

Influência das relações de carbono: nitrogênio sobre a qualidade de água, biomassa zooplanctônica e maturação de bioflocos

Influence of carbon: nitrogen relations on water quality, zooplanktonic biomass and biofloc maturation

Influencia de las proporciones de carbono y nitrógeno en la calidad del agua, la biomasa del zooplancton y la maduración del biofloc

Recebido: 31/05/2022 | Revisado: 17/06/2022 | Aceito: 22/06/2022 | Publicado: 03/07/2022

Guido Luis Bianchini Dalke

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3427-809X>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: guidodalke@hotmail.com

Grace Kelly Goudinho Pires

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5587-4002>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: gracegoudinho@hotmail.com

Maria do Carmo Gominho-Rosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9830-4429>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: mcgominho@hotmail.com

Nyamien Yahaut Sebastien

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1144-7903>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: nyamien@hotmail.com

Robie Allan Bombardelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5701-1881>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: rabombardelli@gmail.com

Resumo

O sistema de bioflocos (BFT) possui alta eficiência na produção de organismos aquáticos e com baixo potencial poluidor. Seu princípio é o crescimento de bactérias heterotróficas, obtido com a manutenção da relação carbono: nitrogênio (C: N) no meio, as quais irão transformar componentes indesejáveis, como a amônia e o nitrito, em compostos menos tóxicos e com algum valor proteico. A principal constituição dos bioflocos são microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de ração e de animais mortos, bactérias, rotíferos, protozoários, outros invertebrados, em complexa interação na coluna d'água. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a variação da qualidade da água, da biomassa zooplânctônica presente no BFT formado com três relações carbono: nitrogênio, bem como verificar se há diferenças no tempo de maturação entre as três relações C: N testadas. Os bioflocos foram formados utilizando açúcar refinado como fonte de carbono, foram testados três tratamentos com diferentes relações carbono: nitrogênio, de 10:1, 15:1 e 20:1. Amônia, nitrito, nitrato, ortofosfato, alcalinidade, temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram medidos em intervalos de 3 a 4 dias. Os parâmetros físicos e químicos da água não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com exceção do ortofosfato, que apresentou diferença no tratamento 20:1. A maturação do tratamento 20:1 ocorreu apenas 3 dias após a maturação dos tratamentos 10:1 e 15:1 e a densidade zooplânctônica não diferiu entre os tratamentos. É recomendado utilizar a relação carbono: nitrogênio de 10:1, visto que haverá uma economia na quantidade de carbono oferecida ao meio, e conseqüentemente, um menor custo de produção.

Palavras-chave: Compostos nitrogenados; Flocos microbianos; Zooplâncton.

Abstract

The biofloc system (biofloc technology - BFT) has high efficiency in the production of aquatic organisms and with low polluting potential. Its principle is the heterotrophic bacteria growth, obtained by maintaining the carbon: nitrogen (C: N) ratio in the medium, which will transform undesirable components, such as ammonia and nitrite, into less toxic compounds and with some protein value. This system consists of maintaining the carbon: nitrogen ratio (C: N). The main constitution of bioflocs are microalgae, feces, exoskeletons, feed and dead animal remains, bacteria, rotifers, protozoa, other invertebrates, in complex interaction in the water column. This work aimed to evaluate the variation of water quality, the zooplanktonic biomass present in the BFT formed with three carbon: nitrogen ratios, as well as to verify differences in maturation time among C: N ratios. The bioflocs were formed using refined sugar as a carbon

source, three treatments were tested with different carbon: nitrogen ratios, 10: 1, 15: 1 and 20: 1. Ammonia, nitrite, nitrate, orthophosphate, alkalinity, temperature, dissolved oxygen and pH were measured at intervals of 3 to 4 days. The physical and chemical parameters of the water showed no significant differences between treatments, with the exception of orthophosphate, which showed a difference in treatment 20: 1. The maturation of the 20: 1 treatment occurred only 3 days after the maturation of the 10: 1 and 15: 1 treatment and the zooplanktonic density did not differ among treatments. It is recommended to use the 10: 1 carbon: nitrogen ratio, since there will be an economy in the amount of carbon offered to the medium and, consequently, a lower production cost.

Keywords: Nitrogen compounds; Microbial flakes; Zooplankton.

Resumen

El sistema de bioflocs (BFT) tiene una alta eficiencia en la producción de organismos acuáticos y un bajo potencial contaminante. Su principio es el crecimiento de bacterias heterótrofas, obtenido con el mantenimiento de la relación carbono: nitrógeno (C: N) en el medio, que transformarán los componentes indeseables, como el amoníaco y el nitrito, en compuestos menos tóxicos con cierto valor proteico. La principal constitución de los bioflocs son las microalgas, las heces, los exoesqueletos, los restos de comida y de animales muertos, las bacterias, los rotíferos, los protozoos y otros invertebrados, en compleja interacción en la columna de agua. En este trabajo, el objetivo fue evaluar la variación de la calidad del agua, la biomasa de zooplancton presente en el BFT formado con tres proporciones de carbono: nitrógeno, así como verificar si existen diferencias en el tiempo de maduración entre las tres proporciones de C: N ensayadas. Los bioflocs se formaron utilizando azúcar refinado como fuente de carbono, se probaron tres tratamientos con diferentes proporciones de carbono: nitrógeno de 10:1, 15:1 y 20:1. El amoníaco, el nitrito, el nitrato, el ortofosfato, la alcalinidad, la temperatura, el oxígeno disuelto y el pH se midieron a intervalos de 3-4 días. Los parámetros físicos y químicos del agua no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, a excepción del ortofosfato, que mostró una diferencia en el tratamiento 20:1. La maduración del tratamiento 20:1 se produjo sólo 3 días después de la maduración de los tratamientos 10:1 y 15:1 y la densidad del zooplancton no difirió entre los tratamientos. Se recomienda utilizar la relación carbono: nitrógeno de 10:1, ya que habrá una economía en la cantidad de carbono ofrecida al medio ambiente, y en consecuencia, un menor coste de producción.

Palabras clave: Compuestos nitrogenados; Flóculos microbianos; Zooplancton.

1. Introdução

O sistema de cultivo conhecido como bioflocos (Biofloc Technology - BFT) possui alta eficiência na produção de organismos aquáticos e com baixo potencial poluidor, pois os nutrientes, como fósforo e nitrogênio, são constantemente reciclados e reutilizados, não havendo troca de água, assim, o descarte de águas residuárias e a entrada de patógenos no cultivo é reduzido (Avnimelech, 1999; Burford et al. 2003; Emerenciano et al. 2007; Ahmad et al. 2017). O sistema tem como princípio o crescimento bacteriano que irá transformar componentes indesejáveis presentes no meio, como, por exemplo, a amônia e o nitrito, em compostos menos tóxicos e com algum valor proteico. Este sistema consiste na manutenção da relação carbono: nitrogênio (C: N), geralmente na proporção de 20:1, para a produção de bactérias heterotróficas, que irão utilizar o carbono para assimilar os compostos nitrogenados em sua biomassa (Avnimelech, 1999). Autores como Samocha et al. (2007) sugerem utilizar a relação de C: N de 6:1, pois pode levar a uma redução rápida de amônia e nitrito no meio de cultivo; enquanto, Boopathy et al. (2005) sugerem que a relação ideal, aquela que suporta uma comunidade microbiana mais útil é a de 20:1 e a de 30:1; já Asaduzzaman et al. (2010), diz que, quanto maior a relação C: N, mais carbono estará disponível no meio, favorecendo o crescimento da comunidade microbiana.

A fonte de carbono utilizada varia de acordo com a disponibilidade da região, podendo ser o bagaço de mandioca (Seolatto, 2017), farelo de arroz (Vilani, 2011), farinha de trigo (Azim et al, 2008), resíduo de cervejaria ou farinha de mandioca (Gandini et al. 2016), açúcar refinado (Chamorro-Legarda et al. 2018), entre outras fontes.

No sistema de bioflocos, há tanto a presença de bactérias autotróficas, aquelas que utilizam o gás carbônico como fonte de carbono, quanto heterotróficas, que utilizam o carbono presente na matéria orgânica do meio (Avnimelech, 2007). A predominância é de bactérias heterotróficas, mas são as autotróficas nitrificantes que irão converter a amônia em nitrito e, posteriormente, em nitrato, através do processo de nitrificação. Estas, por sua vez, possuem uma taxa de crescimento mais lenta, segundo estudos realizados por Hargreaves (2006). Por demorarem mais tempo para crescer, é interessante a presença de bactérias heterotróficas nas fases iniciais do cultivo, pois pode ocorrer um aumento nas concentrações de amônia e, ainda, se a

dominância for, por algum motivo, de bactérias autotróficas, a amônia poderá ser oxidada a nitrito e as bactérias que convertem nitrito a nitrato, por possuírem um crescimento mais lento quando comparado às bactérias que irão oxidar a amônia, resultarão em um acúmulo de nitrito no sistema (Philips et al. 2002).

A etapa antes da maturação dos bioflocos é um período crítico, pois pode apresentar níveis elevados de compostos nitrogenados, como o nitrito, e segundo Campos et al. (2012) altas concentrações de nitrito podem ocasionar retardo no crescimento, baixa capacidade imunológica e até mesmo, em casos mais extremos, a morte dos organismos cultivados.

O oxigênio dissolvido é utilizado tanto pela oxidação da matéria orgânica, quanto para a respiração dos organismos que estão sendo cultivados (Burford et al. 2003) e, ainda, na respiração e constante suspensão dos bioflocos na coluna d'água (Hargreaves, 2013). Segundo Avnimelech et al. (2003), além da suspensão dos bioflocos na coluna d'água, ocorre também a mistura da camada superior da água, que é rica em oxigênio dissolvido, com a camada mais profunda, geralmente pobre em oxigênio, homogeneizando, assim, o meio de cultivo. Estes autores ainda citam que esta homogeneização deve favorecer os processos microbianos e bacterianos, proporcionando um controle sobre o acúmulo de sedimento no fundo do viveiro.

A principal constituição dos bioflocos são microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de ração e de animais mortos, bactérias, rotíferos, protozoários, outros invertebrados (Emerenciano et al. 2007), em complexa interação entre estes organismos e matéria orgânica na coluna d'água (Ray et al. 2010). Estes componentes possuem duas funções principais, que são a manutenção da qualidade da água através da absorção de compostos nitrogenados, que irá gerar proteína microbiana, e a nutrição dos organismos cultivados, como peixes e camarões, reduzindo a taxa de conversão alimentar e os custos com rações (Emerenciano et al. 2013; Vijayan et al. 2019). Segundo Martinez et al. (2002) e Ray et al. (2010), algumas espécies constituintes do zooplâncton podem conter entre 50 e 71 % de proteína bruta e ainda compostos nutricionais como lipídeos, carboidratos e vitaminas, que são essenciais à sobrevivência e crescimento de camarões (Maia et al. 2003). O consumo destes organismos, segundo Hargreaves (2013), traz inúmeros benefícios, como aumento do desempenho zootécnico, melhora na conversão alimentar e economia de custos com ração.

A disponibilidade de nutrientes, que varia de acordo com a relação C: N utilizada, é um regulador natural da taxa de produção primária, o que também afeta a comunidade zooplânctonica, visto que quanto mais nutrientes presentes no meio, maior será a produção primária e, conseqüentemente, maior a produção zooplânctonica (Straile et al. 1998).

O objetivo deste trabalho é avaliar a variação da qualidade da água, da biomassa zooplânctonica presente no sistema de bioflocos formado com três diferentes relações carbono: nitrogênio, bem como aferir se há diferenças no tempo de maturação do sistema entre as três relações C: N testadas.

2. Metodologia

2.1 Local e instalações:

O experimento foi executado nos meses de junho e julho de 2019 em uma sala laboratorial que possui 9 tanques redondos, com volume útil de 250 litros cada, e um sistema de aeração, que conta com um soprador monofásico de 0,5 cv. O laboratório fica localizado no Instituto de Pesquisa em Aquicultura Ambiental (InPAA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em Toledo - PR.

2.2 Material biológico e delineamento experimental:

O sistema de bioflocos foi formado utilizando açúcar refinado como fonte de carbono (Chamorro-Legarda et al. 2018), em três tratamentos com as relações carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1. O tempo de duração do experimento foi 48 dias. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e três repetições cada.

As coletas de material biológico para análise zooplânctonica foram realizadas a cada sete dias, a partir do 9º dia de

execução do experimento. Cinco litros de água foram coletados e filtrados em malha de 20 micrômetros, as amostras foram acondicionadas em recipientes rotulados de 300 mL e adicionado formol a uma concentração final de 4%, segundo metodologia de Silva et al. (2018).

A análise da comunidade zooplânctonica foi realizada em laboratório, utilizando microscópio óptico e câmara de Sedgewick-Rafter para a quantificação do zooplâncton, seguindo a norma técnica L5.304 da CETESB (2012).

O cálculo da densidade zooplânctonica foi realizado com a seguinte fórmula:

$$N = N_s * V_{ac} / V_s * V_a$$

onde:

N= Número de organismos (por m³);

N_s= número de organismos contados na placa de Sedgewick-Rafter;

V_{ac}= volume da amostra concentrada no béquer;

V_s= volume total da amostra analisada;

V_a= Volume amostrado (filtrado) em m³.

2.3 Formação, maturação e manutenção de bioflocos:

Os bioflocos foram formados e maturados adicionando-se açúcar refinado como fonte de carbono durante todo o período de cultivo, com a quantidade calculada de acordo com a metodologia descrita por Avnimelech (1999), de modo a manter as relações C: N em 10:1, 15:1 e 20:1, tomando como base a quantidade de nitrogênio disponível após a decomposição da ração adicionada ao sistema. Foi utilizada ração farelada da Algomix® com teor de proteína bruta de 52 %. Os bioflocos foram considerados maturados quando o nitrito se encontrou estável próximo a zero, ou seja, sem sofrer grandes variações (Lorenzini, 2018).

2.4 Qualidade da água:

Amônia, nitrito, nitrato, ortofosfato e alcalinidade foram medidos em intervalos de 3 a 4 dias, durante todo o experimento, a mensuração dos valores foi feita com kit colorimétrico (Alfakit, Florianópolis-SC Brasil) e a leitura dos valores por um fotolorímetro de bancada AT 100 PB II (Alfakit, Florianópolis-SC, Brasil). Temperatura, oxigênio dissolvido e pH também foram mensurados em intervalos de 3 a 4 dias e a obtenção de seus resultados foi feita através de termômetro de mercúrio, oxímetro At 160 e pHmetro At 315 (ambos Alfakit, Florianópolis-SC, Brasil), respectivamente. As amostras foram coletadas antes das reposições da água perdida por evaporação. Não foram utilizados compostos químicos para se controlar o nível da alcalinidade, com o objetivo de verificar sua real variação entre os tratamentos. Cada uma das unidades amostrais foi equipada com um aquecedor de 200 W com termostato ajustado para manter uma temperatura em 28 °C.

2.5 Análise dos dados:

As variáveis respostas da qualidade de água e biomassa zooplânctonica foram testadas através de análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas. Quando os dados não obedeciam aos pressupostos básicos de homoscedasticidade e normalidade de erros, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os dados foram analisados utilizando o aplicativo STATISTICA versão 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, EUA) e o nível de significância foi 5%.

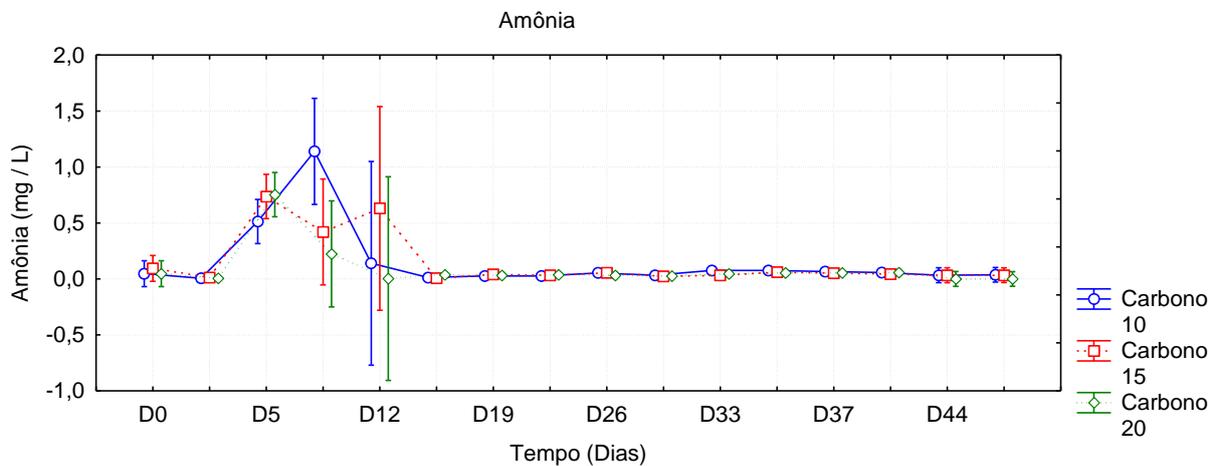
3. Resultados e Discussão

3.1 Qualidade de água:

As variáveis amônia, nitrito e nitrato foram analisadas através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Ortofosfato, alcalinidade, temperatura, oxigênio dissolvido, pH e densidade zooplânctonica foram analisados com o auxílio de ANOVA de medidas repetidas.

A amônia apresentou valores variando de 0 a 1,89 mg/L para o tratamento com a relação C: N de 10:1, de 0 a 1,38 mg/L para o tratamento com a relação C: N de 15:1 e de 0 a 0,84 mg/L para o tratamento com a relação C: N de 20:1, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Os valores mais elevados foram observados entre o 5° e o 12° dia, após este período, a amônia se estabilizou próximo a zero até o final do experimento (Figura 1).

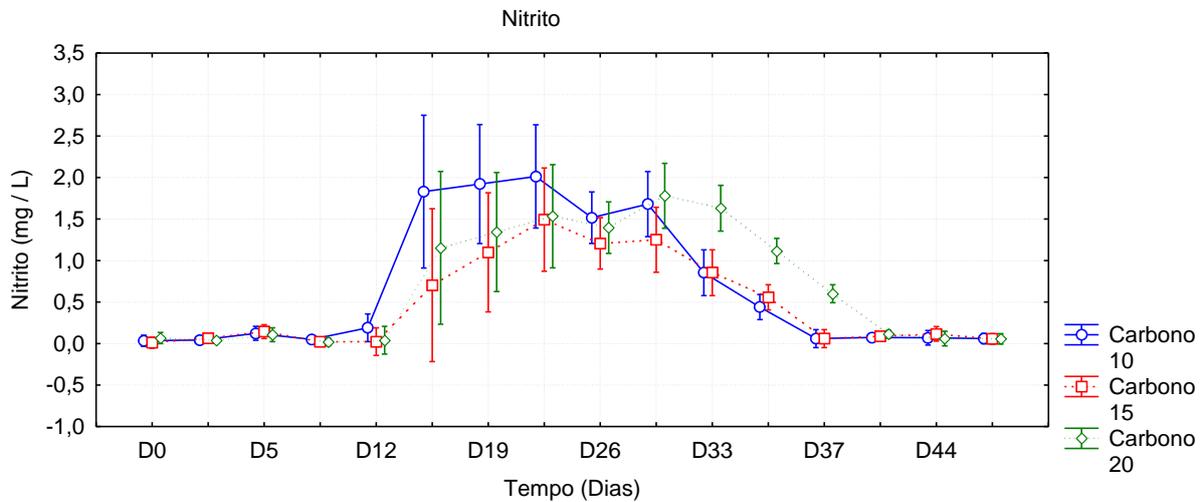
Figura 1 - Variação da amônia (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

Foram mensurados valores de nitrito (Figura 2) entre 0 e 1,95 mg/L; de 0 a 2,17 mg/L; de 0 a 2,22 mg/L para os tratamentos com as relações C: N de 10:1, 15:1 e 20:1 respectivamente, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). O nível de nitrito apresentou-se próximo a zero até o 12° dia, apresentando uma súbita alta no 16° dia, continuou subindo nos dias seguintes, apresentando redução a partir do 30° dia e se estabilizando próximo a zero novamente no 37° dia para os tratamentos 10:1 e 15:1, e no 40° dia no tratamento 20:1.

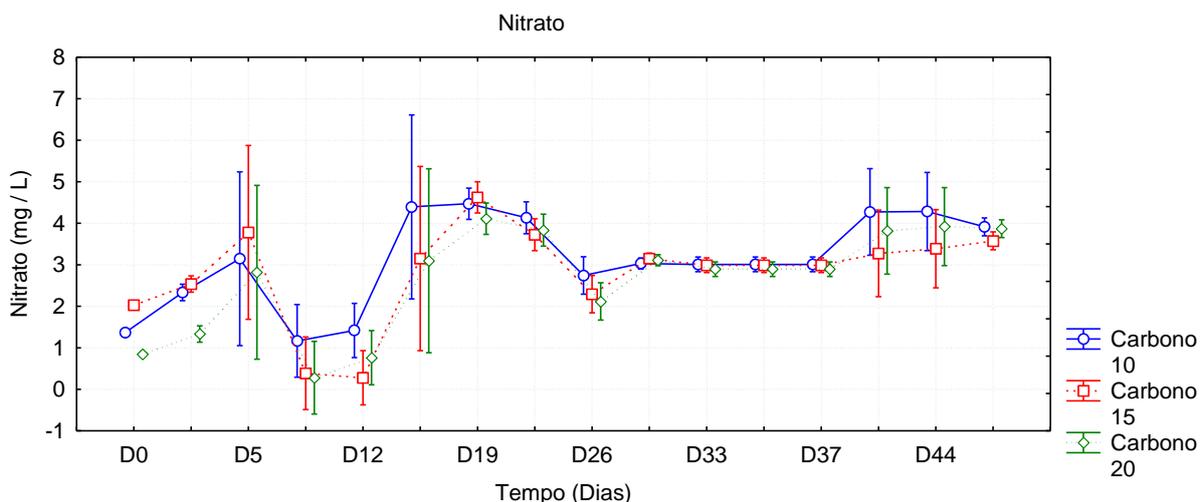
Figura 2 - Variação do nitrito (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

Os valores de nitrito variaram de 0,12 a 4,96 mg/L, de 0,18 a 5,15 mg/L e de 0 a 5,01 mg/L para os tratamentos 10:1, 15:1 e 20:1, respectivamente, sendo encontrada diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) no início do experimento (tempo D0) e no 2º dia (tempo D2). Apresentando comportamento muito semelhante em todos os tratamentos após este período, os valores mais baixos foram observados entre o 5º e o 16º dia, com valores próximos a 1,2 mg/L para 10:1 e 0,3 mg/L para 15:1 e 20:1, mas, em seguida, atingindo o nível mais alto no 19º dia em todos os tratamentos (Figura 3).

Figura 3 - Variação do nitrato (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.

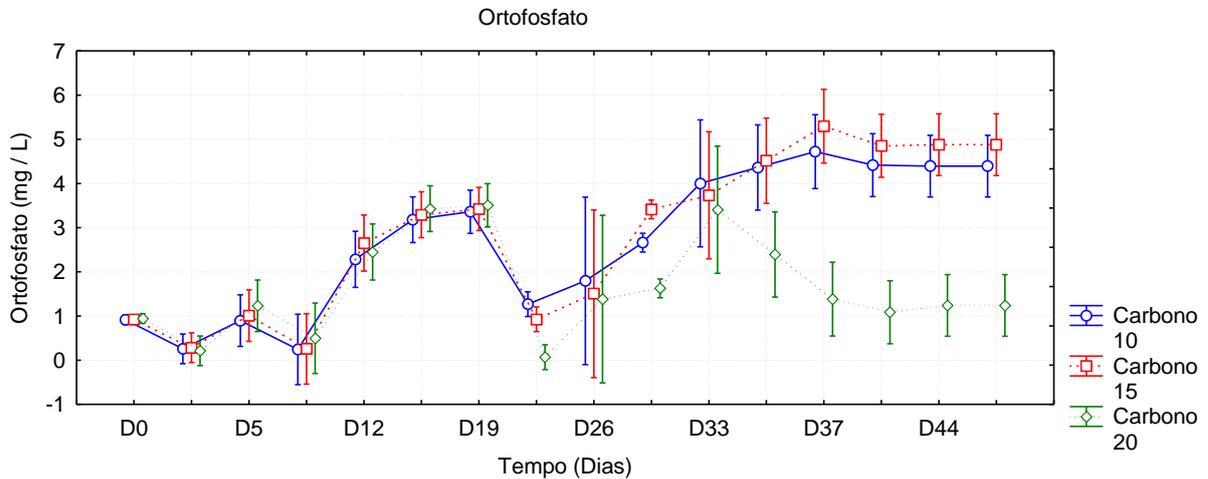


Fonte: Autores.

O ortofosfato apresentou valores variando de 0 a 5,98 mg/L, de 0 a 5,38 mg/L e de 0 a 4,40 mg/L para os tratamentos 10:1, 15:1 e 20:1, respectivamente (Figura 4), havendo diferença estatística entre os tratamentos e o tempo ($p < 0,05$). O comportamento de variação foi muito semelhante entre os três tratamentos até o 33º dia do experimento. Houve um pico com valores próximos a 3,5 mg/L no 19º dia e uma drástica redução em seguida. Após o 33º dia, houve redução do ortofosfato para

20:1 e estabilização próximo a 1 mg/L após o 40º dia. A situação foi oposta para 10:1 e 15:1, quando, após o 33º dia, os valores continuaram subindo até o 37º dia, momento este em que se estabilizaram em valores entre 4 e 5 mg/L.

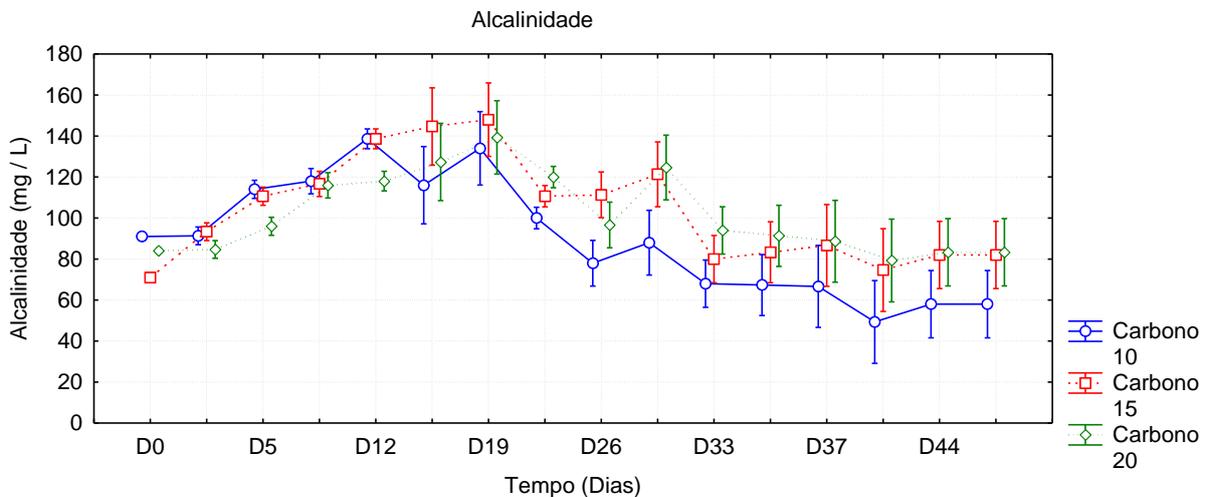
Figura 4 - Variação do ortofosfato (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

Foram observados valores de alcalinidade entre 64 e 150 mg/L; de 40 a 156 mg/L; de 58 a 150 mg/L, para os tratamentos com relações C: N de 10:1, 15:1 e 20:1, respectivamente, apresentando comportamento muito similar, sem diferença ($p > 0,05$), entre os três tratamentos e variando em decorrer do tempo ($p < 0,05$). Os valores mais elevados foram observados no 19º dia de experimento, entre 136 e 152 mg/L, mas após o 40º dia, os valores diminuíram e se estabilizaram próximo a 60 mg/L para 10:1 e próximos a 90 mg/L para os tratamentos 15:1 e 20:1 (Figura 5).

Figura 5 - Variação da alcalinidade (mg/L de CaCO₃) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.

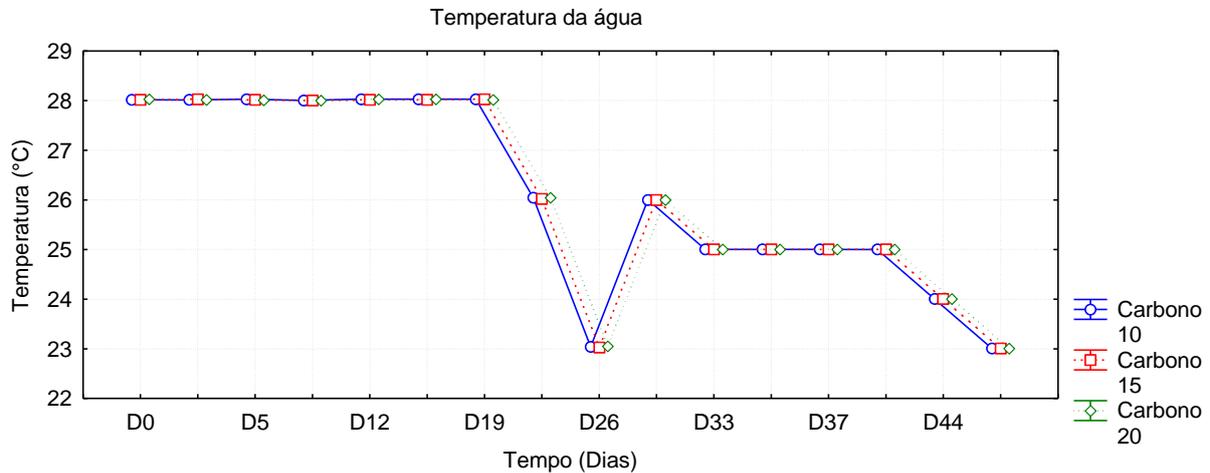


Fonte: Autores.

A temperatura não variou entre os tratamentos ($p < 0,05$), mas sim entre os dias de execução do experimento ($p > 0,05$), sendo a mesma para todos os tratamentos. A temperatura se manteve em 28°C até o 19º dia, chegou a 23°C no 26º dia e

aumentou posteriormente, ficando estável em 25 °C até o 40° dia. Após este período, houve queda de 2°C na temperatura (Figura 6).

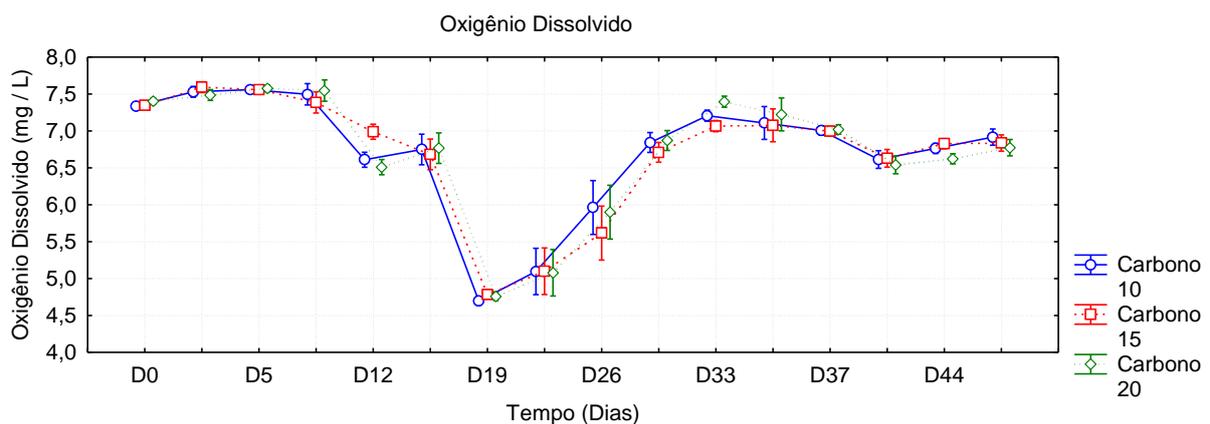
Figura 6 - Variação da temperatura (°C) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

O oxigênio dissolvido variou entre 4,73 e 7,66 mg/L; de 4,68 a 7,95 mg/L; de 4,72 a 7,67 mg/L para os tratamentos com as relações C: N de 10:1, 15:1 e 20:1, respectivamente. Não houve diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$), mas sim entre os dias ($p < 0,05$), ao apresentar uma queda no 19° dia de experimento, no qual chegou a valores próximos a 4,70 mg/L, mas voltando a subir em seguida e se estabilizando na faixa entre 6,5 e 7,0 mg/L até o final do experimento (Figura 7).

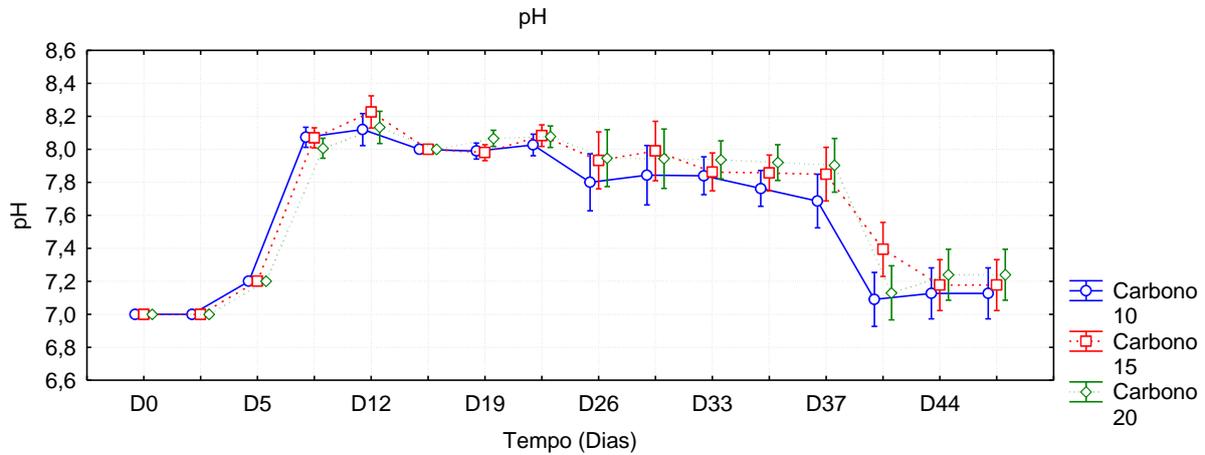
Figura 7 - Variação do oxigênio dissolvido (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

O pH variou de 7,00 a 8,90 em todos os tratamentos (Figura 8), apresentando diferenças estatísticas entre os dias ($p < 0,05$), mas não entre os tratamentos ($p > 0,05$). O tratamento 15:1 apresentou o valor mais elevado, no 12° dia. O experimento se iniciou com o pH em 7,0, o qual se manteve até 5° dia, vindo a subir em seguida, e se estabilizando entre 7,6 e 8,2 até o 37° dia. Após este período, houve uma redução, no qual os valores voltaram a ficar na faixa entre 7,0 e 7,2, para todos os tratamentos.

Figura 8 - Variação do pH em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.

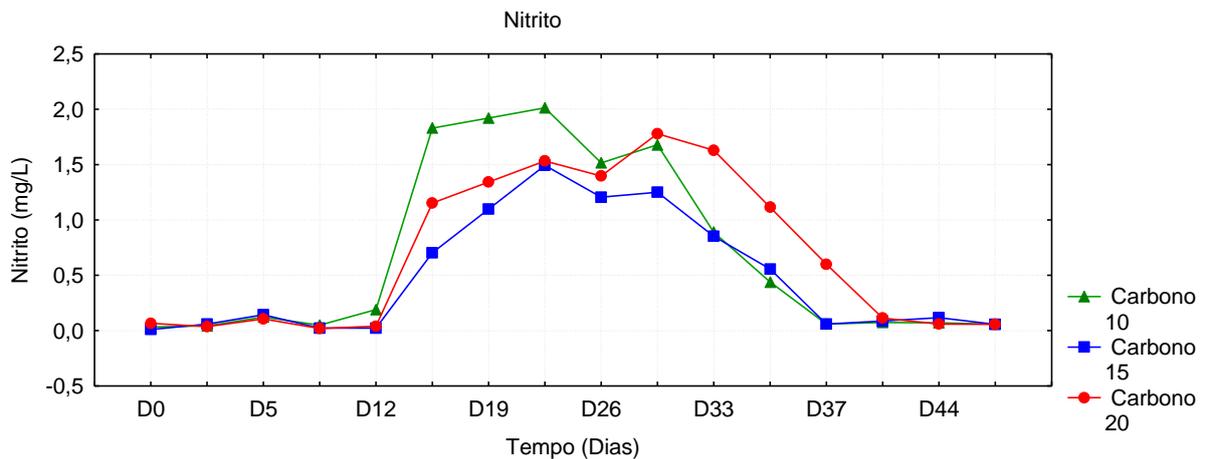


Fonte: Autores.

3.2 Maturação:

A redução e estabilização dos níveis de nitrito próximos a zero (Lorenzini 2018) foi o critério utilizado para definir o sistema de bioflocos como totalmente maturado. A maturação dos sistemas de bioflocos ocorreu com alguns dias de diferença entre os tratamentos, no 37º dia no tratamento com a relação C: N de 10:1 e 15:1 e no 40º dia em 20:1. Como não houve variação entre as unidades experimentais dentro de cada tratamento, não foi possível realizar uma análise estatística, a fim de comprovar a existência ou não de diferenças entre tratamentos.

Figura 9 - Médias dos valores de nitrito (mg/L) em sistemas de bioflocos (n=3) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



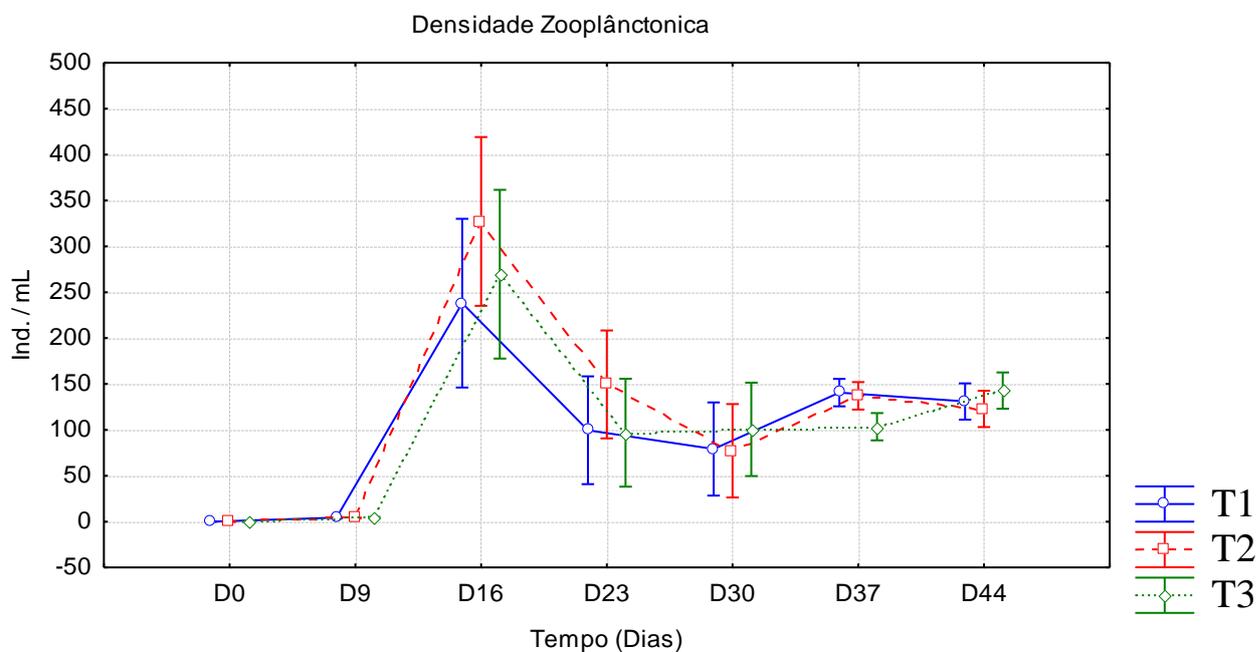
Fonte: Autores.

3.3 Densidade Zooplânctonica:

Os mais altos valores de densidade zooplânctonica, expressos em indivíduos por mL, foram obtidos no 16º dia, com valores entre 206,7 a 290,1 ind./mL para 10:1, de 267,9 a 412,2 ind./mL para 15:1, e de 192 a 329,1 ind./mL para 20:1. Os rotíferos apresentaram maior importância no cálculo da densidade zooplânctonica, com 12 das 18 espécies encontradas, representando um total de 55%, 47% e 62% da densidade zooplânctonica para 10:1, 15:1 e 20:1, respectivamente.

Foram encontradas diferenças significativas entre os dias de execução do experimento ($p < 0,05$), mas não entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Figura 10).

Figura 10 - Variação da densidade zooplânctonica (indivíduos / mL) em sistemas de bioflocos ($n=3$) submetidos a relações de carbono: nitrogênio de 10:1, 15:1 e 20:1 durante 48 dias de experimento.



Fonte: Autores.

A comunidade zooplânctonica encontrada nos três tratamentos foi basicamente composta por rotíferos, protozoários, nematódeas e amebas, abrangendo dezoito espécies diferentes.

O aumento dos níveis de amônia que ocorreu em todos os tratamentos, no início do experimento, pode ser explicado pela falta de bactérias nitrificantes no meio. Oliveira et al. (2006) caracterizaram a assembleia de bactérias nitrificantes no biofilme e na água de uma larvicultura de camarão e, segundo este estudo, as bactérias tiveram um pico de abundância entre o 3º e 4º dia, após este período, se mantiveram estáveis. Estes dados contribuem para explicar os dados encontrados no presente estudo, pois, após o seu aumento, a amônia diminuiu e se estabilizou próxima a zero, indicando que houve colonização e estabilização das bactérias nitrificantes nos sistemas.

Lovera et al. (2018) testaram as mesmas relações C: N para o cultivo de alevinos de tilápia em sistema bioflocos e encontraram valores de amônia maiores que os observados neste estudo, porém, no estudo de Lovera, alevinos de tilápia foram introduzidos logo no início da formação dos bioflocos, o que explica, assim, este nível mais elevado.

A variação do nitrito, após a amônia atingir altos valores, indica que as bactérias nitrificantes estão desempenhando de forma eficiente seu papel, que é oxidar a amônia a nitrito (Thompson et al. 2002). Segundo descreve Ferreira (2000), as ótimas taxas de conversão de amônia a nitrito são obtidas com níveis de oxigênio dissolvido acima de 4,0 mg/L, desde que a comunidade bacteriana esteja em uma densidade favorável. Observando os valores de oxigênio encontrados neste estudo, é possível observar que, em nenhum momento, o nível foi menor que 4,5 mg/L, sendo assim, é possível supor que a comunidade bacteriana já se encontrava presente a partir do 12º dia, tornando-se totalmente estável a partir do 30º dia, momento em que o nitrito começou a reduzir.

O nitrito pode ser altamente tóxico dependendo do nível, salinidade e do estágio de desenvolvimento do organismo cultivado (Barbieri 2010), mas os níveis encontrados neste estudo estão muito abaixo dos limites máximos recomendados para a produção de organismos aquáticos. Um fator que pode comprovar a eficiência e estabilidade do sistema de bioflocos é a não acumulação de nitrito no sistema, pois, segundo Ferreira (2000), em sistemas que funcionam de forma equilibrada, bactérias do gênero *Nitrobacter* possuem uma taxa ótima de crescimento, que é significativamente maior que a taxa de crescimento observada para as bactérias do gênero *Nitrosomonas*.

Silva (2018) encontrou valores de nitrito semelhantes aos encontrados no presente estudo para as relações de 10:1 e 20:1, porém, quando se utiliza um inóculo de bioflocos proveniente de outro cultivo já maturado, como no caso de Chamorro-Legarda (2018), os níveis dos compostos nitrogenados não tendem a variar tanto e, até mesmo, tendem a apresentar baixos níveis durante todo o cultivo, pois este inóculo contém uma carga bacteriana, facilitando o estabelecimento das bactérias em um novo cultivo, por este motivo Chamorro-Legarda encontrou valores de nitrito menores para a relação de 15:1 .

O nitrato é o resultado do processo de nitrificação, o qual um grupo de bactérias, com predominância do gênero *Nitrosomonas*, converte amônia em nitrito e, posteriormente, outro grupo de bactérias com predominância do gênero *Nitrobacter* converte nitrito em nitrato (Pereira e Mercante 2018). Geralmente, o nitrato é a principal fonte de nitrogênio inorgânico encontrado em cultivos de bioflocos (Lovera et al. 2018), afetando diretamente, a quantidade de carbono a ser oferecido no sistema. No início do experimento, a água utilizada, proveniente de poço artesiano, já apresentou traços de nitrato, o que provocou a diferença estatística observada. Quando os níveis de nitrito se elevaram (após o 12º dia), os níveis de nitrato seguiram a mesma tendência, mesmo após os níveis de nitrito reduzirem, isto pode ser explicado por Zhao et al. (2012) que afirma que quanto maior a comunidade de bactérias nitrificantes, maiores serão os níveis de nitrato no meio. Apesar de apresentar níveis aparentemente altos, o nitrato só se torna tóxico a peixes quando atinge concentrações próximas a 1000 mg/L (Kuhn et al. 2010).

O ortofosfato apresentou uma queda no 19º dia, mesmo período em que nitrito e nitrato se encontravam altos. Segundo descreve Avnimelech (1999), o ortofosfato pode ser consumido pelas bactérias heterotróficas presentes em bioflocos quando se tem alta densidade de bactérias convertendo amônia em nitrito e posteriormente em nitrato, assim, os níveis de ortofosfato podem ser reduzidos. Schneider et al. (2006) observaram que, em relações mais altas de C: N, a conversão de ortofosfato em biomassa bacteriana ocorre de forma mais eficiente, o que pode ser observado no tratamento 20:1, que apresentou níveis mais baixos de ortofosfato, em relação aos demais tratamentos. Brito et al. (2017) e Emerenciano et al. (2007) observaram que, o ortofosfato se acumula no sistema, quando não é consumido de forma eficiente pela biomassa bacteriana, o que explica os altos níveis de ortofosfato observado nos últimos dias de experimento para os tratamentos com a relação C: N de 10:1 e 15:1.

A diminuição da alcalinidade, após o 19º dia, é explicada pelo consumo do carbonato de cálcio (CaCO_3) e seus equivalentes pelas bactérias heterotróficas e nitrificantes, resultado do crescimento da biomassa bacteriana que é deduzido pelo comportamento das curvas de amônia e nitrito. Em sistemas de bioflocos, recomenda-se manter a alcalinidade entre 100 e 150 mg/L de CaCO_3 para se evitar alta variação do pH (Ebeling et al. 2006) e, para não comprometer o processo de nitrificação (Feng et al. 2007). Apesar desta recomendação, não houve adição de compostos para corrigir a alcalinidade neste trabalho, ainda assim os resultados do tratamento 15:1 foram semelhantes aos obtidos por Lovera et al. (2018), enquanto Silva et al. (2017), mesmo utilizando calcário dolomítico para manter a alcalinidade acima de 150 mg/L, obteve o mesmo padrão de variação da alcalinidade que o encontrado no presente estudo.

A temperatura se manteve dentro da faixa ótima para cultivo de organismos aquáticos, sua variação foi creditada a uma frente fria que chegou à região, reduzindo drasticamente as temperaturas, com isto, os aquecedores não conseguiram manter constante a temperatura dos tanques. Apesar da variação da temperatura (5°C em apenas 7 dias), o sistema não sofreu

alterações, visto que o processo de nitrificação não se alterou. Segundo Cervantes et al. (2000), a faixa de temperatura ótima para ocorrer este processo é de 15 a 32°C, demonstrando, assim, a eficiência do sistema bioflocos no presente estudo.

De Schryver et al. (2008) descreveram as temperaturas entre 20 a 25 °C como a faixa ideal para a estabilização do bioflocos, apesar de estar um pouco acima desta faixa no início do experimento, após o 23º dia, a temperatura se enquadrou nesta faixa.

A queda brusca de oxigênio dissolvido na água, no 19º dia de experimento, ocorreu no mesmo período em que nitrito, nitrato e alcalinidade encontravam-se em seus valores mais altos. Esta relação é explicada pelo fato de que altas concentrações de nitrogênio na água (na forma de amônia, nitrito, nitrato) influenciam a dinâmica de oxigênio dissolvido, visto que, para oxidar 1,0 mg do íon amônio, é consumido cerca de 4,3 mg de oxigênio (Pereira et al. 2018).

Devido a taxa de oxigenação que, em nenhum momento, ficou abaixo de 4,5 mg/L, a homogeneização dos bioflocos foi eficiente, proporcionando um equilíbrio dentro do sistema sem pontos de hipóxia provocada por acúmulo de matéria orgânica, favorecendo assim os processos bacterianos (Avnimelech e Ritvo 2003).

Os valores de pH se mantiveram dentro da faixa ótima de pH para produção de organismos aquáticos, a qual varia entre 6,5 a 9 (Wurts e Durborow 1992), sendo a mesma faixa de pH (Chen et al. 2006) que proporcionou melhor desenvolvimento para as bactérias nitrificantes no presente estudo. Ferreira (2000) ressaltou que o pH abaixo de 6,0 age como inibidor para bactérias nitrificantes.

A maturação dos bioflocos pode depender de vários fatores, tais como temperatura, pH e oxigênio dissolvido, os quais funcionam como limitadores da comunidade bacteriana (De Schryver et al. 2008; Chen et al. 2006; Avnimelech et al. 2003), assim como alcalinidade, que pode comprometer o processo de nitrificação quando apresenta baixos níveis (Feng et al. 2007), além do ortofosfato, que é convertido em biomassa bacteriana (Avnimelech 1999). Uma combinação destes fatores abióticos pode acelerar ou retardar o processo de maturação. Neste estudo, a maturação dos três tratamentos ocorreu no mesmo período em que todos estes fatores abióticos se encontravam dentro da faixa ótima para a proliferação bacteriana, contribuindo para o sucesso deste processo nos três tratamentos.

A maturação dos bioflocos acontece quando as comunidades bacterianas se encontram definidas e estáveis, metabolizando os compostos nitrogenados presentes no meio, mantendo-os em níveis baixos, favorecendo a comunidade zooplânctônica que irá consumir estas bactérias (Silva et al. 2020). A combinação destes eventos faz com que o sistema ao todo funcione de forma totalmente eficiente, o que torna possível produzir peixes e camarões em altas densidades neste sistema (Xu et al. 2016).

Após os níveis de nitrito se estabilizar próximos a zero, no 37º dia, para os tratamentos com a relação C: N de 10:1 e 15:1 e, no 40º dia, para o tratamento com a relação C:N de 20:1, todos os parâmetros analisados apresentaram uma tendência de estabilização, podendo assim, concluir que o sistema de bioflocos atingiu a maturação e equilíbrio. Outros autores obtiveram a maturação de seus sistemas de bioflocos em 30 dias (Krummenauer et al. 2013), 21 dias (Melo et al. 2015 e Silva et al. 2017), 41 dias (Garcia et al. 2018) e de 30 a 50 dias (Emerenciano et al. 2017).

Os valores de densidade zooplânctônica são próximos aos encontrados por Monroy-Dosta et al. (2013) e Garcia et al. (2018) que encontraram 96 ind./ml e 95 ind./ml, respectivamente. Neste trabalho, os valores mais altos foram encontrados no 16º dia e coincidem com o período em que a temperatura da água estava mais elevada, até o 19º dia. Segundo descrevem Faria et al. (2000), a temperatura é um fator limitante na densidade zooplânctônica. Após o 19º dia, as temperaturas foram reduzidas e a densidade zooplânctônica apresentou um decréscimo significativo no mesmo período.

Segundo descrevem Jiménez-Pacheco (2017), os nutrientes não são considerados um fator limitante para o desenvolvimento de fitoplâncton em sistemas de bioflocos, mas sim a intensidade luminosa, que pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento dos bioflocos, é considerada como um fator limitante. Como o fitoplâncton é um dos principais

alimentos do zooplâncton, uma variação em sua densidade pode afetar diretamente a comunidade zooplânctônica. Quanto maior o seu tempo de cultivo, mais densa e turva fica a água com bioflocos, diminuindo assim a entrada de luz no meio e, conseqüentemente, reduzindo a produção primária.

Os rotíferos apresentaram grande importância na densidade zooplânctônica, sendo o grupo mais abundante, o que também foi observado por Brito et al. (2017) e Gálvez (2015), ressaltando que esta diferença se dá, provavelmente, pela alta capacidade de adaptação destes organismos. Segundo Perez (2010), rotíferos são capazes de fragmentar flocos microbianos, consumir as bactérias aderidas a eles e, assim, excretar compostos que auxiliam na formação de novos flocos.

Após a estabilização dos bioflocos e, conseqüentemente, dos parâmetros físicos e químicos da água, a densidade apresentou menor variação em todos os tratamentos, comprovando que as relações carbono: nitrogênio não influenciaram na densidade zooplânctônica.

4. Conclusão

Para a maturação de sistema de bioflocos, recomenda-se utilizar a relação carbono: nitrogênio de 10:1, visto que será a menor quantidade de carbono a ser oferecida ao sistema e, conseqüentemente, que implicará em menor custo de produção.

Referências

- Ahmad, I., Rani, A. M. B., Verma, A. K., & Maqsood, M. (2017). Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture International*, 25, 1215–1226.
- Asaduzzaman, M. et al. (2010). Effect of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. *Aquaculture*, 306, 127–136 p.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge and bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264:140–147.
- Avnimelech, Y., & Ritvo, G. (2003). Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*, 220: 549–567.
- Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3-4), 227-235.
- 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(1-4), 29-35.
- Barbieri, E. (2010). Acute toxicity of ammonia in White shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture*, 302(1-4): 231-237.
- Boopathy, R., Fontenot, Q., & Kilgen, M. (2005). Biological treatment of sludge from a recirculating aquaculture system using a sequencing batch reactor. *Journal of the World Aquaculture Society* 36, 542–545 p.
- Brito, L. O., Simão, B. R., Pereira Neto, J. B., Cemirames, G., & Azevedo, C. M. D. S. B. D. (2017). Densidade Planctônica do Policultivo de *Litopenaeus vannamei* e *Oreochromis niloticus*. *Ciência Animal Brasileira*, 18.
- Burford, M. A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., & Bauman, R. H. et al. (2003). Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393-411.
- Campos, B. R et al. (2012). Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica (Rio Grande)*, 34(1), 75-81.
- CervanteS-Carrillo, F., Pérez, J., & Gómez, J. (2000). Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología* (42), p. 73-82.
- Chamorro-Legarda, E. (2018). Açúcar refinado como fonte de carbono no berçário de camarões cultivados em sistema de bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(2), 443-448.
- Chen, S., Ling, J., & Blancheton, J. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering*, 179-197.
- Faria, A. C. E. A., Hayashi, C., Soares, C. M., & Gonçalves, G. S. (2000). Avaliação dos grupos zooplânctônicos em tanques experimentais submetidos a adubação com diferentes substratos orgânicos. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 22, 375-381.
- De Schryver, P. et al. (2008). O básico da tecnologia de bio-flocos: o valor agregado para a aquicultura. *Aquaculture*, 277(3-4), 125-137.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.

- Emerenciano, M., & Coelho G. et al. (2017). Biofloc technology (BFT): a tool for water quality management in aquaculture. *Water quality*, 5, 92-109.
- Emerenciano, M., Gaxiola, G., & Cuzon, G. (2013). Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. In: Biomass now-cultivation and utilization. *InTech*.
- Emerenciano, M. G., Wasielesky, W. J., Soares, R. B., Ballester, E.C., Izeppi, E.M., & Cavalli, R.O. (2007). Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 29: 1-7.
- Feng Y. J., Tseng S. K., Hsia T. H., Ho, C. M., & C, W. P. (2007). Partial nitrification of ammonium rich wastewater as pretreatment for Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) using Membrane Aeration Bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 104(3):182-187.
- Ferreira, E. S. I-121. (2000). *Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e desnitrificação biológica*.
- Gandini, F. A. et al. (2016). Avaliação de diferentes fontes de carboidratos para o sistema de bioflocos e crescimento do camarão branco. *Bol. Inst. Pesca*, São Paulo, 42(4), p. 831-843.
- García, C., & Alvarez, L. (2018). Implementación y caracterización de un sistema biofloc (bft) en condiciones climáticas de Ocaña, Norte de Santander. *Revista colombiana de zootecnia*, 4(7).
- Gálvez, A. O. (2015). Plankton communities in shrimp monoculture, integrated biofloc system. *CEP*, 52171, p. 900.
- Hargreaves, J. A. (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquac. Eng.* 34, 344-363.
- Hargreaves, J. A. (2013). Biofloc Production Systems for Aquaculture. *Southern Regional Aquaculture Center*. 4503, 1–12.
- Jiménez-Pacheco, F. (2017). Presencia y abundancia de fitoplancton y zooplancton en un sistema de producción de Biofloc utilizando dos aportes de carbono: 1) Melaza y 2) Melaza+ pulido de arroz cultivando al pez *Oreochromis niloticus*.
- Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Boardman, G. D., Patnaik, S., Marsh, L., & Flick, G. J. (2010). Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture, Amsterdam*, 303, p. 28–33.
- Krummenauer, D., Lara, G., Foés, G., Poersch, L. H., & Wasielesky, W. JR. (2013). Sistema de Bioflocos: É possível reutilizar a água por diversos ciclos? *Panorama da aquicultura*, 136(23): 40 -47.
- Lorenzini, J. P. S. (2018). Avaliação do uso de substrato no desempenho e qualidade de água de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) mantidos em berçário em sistema de bioflocos.
- Lovera, K. P., Zapata et al. (2018). Cultivo de alevinos de tilápia em sistema de bioflocos sob diferentes relações carbono/nitrogênio. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3), p. 399–407-399–407.
- Maia, E. P., Leal, A., Correia, E. S., Pereira, A. L., & Olivera, A. (2003). Caracterização planctônica de cultivo super-intensivo de *Litopenaeus vannamei*. *Revista da ABCC*, 5(2), p.60-62.
- Martínez, C. L., Ezquerro, B. M., Bringas, A. L., Aguirre, H. E., Garza, A. M. (2002). Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el noroeste de México. *Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Cancún (México); 559-581.
- Melo, F. P et al. (2015). Cultivo do camarão marinho com bioflocos sob diferentes níveis de proteína com e sem probiótico. *Revista Caatinga*, 28(4), p. 202-210.
- Monroy-Dosta, M. D. C., Lara-Andrade, D., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., & Emerenciano, M. (2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Journal of Marine Biology and Oceanography* (RBMO), 48(3) -511-520.
- NBR L5.304 – 2º Edição Cetesb (2012). *Zoopâncton de água doce: métodos qualitativo e quantitativo*.
- Oliveira, S. S. et al. (2006). Caracterização da assembléia de bactérias nitrificantes pelo método "Fluorescent in situ hybridization" (fish) no biofilme e água de larvicultura do Camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis*. *Atlântica, Rio Grande*, 28(1), p. 33-45.
- Pereira, L., & Mercante, C. A. (2018). Amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*, 31(1), p. 81-88.
- Perez, A.J.D. (2010). Aplicación y evaluación de un reactor de contactores biológicos rotativos (RBC o biodiscos), a escala de laboratorio como tratamiento de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la Pradera. Tesis de Maestría Ingeniería Urbana, Facultad de Ingenierías, *Universidad de Medellín, Medellín*, 259 pp.
- Philips, S., Laanbroek, H. J., & Verstraete, W. (2002). Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 1, 115-141.
- Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A., & Browdy, C. L. (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture* 310:130–138.
- Samocha, T. M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A. M., Burger, J. M., Almeida, R. V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A., & Brock, D. L. (2007) Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 36, 184-191.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E., & Verreth, J. (2006). Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. *Aquaculture* 261, 1239-1248

- Seolatto, M. (2017). *Bagaço de mandioca como fonte de carbono em sistemas de bioflocos para a criação de alevinos de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. Monografia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Toledo.
- Silva, J. L. S., Rodríguez, M. T. T., & Sousa, O. V. (2020). Effect of the addition of native nitrifying bacteria in the formation of bioflocs for the improvement of the quality of the water of culture of aquatic organisms. *Brazilian Journal of Development*, 6(6), p. 33870-33891.
- Silva, U. L. et al (2018). Resposta fitoplanctônica à diferentes fontes de carbono e relações c: n na alevinagem de tilápia cultivada com bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 44(2), 155-160.
- Silva, U. L. et al. (2017). Fontes de carbono e proporções C: N na qualidade da água para o cultivo de tilápia do Nilo em sistema biofoco. *Revista Caatinga*, 30(4), 1017-1027.
- Straile, D., & Geller, W. (1998). Crustacean zooplankton in Lake Constance from 1920 to 1995: Response to eutrophication and re-oligotrophication. *Advances in Limnology*, 53, p. 255-274.
- Thompson, F. L., Abreu, P. C., & Wasielesky, W. J.R. (2002). Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*. 203: 263-278.
- Vijayan, K. K., Panigrahi, A., Balasubramanian, C. P., Jayanthi, M., Saraswathy, R., Kannappan, S., & Vasagam, K. K. (2019). Biofloc Technology for Nursery and Growout *Aquaculture*.
- Vilani, F. G. et al. (2012). Uso do farelo de arroz na fertilização da água em sistema de cultivo com bioflocos e seu efeito sobre o desempenho zootécnico de *Litopenaeus vannamei*.
- Wurts, W. A., & Durborow, R. M. (1992). Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Aquaculture program. *SRAC-public*, 464, 1-4.
- Xu, W., Morris, T. C., & Samocha, T. M. (2016). 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*, 453, 169-175.
- Zhao, P., Huang, J., Wang, X. H., Song, X. L., Yang, C. H., Zhang, X. G., & Wang, G. C. (2012). The application of bioflocs technology in high-intensive, zero Exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture, Amsterdam*, 354-355, 97-106.