da dieta com, pelo menos, 1% de DL-metionina.

**Palavras-chave:** Bioflocos. Aminoácido. Aquicultura. Qualidade de água.

#### Abstract

The present study aimed at determining the effects of dietary DL-methionine supplementation on the water quality, bioflocs composition and Nile tilapia juvenile's (initial body weight = 2.76 ± 0.06 g) growth performance in BFT rearing

Recebido  
12 de junho de 2020  
Aceito  
21 de dezembro de 2020.  
Publicado  
11 de maio de 2021

[www.revistas.ufg.br/vet](http://www.revistas.ufg.br/vet)  
Como citar - disponível no  
site, na página do artigo.

tanks (18 fish/100-L tank). Fish were or not subjected to artificial feed restriction. The experimental treatments consisted of two control groups: 1 – no feed restriction, no methionine supplementation; 2 – feed restriction at 25%, no methionine supplementation. There were also four treated groups: 1 - feed restriction at 25%, dietary DL-methionine supplementation at 0.5%; 2 - feed restriction at 25%, dietary DL-methionine supplementation at 1.0%; 3 – feed restriction at 25%, dietary DL-methionine supplementation at 2.0%; 4 – feed restriction at 25%, DL-methionine supplementation of molasses at 1.0. Supplementation of the commercial diet with DL-methionine has not affected either the water quality of the BFT Nile tilapia rearing tanks or the proximate composition of the bioflocs. After 8 weeks, weight gain of fish reared in tanks with feed restriction and dietary DL-methionine supplementation at 1% or 2% has not differed ( $P>0.05$ ) from the tanks without feed restriction. In conclusion, it is possible to restrict the daily feed allowances of Nile tilapia juveniles reared in BFT tanks at 25%, with no growth performance impairment, if a minimal dietary DL-methionine supplementation of 1.0% is given.

**Keywords:** Bioflocs. Amino acid. Aquaculture. Water quality.

---

## Introdução

Bioflocos são agregados em suspensão na água, constituídos por diferentes microrganismos, fezes de animais e outras partículas orgânicas. Além de promover a melhoria na qualidade de água, os bioflocos servem ainda como uma fonte alimentar para algumas espécies de peixes e camarões cultivados, tais como a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e o camarão marinho, *Litopenaeus vannamei*<sup>(1,2)</sup>. A tecnologia de bioflocos (BFT) aplicada à aquicultura visa controlar a qualidade da água de cultivo por favorecer o desenvolvimento de bactérias heterotróficas e nitrificantes, capazes de remover amônia e nitrito em tanques com troca mínima ou zero de água<sup>(1,3,4)</sup>. A tecnologia BFT é aplicada em sistemas superintensivos e fechados de cultivo, considerados vantajosos, do ponto de vista econômico, e seguros, do ponto de vista epidemiológico. Ademais, os bioflocos podem ter ação probiótica, atuando na prevenção do desenvolvimento de bactérias patogênicas e na melhoria da atividade de enzimas digestivas dos peixes e camarões<sup>(4,5)</sup>.

A ingestão dos bioflocos pode satisfazer parcialmente as exigências nutricionais do peixe e camarão e possibilitar, com isso, a redução nas despesas com rações comerciais<sup>(6)</sup>. Em estudos realizados com a tilápia e o *L. vannamei*, concluiu-se que os bioflocos permitiram diminuir a concentração de proteína das rações, sem prejuízo zootécnico<sup>(1,7,8,9)</sup>. Portanto, os aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais presentes na biomassa dos bioflocos poderiam reduzir a necessidade do uso de dietas nutricionalmente completas na aquicultura<sup>(10)</sup>.

Entretanto, como existe grande variabilidade na composição química dos bioflocos, seu valor como fonte alimentar para peixes e camarões cultivados é imprevisível. A

fonte de carbono orgânico, utilizada para ajuste da relação C: N da água e a qualidade da água de cultivo são alguns fatores que afetam a composição centesimal dos bioflocos<sup>(2,11)</sup>. Enquanto Ballester et al.<sup>(12)</sup> observaram  $\approx 30\%$  e  $5\%$  de proteínas e lipídios, respectivamente, na biomassa do bioflocos em tanques de criação de camarão, Durigon et al.<sup>(13)</sup> relataram apenas  $\approx 17\%$  e  $1\%$ , respectivamente, em tanques de criação de tilápia.

Embora possam ser importante fonte de aminoácidos essenciais, alguns estudos mostraram que os bioflocos são, geralmente, deficientes em metionina, tendo em vista as exigências da tilápia e do *L. vannamei*<sup>(11,14,15,16)</sup>. O desenvolvimento de uma estratégia alimentar que corrigisse a deficiência dos bioflocos em metionina seria de importância para a sustentabilidade econômica da atividade. O presente estudo teve por objetivo determinar os efeitos da suplementação da ração comercial com DL-metionina sobre a qualidade da água, composição dos bioflocos e desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo, submetidos à restrição na oferta de alimento artificial, em tanques BFT de cultivo.

## Material e métodos

Juvenis masculinizados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram obtidos junto a um produtor da Região Metropolitana de Fortaleza (Itaitinga, Ceará), transportados até as instalações do laboratório e transferidos para um tanque de aclimação. O estudo foi realizado no sistema de cultivo experimental *indoor*. Esse sistema possui 30 tanques circulares de polietileno de 100 L, que foram abastecidos com 70 L de água doce e 30 L de água rica em bioflocos, proveniente de um tanque de maturação *outdoor* de 1000 L. O tanque de maturação foi estocado com 30 juvenis de tilápia do Nilo, com peso médio de  $31,6 \pm 3,4$  g, os quais foram alimentados com ração comercial em pó para peixes tropicais onívoros (40% PB), quatro vezes ao dia, às 8, 11, 14 e 17 h, na taxa de 7,5% da biomassa total ao dia. As coletas de bioflocos maduros aconteceram após 21 dias. O ajuste da relação C: N da água para 15: 1 foi realizado pela aplicação de melão em pó a água, seguindo-se as recomendações de Avnimelech<sup>(17)</sup>.

A aeração mecânica dos tanques de cultivo foi realizada com uso de um compressor radial (soprador de ar), com potência nominal de 2,5 CV. Os tanques de aclimação, maturação de bioflocos e experimentais foram aerados de forma contínua, ao longo de todo o estudo. Cada tanque de cultivo era provido por um registro, para ajuste da entrada de ar, e uma mangueira microporosa (25 cm de comprimento; 2,5 cm de diâmetro), disposta linearmente no centro do tanque, para dispersão do ar na água. A água dos tanques não foi renovada durante todo o experimento, tendo-se reposto apenas a água evaporada para manutenção do nível inicial.

No início do estudo, cada tanque do sistema de cultivo foi estocado com 18 juvenis de tilápia do Nilo, com peso corporal de  $2,76 \pm 0,06$  g, correspondendo à densidade de  $49,6 \pm 1,0$  g por tanque de 100 L ( $\approx 500$  g peixe/m<sup>3</sup>). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo constituído por dois grupos-controle e quatro experimentais, cada um com cinco repetições, totalizando 30 tanques experimentais. Os peixes do grupo-controle positivo foram arraçoados regularmente, de acordo com

as taxas de alimentação “cheias” praticadas no laboratório ( $\approx 8\%$  biomassa  $\text{dia}^{-1}$ ), sendo que a ração comercial ofertada não recebeu suplementação com DL-metionina 99% (MetAMINO®, Evonik Animal Nutrition Ltda). Os peixes do grupo-controle negativo receberam apenas 75% da ração prevista pela tabela alimentar, ou seja, realizou-se uma restrição alimentar de 25%, e não se fez a adição de DL-metionina à ração.

Os peixes de três dos quatro grupos experimentais receberam 75% da ração prevista pela tabela alimentar<sup>(18)</sup>, mas a ração comercial foi suplementada com níveis crescentes de DL-metionina (0,5; 1,0 e 2,0%). Os percentuais de suplementação de DL-metionina foram aplicados sobre as quantidades diárias de ração ofertada, em cada tanque. Semanalmente, quantidades determinadas de DL-metionina (0,5%; 1,0% 2,0%) eram incorporadas à ração comercial em pó, pela mistura manual, com auxílio de bastão de vidro. Em seguida, a quantidade diária de ração com DL-metionina, individualizada para cada tanque, era pesada e envasada em sacos plásticos. A ração com DL-metionina era ofertada no local de menor movimentação de água, sendo fornecida aos poucos para evitar desperdícios para água. Em um quarto grupo experimental, os peixes receberam 75% da ração, a DL-metionina foi suplementada em 1,0%, mas a mistura da DL-metionina foi ao melaço em pó utilizado para ajuste da relação C: N da água.

Os peixes foram alimentados durante oito semanas, quatro vezes ao dia, com ração comercial em pó para peixes onívoros (Aquamix PL-0, Integral Mix, Fortaleza, Ceará), contendo os seguintes níveis de garantia: 40% de proteína, 8% extrato etéreo, 1,1% metionina e 1,4% de fósforo. A ração foi ofertada aos peixes sempre às 8, 11, 14 e 17h. Após as biometrias quinzenais, ajustava-se as quantidades de ração fornecidas aos animais. As taxas de arraçoamento empregadas variaram de 10,5% (inicial) a 5,3% (final). Diariamente, melaço em pó (Indumel, Biosev, Sertãozinho, SP) era aplicado à água dos tanques experimentais, para ajuste da relação C: N da água para 15: 1. A quantidade de melaço aplicada em cada unidade experimental foi obtida com a utilização da fórmula apresentada por Avnimelech<sup>(17)</sup>, sendo calculada em função da quantidade de ração fornecida diariamente aos animais, como segue:  $\text{nitrogênio amoniacal total (g/tanque/dia)} = \text{quantidade de ração ofertada (g/tanque/dia)} * \% \text{ N ração} * 0,5$ .

Os sólidos em suspensão na água foram removidos duas vezes por semana, pela sedimentação de 20% do volume do tanque. Esse procedimento era realizado sempre quando a quantidade de sólidos sedimentáveis superava  $30 \text{ mL L}^{-1}$ . O sobrenadante era devolvido ao tanque de cultivo e o sedimentado descartado. Bicarbonato de sódio p.a. era aplicado na água para manutenção da alcalinidade total e pH em valores iguais ou superiores a  $60 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3 \text{ eq.}$  e 7,0 unidades de pH, respectivamente.

As determinações de qualidade de água foram realizadas da seguinte forma: pH (medidor de pH mPA210 - MS TecnoPON®), temperatura, condutividade elétrica (condutímetro CD-850) e oxigênio dissolvido (oxímetro 55 - YSI), diariamente, às 9 h; alcalinidade total (titulação com solução-padrão de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), nitrogênio amoniacal total (NAT; método do indofenol), nitrito (método da sulfanilamida) e nitrato (método da coluna redutora de Cd), semanalmente; dióxido de carbono livre ( $\text{CO}_2$  livre; titulação com solução-padrão de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), dureza total (titulação com solução-padrão de EDTA), fósforo reativo (método do azul de molibdênio), ferro dissolvido (método do tiocianato) e matéria orgânica

(método do oxigênio consumido), quinzenalmente. As determinações de qualidade de água foram realizadas de acordo com metodologias descritas por Clesceri *et al.* (1998)<sup>(19)</sup>. As concentrações de sólidos suspensos totais foram determinadas semanalmente, seguindo-se as recomendações de Boyd e Tucker<sup>(20)</sup>.

As seguintes variáveis de desempenho zootécnico foram monitoradas ao longo do estudo: sobrevivência, peso corporal final, ganho em peso semanal, taxa de crescimento específico (TCE =  $[\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})]/\text{dias de cultivo} \times 100$ ), produtividade de pescado, fator de conversão alimentar (FCA = ração ofertada/ganho em peso corporal) e taxa de eficiência proteica (TEP = ganho em peso/proteína ofertada).

A composição centesimal dos bioflocos foi obtida pela realização dos procedimentos indicados pela AOAC<sup>(21)</sup>, tendo-se determinado as seguintes variáveis bromatológicas: proteína bruta (método Kjeldahl), lipídeos (método Soxhlet), cinzas (incineração em forno mufla) e umidade (secagem a 105°C/24 h).

Os resultados de qualidade de água, desempenho produtivo e composição bromatológica foram submetidos à análise de variância (ANOVA) unifatorial para experimentos inteiramente casualizados. Quando houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, as médias foram comparadas, duas a duas, pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5%. As pressuposições de distribuição normal e de homogeneidade de variância foram checadas antes aplicação da ANOVA. Aplicou-se análise de regressão polinomial sobre os resultados de peso corporal final e FCA, tendo o nível de suplementação de DL-metionina como variável independente. A suplementação ótima de DL-metionina foi estimada, para cada uma das variáveis de desempenho zootécnico, através da expressão  $x = -b/2a$ , aonde  $a$  e  $b$  são os coeficientes da equação de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SigmaPlot for Windows V.12 (Systat Software, Inc.) e Excel 2016.

## Resultados e discussão

### *Qualidade de água*

Ao final do cultivo, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para oxigênio dissolvido, pH, temperatura e alcalinidade total (AT) da água ( $p > 0,05$ ; Tabela 1). Nos tanques sem restrição alimentar, a condutividade elétrica (CE) da água foi significativamente maior do que nos tanques com restrição alimentar, com exceção dos tanques com adição de 2% de metionina, que não diferiu da primeira. Com a maior entrada de ração nos tanques suplementados com 2% de metionina, por conta do maior crescimento animal, houve incremento na mineralização da matéria orgânica. A entrada de nutrientes no meio eleva a CE da água que, por isso, pode ser utilizada como indicador físico de eutrofização<sup>(22)</sup>. Tanques BFT tendem a apresentar valores elevados de CE em virtude do acúmulo de matéria orgânica na água.

**Tabela 1.** Oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, temperatura e alcalinidade total da água, após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de DL- metionina (média ± d.p.; n = 5)

Restrição alimentar (%)	DL- metionina (%)	Oxigênio dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	pH	Condutividade elétrica (µS cm <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Alcalinidade total (mg L <sup>-1</sup> eq. CaCO <sub>3</sub> )
0	0,0	5,65 ± 0,21	7,28 ± 0,10	1643 ± 36 a	26,2 ± 0,11	141,9 ± 9,0
25	0,0	5,74 ± 0,14	7,40 ± 0,11	1528 ± 40 b	26,2 ± 0,13	150,4 ± 11,0
25	0,5	5,69 ± 0,22	7,42 ± 0,11	1530 ± 39 b	26,1 ± 0,16	151,3 ± 10,7
25	1,0	5,72 ± 0,15	7,39 ± 0,12	1568 ± 35 b	26,1 ± 0,13	152,2 ± 7,8
25	2,0	5,64 ± 0,18	7,35 ± 0,12	1581 ± 40 ab	26,1 ± 0,15	144,7 ± 8,4
25	1,0*	5,71 ± 0,12	7,37 ± 0,08	1558 ± 27 b	26,2 ± 0,15	149,4 ± 12,1
P-valor		NS	NS	<0,001	NS	NS

A DL-metionina foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melão em pó. Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). NS = Não significativo (P>0,05).

As concentrações de CO<sub>2</sub> livre e de ferro dissolvido na água dos tanques de cultivo não diferiram de modo significativo entre os tratamentos (p>0,05; Tabela 2). A dureza total (DT) da água dos tanques sem restrição alimentar foi significativamente maior que nos tanques com restrição alimentar de 25%, com exceção dos tanques suplementados com 2% de metionina, cuja DT não diferiu dos demais tratamentos. A oferta de ração e melão foi maior nos tanques nos quais se verificou maior crescimento dos peixes, o que elevou a DT. Da Costa *et al.*<sup>(23)</sup> declaram que o melão é um produto utilizado na alimentação de animais ruminantes e que recebe aditivos minerais na sua constituição, tal como o cálcio. Como a DT da água expressa as concentrações de cálcio e magnésio, a maior entrada de melão elevou a DT.

A concentração de fósforo reativo foi maior na água dos tanques sem restrição alimentar (P<0,05), excetuando-se os tanques com restrição e adição de 1,0 e 2,0% de metionina (Tabela 2). As rações comerciais para piscicultura contêm concentrações apreciáveis de fósforo (0,5 – 1,0%), em grande parte fítico. Como a entrada de ração foi maior nos tanques com suplementação de 2% de metionina, a excreção de P para água foi proporcionalmente maior, nesses tanques. Resultados semelhantes foram observados por Caldini *et al.*<sup>(18)</sup>, que atribuíram a maior concentração de fósforo reativo na água ao maior fornecimento de ração para juvenis de tilápia.

**Tabela 2.** Dureza total, concentração de CO<sub>2</sub> livre, fósforo reativo, ferro dissolvido e matéria orgânica na água, após 8 semanas de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, submetidos ou não a restrição alimentar, e suplementados com níveis crescentes de DL-metionina (média ± d.p.; n = 5)

Restrição alimentar (%)	DL-metionina (%)	Dureza total (mg L <sup>-1</sup> eq. CaCO <sub>3</sub> )	CO <sub>2</sub> livre (mg L <sup>-1</sup> )	Fósforo reativo (mg L <sup>-1</sup> )	Ferro dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	Matéria Orgânica (mg L <sup>-1</sup> )
0	0,0	331,3 ± 18,1 a	14,8 ± 2,8	4,59 ± 0,34 a <sup>2</sup>	3,19 ± 0,34	806 ± 24 a
25	0,0	287,3 ± 12,8 b	11,8 ± 2,9	3,78 ± 0,43 b	2,79 ± 0,18	743 ± 19 b
25	0,5	293,9 ± 10,6 b	11,8 ± 2,8	3,81 ± 0,21 b	2,75 ± 0,15	748 ± 14 b
25	1,0	298,3 ± 16,9 b	12,2 ± 3,0	3,94 ± 0,38 ab	2,84 ± 0,25	747 ± 28 b
25	2,0	302,8 ± 11,4 ab	13,4 ± 3,2	4,10 ± 0,40 ab	2,88 ± 0,29	762 ± 27 ab
25	1,0	288,4 ± 17,3 b	13,1 ± 3,6	3,91 ± 0,39 ab	2,79 ± 0,36	751 ± 20 b
P-valor		<0,001	NS	0,019	NS	0,002

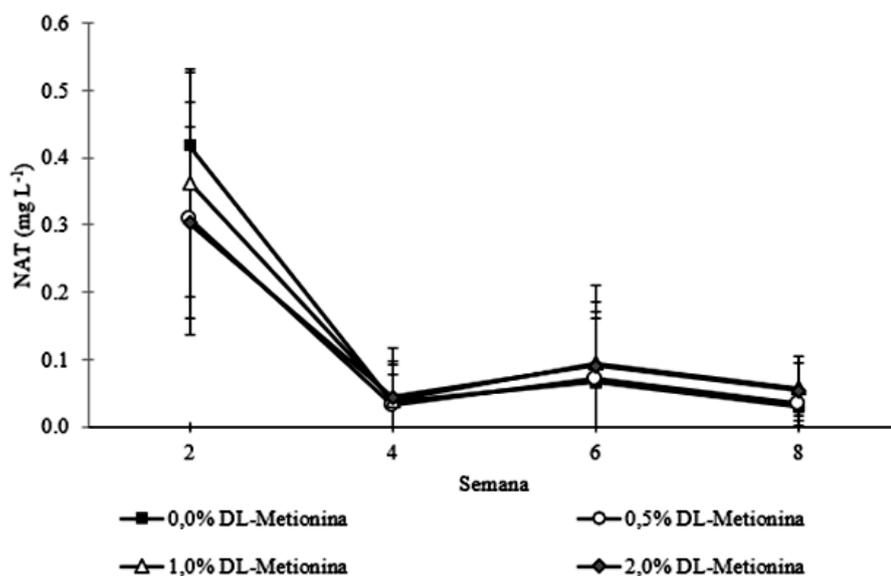
A DL-metionina foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melaço em pó. Em uma mesma coluna, médias com letras distintas são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). NS = Não significativo (P>0,05).

A concentração de matéria orgânica na água foi maior nos tanques sem restrição alimentar (p<0,05), com exceção dos tanques com restrição alimentar e adição de 2% de metionina, para os quais não houve diferença significativa (Tabela 2). Como o crescimento animal foi maior nos tanques suplementados com 2% de metionina, a entrada de ração nessas unidades também foi maior, já que a quantidade de ração ofertada era proporcional à biomassa estocada.

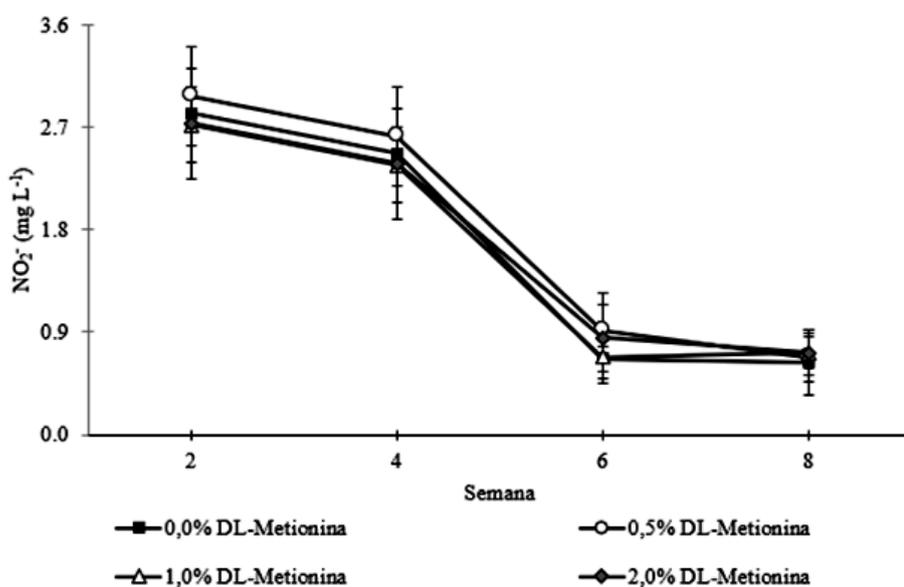
Como o coeficiente angular da regressão entre o nível de suplementação com metionina (%) e concentração de NAT (mg L<sup>-1</sup>) ficou próximo a zero, não houve efeito significativo da suplementação da dieta com DL-metionina sobre a concentração de amônia da água (Figura 1).

Esse resultado sugere que a suplementação da dieta com DL-metionina não estimulou a formação dos bioflocos, servindo apenas como nutriente aos peixes cultivados. Caso houvesse estimulado os bioflocos, era de se esperar que a suplementação com metionina reduzisse as concentrações de NAT da água, pela maior absorção bacteriana. A fonte de carbono orgânico e a relação C: N são fatores que influenciam diretamente a formação e a estrutura da comunidade microbiana dos bioflocos, tendo maior impacto na absorção de NAT da água<sup>(11,24)</sup>.

A suplementação da dieta com DL-metionina não afetou as concentrações de nitrito da água (Figura 2). Esse resultado sugere que a suplementação da dieta com DL-metionina, assim como não beneficiou o desenvolvimento dos bioflocos, também não estimulou o crescimento das bactérias nitrificantes, em particular das *Nitrobacter*. Caso houvesse estimulado, seria de esperar um efeito positivo da adição de metionina sobre a concentração de nitrito na água. Esse resultado reforça a tese de que a DL-metionina serviu apenas como nutriente ao crescimento dos peixes, não contribuindo na melhoria da qualidade da água.



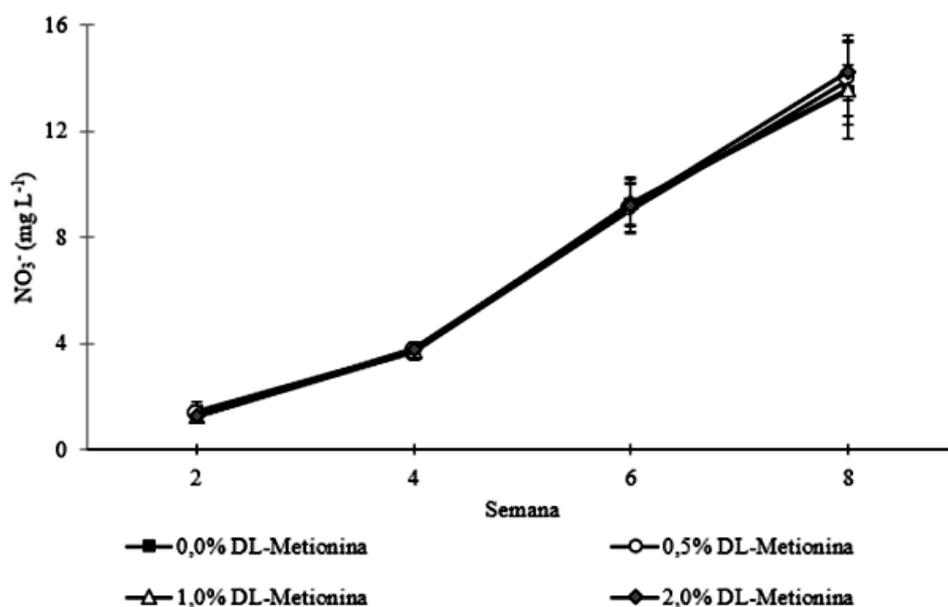
**Figura 1.** Concentração de nitrogênio amoniacal total na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em tanques BFT submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL- metionina. Em cada tempo, as diferenças existentes entre os tratamentos não são significativas ( $P > 0,05$ ).



**Figura 2.** Concentração de nitrito na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em tanques BFT submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL- metionina. Em cada tempo, as diferenças existentes entre os tratamentos não são significativas ( $P > 0,05$ ).

Em tanques BFT bem ajustados, as bactérias heterotróficas e nitrificantes coexistem no meio de cultivo<sup>(1,25)</sup>. Essas bactérias, entretanto, podem competir entre si por amônia, superfície de adesão e micronutrientes<sup>(24)</sup>. Com a adição de uma fonte de carbono orgânico de alta biodegradabilidade ao tanque, as bactérias heterotróficas se desenvolvem rapidamente, assimilando a maior parte da amônia. A depender do sistema BFT, entretanto, a nitrificação pode ter sua importância aumentada e ficar responsável por remover de 25 - 50% do NAT<sup>(26)</sup>. Os principais fatores que afetam as taxas de nitrificação em sistemas BFT são os seguintes: concentrações de O<sub>2</sub> dissolvido, amônia e nitrito; relação C: N, pH, temperatura e alcalinidade da água<sup>(27,28)</sup>.

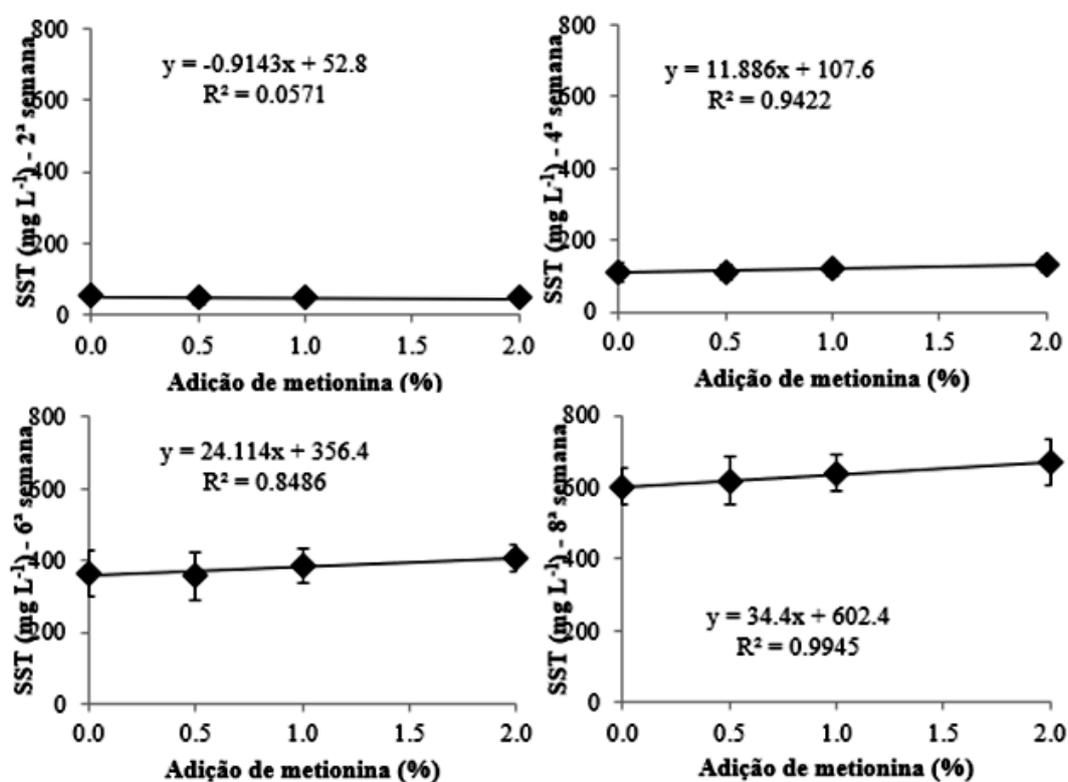
A concentração de nitrato da água aumentou em todos os tanques experimentais ao longo do cultivo. Não se observou influência da suplementação de DL-metionina sobre a concentração de nitrato da água (Figura 3).



**Figura 3.** Concentração de nitrato na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em tanques BFT submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL- metionina. Em cada tempo, as diferenças existentes entre os tratamentos não são significativas (P>0,05).

A nitrificação ocorre em condições aeróbias e com consumo de carbono inorgânico, na forma de bicarbonato<sup>(27)</sup>. O nitrato tende a se acumular em tanques de bioflocos (BFT) e de recirculação de água<sup>(29)</sup>. Em estudos realizados em tanques BFT de *L. vannamei*<sup>(7)</sup> e de tilápia do Nilo<sup>(30)</sup>, não foram observados efeitos significativos de dietas com diferentes níveis proteicos nas concentrações de NAT, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

A concentração de sólidos suspensos totais (SST) foi afetada pela suplementação com DL-metionina (Figura 4).



**Figura 4.** Concentração de sólidos suspensos totais (SST) na água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantidos por 8 semanas em tanques BFT. A ração foi suplementada com níveis crescentes de DL-metionina (n = 5).

A suplementação da dieta com DL-metionina beneficiou o ganho em peso animal (Tabela 4). Nos tanques com maior suplementação de metionina, as entradas diárias de ração e melaço foram maiores, já que foram realizadas de forma diretamente proporcional ao crescimento animal. Mais ração fornecida implicava em mais fezes animais; mais melaço, em mais bioflocos, bem como mais NAT na água. Com isso, houve significativo incremento na concentração de SST nos tanques com maior suplementação de metionina.

Para o cultivo de tilápia em tanques BFT, a concentração de SST na água não deve ser superior a 500 mg L<sup>-1</sup>(26). As concentrações de sólidos na água devem ser bem controladas para evitar a colmatação das brânquias dos animais(31). Como medida preventiva, recomenda-se a utilização de clarificadores para remoção do excesso de sólidos na água.

#### *Composição bromatológica dos bioflocos*

A composição centesimal dos bioflocos não foi afetada pela restrição alimentar, nem pela inclusão de DL-metionina na ração (Tabela 3; P>0,05). O percentual de umidade da

biomassa dos bioflocos não diferiu entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). De modo semelhante, os diferentes níveis de inclusão de DL-metionina não afetaram os teores de proteína bruta e extrato etéreo da biomassa de bioflocos. O teor de cinzas da biomassa de bioflocos também não foi influenciada pela suplementação de metionina na ração balanceada.

**Tabela 3.** Composição centesimal de bioflocos produzidos em tanques de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo submetidos ou não a restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL-metionina

Restrição alimentar (%)	DL-metionina (%)	Umidade (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
0	0,0	88,87 ± 0,84	31,49 ± 1,60	2,07 ± 0,17	10,78 ± 0,71
25	0,0	89,42 ± 0,85	31,31 ± 1,87	2,04 ± 0,24	10,33 ± 0,52
25	0,5	89,90 ± 0,88	32,43 ± 1,81	2,18 ± 0,15	10,66 ± 0,72
25	1,0	89,56 ± 0,96	31,45 ± 1,79	2,02 ± 0,10	10,72 ± 0,88
25	2,0	89,99 ± 0,70	32,33 ± 1,50	2,07 ± 0,18	10,58 ± 0,51
25	1,0*	89,79 ± 1,09	31,94 ± 1,99	2,11 ± 0,11	10,60 ± 0,63
P-valor		NS	NS	NS	NS

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Resultados de proteína bruta, extrato etéreo e cinzas expressos em porcentagem da matéria seca; NS= Não significativo ( $P > 0,05$ ).

Os resultados de proteína bruta, umidade e cinzas dos bioflocos foram semelhantes ao observados por Gallardo-Collí, Pérez-Rostro e Hernández-Vergara<sup>(32)</sup>. Esses autores encontram 36%, 86% e 11%, respectivamente, para essas mesmas variáveis. Já Durigon *et al.*<sup>(13)</sup> e Rajkumar *et al.*<sup>(33)</sup> obtiveram teores de extrato etéreo para os bioflocos de 1,2% e 0,9%, respectivamente, sendo esses valores inferiores aos observados no presente estudo. Esses resultados sugerem que a aplicação de DL-metionina ao tanque, em mistura com a ração em pó ou com o melaço, não atuou no enriquecimento nutricional dos bioflocos, ao menos quanto ao teor de proteína bruta dos bioflocos. Seria necessário, entretanto, determinar a concentração de metionina dos bioflocos para confirmar se, mesmo não tendo afetado o teor proteico (31 – 32%; MS), não teria havido aumento no teor de metionina da biomassa, a partir da suplementação realizada.

Como houve efeito positivo da suplementação de metionina sobre o crescimento dos juvenis de tilápia, nos tanques submetidos à restrição alimentar, a DL-metionina foi, provavelmente, aproveitada pelos peixes na sua nutrição. Em geral, os bioflocos são deficientes em metionina, tendo em vista a satisfação das exigências da tilápia do Nilo e do *L. vannamei*. Os bioflocos produzidos nos estudos de Wei, Liao e Wang<sup>(11)</sup> e Ekasari *et al.*<sup>(15)</sup> apresentavam-se deficientes em metionina, com concentrações inferiores a 20 µmol g<sup>-1</sup>. Uma das prováveis causas para retardo no crescimento animal, quando os indivíduos são alimentados com biomassa de bioflocos, é a deficiência de metionina<sup>(11,15,16)</sup>. Valle *et al.*<sup>(34)</sup> recomendam que a dieta do *L. vannamei* seja suplementada com metionina

quando a farinha de bioflocos for utilizada como alimento dos animais. Portanto, seria esperado uma queda no ganho em peso animal nos tanques submetidos à restrição alimentar, em relação ao grupo-controle (sem restrição). Tal não aconteceu nos tanques experimentais que receberam a mistura ração-metionina, suplementada a 1% ou 2%. Assim, a ingestão de DL-metionina pelo peixe, via ração suplementada, foi importante na manutenção de boas taxas de crescimento animal.

#### *Desempenho zootécnico*

A sobrevivência final média dos peixes foi igual a  $91,3 \pm 1,8\%$ , não havendo diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ; Tabela 4). O peso corporal final (PCf) e TCE dos peixes mantidos nos tanques sem restrição alimentar foram significativamente maiores que os respectivos valores observados nos demais tratamentos, excetuando-se nas unidades nas quais houve adição de 1,0% ou 2,0% de DL-metionina. Essas mesmas variáveis foram significativamente menores nos tanques suplementados com 1% de metionina, misturada ao melaço, em relação aos tanques sem restrição alimentar. Esses resultados sugerem que o nível ótimo de suplementação da ração artificial da tilápia com DL-metionina, em tanques BFT submetidos à restrição alimentar, é de 1% e que acima disso não haveria benefícios claros do ponto de vista zootécnico. A restrição na oferta do alimento artificial visou aumentar a ingestão do alimento natural presente nos tanques, isto é, dos bioflocos, pelos juvenis de tilápia. Com isso, uma parte significativa da nutrição dos peixes dos grupos experimentais viria da ingestão dos bioflocos. He *et al.*<sup>(35)</sup> indicaram que o nível ótimo de inclusão de L-metionina em dietas para crescimento máximo de juvenis de tilápia do Nilo é de 0,91%, com a presença de 0,83 g kg<sup>-1</sup> de cisteína na dieta. Segundo esses mesmos autores, a exigência de metionina para integridade imunológica é maior do que para crescimento máximo. Em tanques BFT, os animais são submetidos a vários fatores estressantes, tais como elevadas concentrações de nitrito e sólidos em suspensão na água. Por conta disso, as exigências da tilápia por metionina talvez sejam maiores em tanques BFT.

A administração de DL-metionina deverá ser via mistura com a ração balanceada e não com o melaço. Essa última sugestão reforça a ideia anterior de que a DL-metionina foi importante apenas para nutrição dos peixes e não para os bioflocos. Enquanto a mistura metionina-ração visava a nutrição da tilápia, a mistura metionina-melaço visava a nutrição das bactérias presentes nos bioflocos. A mistura metionina-melaço pode ter afetado a estabilidade do aminoácido, ocasionando sua perda para água por lixiviação, uma vez que o melaço em pó absorvia umidade. A DL-metionina é solúvel em água, o que limita seu uso na forma cristalina em rações aquáticas. Lixiviação de quase 20% de DL-metionina poderá ocorrer após 30 minutos de contato da ração com a água<sup>(36)</sup>. Segundo Guo *et al.*<sup>(37)</sup>, o dipeptídeo DL-metionil-DL-metionina (Met-Met) tem uma solubilidade em água extremamente baixa e melhor absorção do que outras fontes de metionina (como DL-metionina e L-metionina) disponíveis no mercado.

Houve efeito significativo da restrição alimentar e/ou do nível de suplementação com DL-metionina sobre o ganho em peso semanal (GPS) e produtividade aquícola dos tanques (Tabela 5). As maiores produtividades aquícolas foram observadas nos tanques sem restrição alimentar; com restrição e 2% de metionina suplementar, que não diferiram

de modo significativo entre si. Em seguida, tem-se a produtividade aquícola para os tanques com restrição alimentar e 1% de metionina suplementar misturada à ração. Finalmente, os menores valores de produtividade foram observados nos tanques com restrição alimentar, não suplementados ou suplementados com 0,5% e 1,0% de metionina, nesse último caso quando misturada ao melaço.

**Tabela 4.** Sobrevivência, peso corporal final (PCf) e taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápia do Nilo (peso corporal inicial de  $2,76 \pm 0,06$  g), mantidos por 8 semanas em tanques submetidos ou não à restrição alimentar, suplementados com níveis crescentes de DL-metionina (média  $\pm$  d.p.; n = 5)

Restrição alimentar (%)	DL-metionina (%)	Sobrevivência (%)	PCf (g)	TCE (% dia <sup>-1</sup> )
0	0,0	90,0 $\pm$ 6,0	20,1 $\pm$ 1,2 a	3,53 $\pm$ 0,11 a
25	0,0	90,0 $\pm$ 7,2	17,5 $\pm$ 0,4 b	3,30 $\pm$ 0,07 b
25	0,5	94,4 $\pm$ 5,5	17,3 $\pm$ 0,7 b	3,29 $\pm$ 0,10 b
25	1,0	92,2 $\pm$ 6,3	18,7 $\pm$ 1,5 ab	3,41 $\pm$ 0,15 ab
25	2,0	91,1 $\pm$ 8,4	20,0 $\pm$ 0,7 a	3,56 $\pm$ 0,08 a
25	1,0*	90,0 $\pm$ 4,6	17,9 $\pm$ 1,2 b	3,35 $\pm$ 0,13 b
P-valor		NS	<0,001	<0,001

A DL-metionina foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melaço em pó. TCE =  $[\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})]/\text{dias de cultivo} \times 100$ . Médias com letras distintas na mesma coluna são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). NS = Não significativo ( $P > 0,05$ ).

O peixe submetido à restrição alimentar foi forçado a ingerir uma maior quantidade de alimento natural (bioflocos), para atender às suas exigências nutricionais. Como não se observou diferenças produtivas entre os animais alimentados apenas com ração balanceada, em tanques sem restrição alimentar, e aqueles com restrição de 25% no fornecimento de ração seca, em tanques suplementados com 1% de DL-metionina misturada à ração, supõe-se que os bioflocos foram capazes de satisfazer parcialmente as exigências nutricionais dos juvenis de tilápia. Além disso, tornou-se evidente que o aporte de metionina teve um papel decisivo, já que os peixes alimentados com ração balanceada, sem suplementação com metionina e sob restrição alimentar, sofreram retardo significativo no crescimento corporal. Especula-se que a deficiência dos bioflocos em metionina tenha sido corrigida, indiretamente, pela suplementação da ração balanceada com DL-metionina. Caso esse resultado seja confirmado por estudos posteriores, realizados em maior escala, ter-se-ia descoberto um manejo alimentar mais econômico para tilapicultura em sistemas BFT. Tal achado contribuiria para dar maior sustentabilidade econômica a essa atividade produtiva.

Os resultados de FCA e TEP foram melhores nos tanques com restrição alimentar

e adição de 2% de DL-metionina, em relação aos outros tratamentos, com exceção dos tanques que receberam 1% de DL-metionina misturada à ração, para os quais a diferença não foi significativa (Tabela 5 e Figura 5).

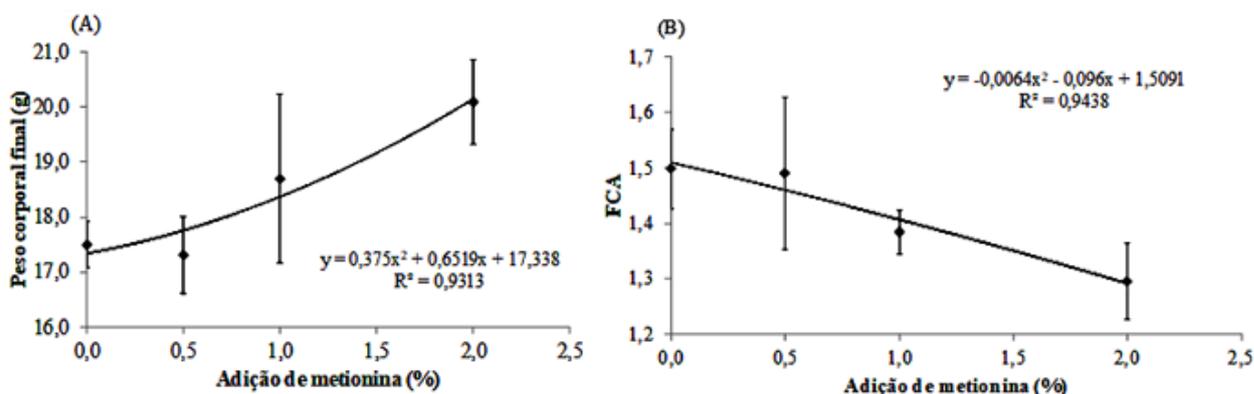
**Tabela 5.** Ganho em peso semanal (GPS), produtividade de pescado e taxa de eficiência proteica (TEP) de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em tanques submetidos ou não à restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL-metionina (média  $\pm$  d.p.; n = 5)

Restrição alimentar (%)	DL-metionina (%)	GPS (g)	Produtividade aquícola ( $\text{g m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ )	TEP
0	0,0	2,17 $\pm$ 0,15 a	58,7 $\pm$ 1,4 a	2,23 $\pm$ 0,03 c
25	0,0	1,84 $\pm$ 0,06 b	50,6 $\pm$ 3,7 c	2,61 $\pm$ 0,18 b
25	0,5	1,82 $\pm$ 0,09 b	52,5 $\pm$ 4,1 c	2,67 $\pm$ 0,22 b
25	1,0	1,99 $\pm$ 0,19 ab	55,1 $\pm$ 2,4 b	2,83 $\pm$ 0,08 ab
25	2,0	2,17 $\pm$ 0,09 a	58,7 $\pm$ 5,2 a	3,10 $\pm$ 0,25 a
25	1,0*	1,90 $\pm$ 0,16 b	51,8 $\pm$ 2,9 c	2,72 $\pm$ 0,09 b
P-valor		<0,001	0,004	<0,001

A DL-metionina foi misturada à ração em todos os tratamentos, exceto no marcado com asterisco, cuja mistura da metionina foi com o melão em pó. FCA = ração ofertada (g)/ganho em peso corporal (g). TEP = ganho em peso corporal (g)/proteína ofertada (g). Médias com letras distintas na mesma coluna são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os piores resultados de FCA e TEP foram observados nos tanques sem restrição alimentar. Esses resultados diferem de Cavalcante *et al.*<sup>(38)</sup>, que não observaram diferenças significativas para FCA e TEP em tanques BFT, com e sem restrição alimentar. Os melhores resultados de FCA e TEP, obtidos nos tanques com restrição alimentar, podem ser explicados pela maior ingestão de alimento natural (bioflocos) pelos peixes. Esses resultados reforçam a tese de que o melhor tratamento foi aquele no qual se fez a suplementação da dieta artificial com 1% de DL-metionina, quando misturada à ração. Uma questão ainda em aberto é se a mistura da DL-metionina com a ração também traria bons resultados caso se usasse grânulos alimentares de maiores dimensões. A ração em pó utilizada no presente estudo permitiu uma mistura homogênea entre a ração e a DL-metionina.

Observou-se efeito direto significativo do nível de suplementação com DL-metionina sobre o peso corporal final dos peixes cultivados (Figura 5A).



Fonte: Elaboração própria (2020).

**Figura 5.** Peso corporal final e fator de conversão alimentar (FCA) de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em tanques submetidos à restrição alimentar e suplementados com níveis crescentes de DL-metionina (média  $\pm$  d.p.; n = 5).

Além disso, a suplementação com DL-metionina apresentou relação inversa com o FCA ( $p < 0,05$ ; Figura 5B). Esses resultados também foram observados por Figueiredo-Silva *et al.*<sup>(39)</sup> em estudo com juvenis de tilápia híbrida (*O. niloticus*  $\times$  *O. mossambicus*). Esses autores relataram que o aumento na inclusão da metionina na dieta resultou em maior peso corporal final, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica. Portanto, a suplementação de DL-metionina à ração balanceada pode melhorar o desempenho produtivo da tilápia do Nilo, possibilitando economia de ração artificial em tanques BFT.

A suplementação da ração da tilápia com DL-metionina, em sistemas BFT submetidos à moderada restrição alimentar, apresenta relação custo: benefício vantajosa, como pode ser visto no exemplo a seguir: preço da ração comercial: R\$ 5,60/kg; preço da DL-metionina: R\$ 20,00/kg; biomassa estocada de peixe: 1,0 kg; peso corporal médio do juvenil: 2,0 g. Nesse caso, a taxa diária de arraçoamento dos animais seria de 11,3% da biomassa estocada. Logo, a quantidade diária de ração e o custo com alimentação seriam iguais a 113 g e R\$ 0,63/dia, respectivamente. Com a redução de 25% na oferta de ração, haveria uma economia de R\$ 0,16 ao dia. Por outro lado, a suplementação de DL-metionina, nas taxas de 1 e 2%, acarretaria acréscimos de R\$ 0,02 e R\$ 0,04 ao dia, respectivamente. Portanto, haveria diminuição de R\$ 0,14 e R\$ 0,12 ao dia, respectivamente, nos custos com a alimentação dos peixes, ao se combinar a restrição na oferta da ração comercial, com a suplementação aminoacídica.

## Conclusões

A suplementação da ração balanceada com DL-metionina não afetou a qualidade da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, em tanques BFT, nem a composição centesimal do bioflocos. É possível reduzir as taxas regulares de arraçamento de juvenis de tilápia do Nilo, mantidos em tanques BFT de cultivo, em até 25%, sem prejuízo zootécnico, desde que se faça a suplementação da dieta artificial com, pelo menos, 1% de DL-metionina.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Referências

1. De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*. 2008 Jun; 277(3-4): 125-137. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848608000896>.
2. Kumar V S, Pandey P K, Anand T, Bhuvanewari G R, Dhinakaran A, Kumar S. Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. *Journal of Environmental Management*. 2018 Jun; 215(1): 206-215. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030147971830238X>.
3. 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*. 2008 Oct; 283(1-4):29-35. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848608004699>.
4. Avnimelech Y. *Biofloc technology: A practical guide book*. Baton Rouge, Louisiana, United States, The World Aquaculture Society. 2009, 182 p.
5. Long L, Yang J, Li Y, Guan C, Wu F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2015 Nov; 448 (1): 135-141. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848615300089>
6. Kuhn D D, Boardman G D, Lawrence A L, Marsh L, Flick G J. Microbial flocs generated in bioreactors is a superior replacement ingredient for fishmeal or soybean meal in shrimp feed. *Aquaculture*. 2009 Nov; 296(1-2): 51-57. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848609006619>.
7. Xu WJ, Pan L Q, Zhao D H, Huang J. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*. 2012 Jun; 350(1): 147-153. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848612002074>.
8. da Silva M A, de Alvarenga E R, Alves G F O, Manduca L G, Turra E M, de Brito T S, de Sales S C M, da Silva Junior A F, Borges W J M, Teixeira E A. Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. *Aquaculture research*. 2018 Jun; 49(8): 2693-2703. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.13730>.
9. Green B W, Rawles S D, Schrader K K, Gaylord T G, McEntire M E. Effects of dietary protein content on hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*) performance, common microbial off-flavor compounds, and water quality dynamics in an outdoor biofloc technology production system. *Aquaculture*. 2019 Mar;

- 503(1): 571-582. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618320805>.
10. Emerenciano M, Ballester E L, Cavalli R O, Wasielesky W. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International*. 2011 Oct; 19(5): 891-901. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9408-6>.
11. Wei Y F, Liao S A, Wang A L. The effect of diferente carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*. 2016 Dec; 465(1): 88-93. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848616304410>.
12. Ballester E L C, Abreu P C, Cavalli R O, Emerenciano M, De Abreu L, Wasielesky Jr W. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*. 2010 Mar; 16(2): 163-172. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x>.
13. Durigon E G, Lazzari R, Uczay J, de Alcântara Lopes D L, Jerônimo G T, Sgnaulin T, Emerenciano M G C. Biofloc technology (BFT): Adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. *Aquaculture and Fisheries*. 2020 Ján; 5(1): 42-51. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.07.001>.
14. Bauer W, Prentice-Hernandez C, Tesser M B, Wasielesky Jr W, Poersch L H. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 2012 Apr; 342-343: 112-116. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848612001147>.
15. Ekasari J, Angela D, Waluyo S H, Bachtiar T, Surawidjaja E H, Bossier P, De Schryver P. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*. 2014 Apr; 426-427: 105-111. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023>.
16. Li J, Liu G, Li C, Deng Y, Tadda M A, Lan L, Zhu S, Liu D. Effects of different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. *Aquaculture*. 2018 Oct; 495:919-931. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>.
17. Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 1999 Jun; 176(3-4): 227-235. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X).
18. Caldini N N, Capistrano H H D A, Rocha Filho P R N, Carmo e Sá M V. Partial replacement of artificial diets by wet bioflocs biomass in Nile tilapia culture tanks. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2018 Oct; 40:1-8. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.42426>.
19. Clesceri L S, Greenberg A E, Eaton A D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20.ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1998.
20. Boyd C E, Tucker C S. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Auburn University, Opelika, USA, 1992. 183pp.
21. AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis, 17th ed, Washington, D.C.USA, 2000.
22. Harris, T.D., Graham, J.L. Predicting cyanobacterial abundance, microcystin, and geosmin in a eutrophic drinking-water reservoir using a 14-year dataset. *Lake and Reservoir Management*. 2017. 33. Disponível em: <https://pubs.er.usgs.gov/publication/70181018>
23. da Costa D A, de Souza C L, Saliba E D O S, Carneiro J D. By-products of sugar cane industry in ruminant nutrition. *Int. J. Adv. Agric. Res.* 2015 Feb; 3: 1-95. Disponível em: [http://www.bluepenjournals.org/ijaar/pdf/2015/March/da\\_Costa\\_et\\_al.pdf](http://www.bluepenjournals.org/ijaar/pdf/2015/March/da_Costa_et_al.pdf).

24. Xu W, Morris T C, Samocha T M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture*. 2016 Feb; 453:169-175. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.021>.
25. Zhang J, Chen L, Dong H, Duan Y, Li Z, Wen G, Chen J, Zhenhua Feng Z, Xu W, Xie J. Artificial substrates in zero-water-exchange culture system regulate the rearing performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) under the winter indoor condition. *Aquaculture research*. 2016 Jan; 47(1): 91-100. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.12473>.
26. Hargreaves, J.A. *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. Southern Regional Aquaculture Centre, No. 4503, 2013.
27. Ebeling J M, Timmons M B, Bisogni J J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 2006 Jun; 257(1-4): 346-358. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>.
28. Luo G, Zhang N, Cai S, Tan H, Liu Z. Nitrogen dynamics, bacterial community composition and biofloc quality in biofloc-based systems cultured *Oreochromis niloticus* with poly- $\beta$ -hydroxybutyric and polycaprolactone as external carbohydrates. *Aquaculture*. 2017 Oct; 479: 732-741. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.017>.
29. Luo G, Gao Q, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. 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*. 2014 Feb; 422-423: 1-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>.
30. Mansour A T, Esteban M A. Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*. 2017 May; 64: 202-209. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025>.
31. Ray A J, Lewis B L, Browdy C L, Leffler J W. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*. 2010 Feb; 299(1-4): 89-98. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>.
32. Gallardo-Collí A, Pérez-Rostro C I, Hernández-Vergara M P. Reuse of water from biofloc technology for intensive culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects on productive performance, organosomatic indices and body composition. *International Aquatic Research*. 2019 Feb; 11(1): 43-55. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40071-019-0218-9>.
33. Rajkumar M, Pandey P K, Aravind R, Vennila A, Bharti V, Purushothaman C S. Effect of different biofloc system on water quality, biofloc composition and growth performance in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture research*. 2016 May; 47(11): 3432-3444. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.12792>.
34. Valle B C S, Dantas Jr E M, Silva J F X, Bezerra R S, Correia E S, Peixoto S R M, Soares R B. Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*. 2015 Nov; 21(1): 105-112. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/anu.12149>.
35. He J Y, Long W Q, Han B, Tian L X, Yang H J, Zeng S L, Liu Y J. Effect of dietary l-methionine concentrations on growth performance, serum immune and antioxidative responses of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture research*. 2017 Oct; 48(2): 665-674. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.12913>.
36. Yuan Y C, Gong S Y, Yang H J, Lin Y C, Yu D H, Luo Z. Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture*. 2011 Jun; 316(1-4): 31-36. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.011>.

[aquaculture.2011.03.015](#)

37. Guo, T Y, Zhao W, He J Y, Liao S Y, Xie J J, Xie S W, Masagounder K, Liu Y J, Tian L X, Niu J. Dietary dl-methionyl-dl-methionine supplementation increased growth performance, antioxidant ability, the content of essential amino acids and improved the diversity of intestinal microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). British Journal of Nutrition. 2020 Aug; 123(1): 72-83. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114519002289>.

38. Cavalcante D D H, Lima F R D S, Rebouças V T, Carmo e Sá M V. Nile tilapia culture under feeding restriction in bioflocs and bioflocs plus periphyton tanks. Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2017 Jul/Set; 39(3): 223-228. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.33574>

39. Figueiredo-Silva, C., Lemme, A., Sangsue, D., & Kiriratnikom, S. Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*). Aquaculture Nutrition. 2015 Aug; 21(2): 234-241. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/anu.12150>.