

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE

Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

ACIDIFICANTE NA ÁGUA DA PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO EM BIOFLOCOS

Márnio Roveda

Araquari, 2022

Márnio Roveda

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Adolfo Jatobá

Coorientador: Norha Bolívar Ramirez

Araquari, 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

R873a Roveda, Márnio
ACIDIFICANTE NA ÁGUA DA PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-
NILO EM BIOFLOCOS / Márnio Roveda; orientador Adolfo
Bezerra; coorientadora Norha Ramirez. -- Araquari,
2022.
55 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Araquari, , Araquari, 2022.

Inclui referências.

1. Piscicultura. 2. Remediador. 3. Ácidos
orgânicos. 4. Biofloco. I. Bezerra, Adolfo , II.
Ramirez, Norha. III. Instituto Federal Catarinense. .
IV. Título.

Márnio Roveda

**ACIDIFICANTE NA ÁGUA DA PRODUÇÃO DE TILÁPIA-DO-NILO (*OREOCHROMIS
NILOTICUS*) EM BIOFLOCOS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 16 de dezembro de 20220.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Adolfo Jatobá (Orientador)

Doutor em Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil

Instituição de vínculo Instituto Federal Catarinense, *Campus Araquari*

Prof. Dr. Moisés Angel Poli

Doutor em Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil

Instituição de vínculo Empresa de Vitapro S.A., Equador

Prof. Dr. Maurício Lehmann

Doutor em Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil

Instituição de vínculo Instituto Federal Catarinense, campus Araquari (IFC)



Emitido em 16/12/2022

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 17/2022 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 21/03/2023 12:37)

ADOLFO JATOBA MEDEIROS BEZERRA

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

CGET/ARAQ (11.01.02.08)

Matrícula: ###307#1

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **17**, ano: **2022**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: **21/03/2023** e o código de verificação: **32b9947e59**

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar meu caminho. Minha vida tem sido marcada por realizações diárias, que as vezes não dou o devido valor, mas sei que a graça de Deus se faz presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus Pais, Iria Buss Roveda (em lembrança) e Viníciu Roveda (em lembrança), vocês não estão mais entre nós, mas em cada passo que dou, sinto a presença ao meu lado meus queridos e saudosos pais. E com o coração carregado de eterna saudade, agradeço pelo amor que, mesmo depois de terem partido, deixaram comigo. É esse amor e seus ensinamentos que diariamente me guiam. E tudo que quero é poder honrar sua memória durante a minha vida. Descansem em paz.

A querida Vó Dalvina (Estrela) que recentemente nos deixou. Seu legado nunca será esquecido por quem compreende, ama e sentia sua arte.

A minha esposa Indiamara S. J. Roveda, gratidão pelo apoio incondicional, por sempre acreditar em mim mais do que qualquer pessoa. Sou grato apenas por saber que você está sempre comigo, “Juntos somos mais fortes que tudo, juntos somos eternos”.

Ao meu orientador, Prof. Adolfo Jatobá por toda confiança, credibilidade e ensinamentos valiosos. Profissional e pesquisador dedicado, que impulsiona a capacidade de inovação do Instituto Federal Catarinense (IFC) e adotando um perfil mais empreendedor na formação de seus estudantes através de parcerias com empresas e indústrias.

Ao amigo Alexandre Gabbi pelo apoio. Obrigado pelas conversas, pela atenção, pelos conselhos “infalíveis”, pelo elogio que só vem de quem acredita. Nossa parceria e amizade são de longa data e somente tenho a agradecer por sempre ser prestativo e atencioso em todos os momentos.

A Empresa Pronutra do Brasil (EUROTEC NUTRITION), representada pelo Sr. Guillermo A. Vieira que acredita e incentiva parcerias entre Universidades e o setor produtivo, gerando inovação e criando oportunidades aos clientes. Go Beyond!

Aos colegas de empresa Leonardo e Ivair, que acreditam na importância do posicionamento estratégico da empresa frente ao potencial do mercado de aquicultura brasileira.

Agradecimento a toda Equipe do Laboratório de Aquicultura (LAq), Instituto Federal Catarinense (IFC), campus Araquari, e em especial a estagiária Carolina Cristina Alves de Menezes, que de forma muito dedicada se envolveu no projeto. Seu futuro profissional será brilhante! Da mesma forma, agradecer também à Dra. Norha Bolívar, Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina pela condução dos testes da fase *in vitro* do projeto científico. Ao professor Delano Dias Schleder, pelo apoio na avaliação

metagenômica das amostras.

E por fim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Existem pessoas que esquecemos na memória, mas não esquecemos no coração.

Combati o bom combate, acabei a carreira, guardei a fé.”

2 Timóteo 4:7

Resumo

ROVEDA, Márnio. **Acidificante na água da produção de tilápia-do-nilo (*Oreochromis Niloticus*) em bioflocos** 2022. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2022.

A aquicultura é um dos ramos da produção animal que mais cresce no mundo. Neste contexto, é importante observar as boas práticas de produção nos sistemas de criação. Alguns trabalhos utilizando os ácidos orgânicos como remediadores na aquicultura mostram resultados positivos, no entanto, estudos ainda são incipientes na água de cultivo nos sistemas intensivos e tecnologicamente sustentáveis, como o sistema de biofoco. Este trabalho tem o objetivo de avaliar o uso de um aditivo acidificante a base de ácido fórmico e derivados de lignina, sobre os parâmetros microbiológicos, de desempenho, hematológicos e de qualidade de água em sistema de biofoco para produção de tilápia-do-nilo. Foi realizada uma primeira etapa, com teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e avaliação por halo de inibição onde se procurou avaliar a atividade antimicrobiana do aditivo frente a sete cepas diferentes de microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *A. veronii*, *Vibrio alginolyticus* e *Vibrio parahaemolyticus*. Foi possível observar que o aditivo apresentou efeito inibitório frente a todas as bactérias testadas. Na etapa de avaliação da dose-resposta para o aditivo, foram testadas doses de 0; 2,5; 5; 10 e 20 ppm, onde a dose de 2,5 ppm mostrou-se mais adequada para utilização no cultivo do biofoco uma vez que não foi observada alteração do pH que se manteve em 7,16 e a alcalinidade em 128 mg.L⁻¹ da água em um período de 24 horas após a administração do aditivo. Parâmetros como quantidade de nitrato e ortofosfatos na água do biofoco foram estatisticamente inferiores quando se fez o uso do aditivo, comparados ao controle do experimento. Não houve diferença estatística para os parâmetros zootécnicos e hematológicos entre os grupos tratados ou não com aditivo. Conclui-se que o uso de aditivo acidificante a base de ácido fórmico e derivados de lignina contribuem positivamente nos parâmetros microbiológicos e de qualidade da água de um sistema de biofoco.

Palavras-chave: Ácido fórmico; Biofoco; Qualidade de água; Ortofosfórico; Amônia.

Abstract

ROVEDA, Márnio. Acidifier in water from Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) production in bioflocs 2022. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2022.

Aquaculture is one of the fastest growing field of animal production in the world. In this context, it is important to observe good production practices in farming systems. Some works using organic acids as remediators in aquaculture show positive results, however, studies are still incipient in culture water on intensive and technologically sustainable systems, such as the biofloc system. This work aims to evaluate the use of an acidifier additive based on formic acid and lignin derivatives on microbiological, performance, hematological and water quality parameters in a biofloc system for Nile tilapia production. A first step was carried out, with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test and evaluation by inhibition halo, where an attempt was made to evaluate the antimicrobial activity of the additive against seven different strains of microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *A. veronii*, *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. It was possible to observe that the additive had an inhibitory effect against all tested bacteria. In the dose-response evaluation stage for the additive, doses of 0; 2.5; 5; 10 and 20 ppm, where the dose of 2.5 ppm proved to be more suitable for use in the cultivation of the biofloc since no alteration was observed in the pH, which remained at 7.16 and the alkalinity at 128 mg.L⁻¹ of water within a 24-hour period after administration of the additive. Parameters such as the amount of nitrate and orthophosphates in the biofloc water were statistically lower when the additive was used, compared to the experiment control. There was no statistical difference for the zootechnical and hematological parameters between the groups treated or not with additive. It is concluded that the use of an acidifier additive based on formic acid and lignin derivatives contributes positively to the microbiological parameters and water quality of a biofloc system.

Keywords: Formic acid, biofloc, water quality, orthophosphate, ammonium.

Lista de Figuras

- Figura 1** Halos de inibição obtidos com Euroguard frente a diferentes bactérias patogênicas: A) *A. hidrophyla* W, B) *A. hydrophila*, C) *C. freundii*, D) *V. parahaemolyticus*, E) *A. veronii*, F) *S. aureus*, G) *V. alginolyticus*..... 13
- Figura 2** Estrutura confeccionada para a realização do teste dose-resposta, contendo garrafas PET's com sistema de aeração independente e controle de temperatura através de um "banho-maria" 15
- Figura 3** Variação de pH e alcalinidade do 24 e 48 horas após adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina)..... 21
- Figura 4** Contagem de bactérias filamentosas na água 24 e 48 horas adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina)..... 21

Lista de Tabelas

Tabela I	Halos de inibição do crescimento bacteriano.....	19
Tabela II	Teste de concentração inibitória mínima (%) do produto EUROGUARD SOFT 60F (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) frente a bactérias patogênicas.....	20
Tabela III	Parâmetros de qualidade de água em ambiente de cultivo com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) como remediador durante 4 semanas.....	23
Tabela IV	Desempenho zootécnico e parâmetros corporais de Tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivado em ambiente com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) como remediador.	27
Tabela V	Índice Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) em ambiente de cultivo com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) na água do cultivo.....	28

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	2
1.1 Tilapicultura	2
1.2 Ácidos orgânicos na produção aquícola	3
1.3 Remediação e biocontrole em ambiente de cultivo	5
1.3.1 Ácidos como remediadores	5
2. OBJETIVOS	6
2.1 Geral	6
2.2 Específicos.....	7
3. ARTIGO CIENTÍFICO	8
3.1 Introdução	11
3.2 Material e Métodos	12
3.2.1 Teste de inibição por disco difusão em ágar	13
3.2.2 Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)	15
3.2.3 Ensaio de dose-resposta para ácido	15
3.2.4 Teste <i>in vivo</i>	17
3.2.5 Homeostase animal.....	18
3.2.6 Análise estatística	19
3.3 Resultados e discussão	20
3.4 Conclusão.....	30
3.5 Referências do artigo	31
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
5. REFERÊNCIAS	35
6 ANEXOS.....	39

1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

1.1 Tilapicultura

A aquicultura é um dos ramos da produção animal que mais cresce no mundo, contribuindo com mais da metade do pescado consumido, colaborando de forma significativa para geração de emprego e renda (FAO, 2020). Sua demanda global tem apresentado um significativo incremento nas últimas décadas, alcançando em 2018, uma produção de 179 milhões de toneladas de pescado no mundo, com valor estimado em US\$ 401 bilhões (EMBRAPA, 2020). Representa uma fonte de proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos insaturados e vitaminas, bem como apresenta baixo teor de colesterol, constituindo uma opção de consumo mais saudável entre as proteínas de origem animal (GONÇALVES, 2011). Dentre os países produtores de pescado, a China ganha destaque e lidera o ranking, sendo responsável por 35% da produção total. Esse montante supera a produção total da Ásia (34%), Américas (14%), Europa (10%), África (7%) e Oceania (1%) (FAO – 2020). O Brasil ocupa apenas a 13ª posição na produção de peixes em cativeiro, e é o 8º na produção de peixes de água doce (EMBRAPA, 2020).

A produção brasileira de peixes de cultivo apresentou um incremento de 4,7 % em relação ao ano de 2020, saltando de 802.930 toneladas para 801.005 toneladas em 2021, sendo o segundo melhor desempenho desde 2014. A tilápia continua sendo a principal espécie produzida no Brasil, com uma produção de 534.005 toneladas, em 2021 sua participação aumentou 9,9% em relação a 2020, representando 63,5% da produção de peixes. Estes números consolidaram o Brasil como o 4º maior produtor de tilápia do mundo (ANUÁRIO PEIXE BRBR, 2022).

Esta espécie foi introduzida no Brasil na década de 1950. No ano de 1996, a tilápia geneticamente melhorada é importada da Tailândia. Versátil em relação as águas tropicais e subtropicais, é a variedade que melhor se adaptou ao solo brasileiro. Adaptam-se aos diferentes sistemas de produção, extensivos, semi-intensivos, intensivos e super-intensivos, além de possuir características desejáveis à produção,

como: boa adaptabilidade as variações das condições ambientais, boa conversão alimentar e ganho de peso, rusticidade. A tilápia ocupa um baixo nível trófico na cadeia alimentar, apresentando-se como uma espécie fitoplanctófagas com tendência a onívora, apresentando boa resistência quanto aos baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, carne e subprodutos de boa aceitação no mercado e resistência a doenças (ANIMAL BUSINESS BRASIL, 2019).

1.2 Ácidos orgânicos na produção aquícola

É indiscutível que o sucesso da piscicultura moderna proporciona crescimento da produção com forte aceleração na mudança de paradigmas pela necessidade de se produzir com qualidade, pensando na segurança do alimento e nas exigências dos consumidores. Neste contexto, torne-se imperativo observar que a maximização da intensidade dos sistemas produtivos passa pelas boas práticas de produção nos viveiros, onde destacamos a qualidade da água, realização de quarentena na aquisição de novos lotes, evolução dos estudos de nutrição com o fornecimento de alimentação de qualidade e balanceada, melhoramento genético e sanitário, de formar a garantir um ambiente de cultivo saudável e de qualidade dos alimentos produzidos (TAVECHIO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2015). Várias ferramentas são utilizadas para garantir o bom estado sanitário e nutricional das espécies aquícolas produzidas, entre elas, o uso de aditivos alimentares. Nesse contexto, os aditivos são utilizados na aquicultura, para melhorar o ganho de peso e controlar surtos de várias doenças (RIDHA e AZAD, 2012).

Os aditivos são classificados conforme o objetivo aos quais são utilizados na produção animal (CAVALHEIRO et al, 2014). Eles podem ser tecnológicos (antioxidantes, conservantes), sensoriais (aromatizantes), nutricionais (vitaminas, aminoácidos), zootécnicos (melhoradores de desempenho) e anticoccidianos. Os aditivos utilizados na aquicultura têm o propósito de incrementar os índices zootécnicos e controlar o status sanitário dos animais. Com a crescente proibição do uso de antibióticos (promotores de crescimento) na dieta de animais de produção, entre eles, os peixes cultivados, a

pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos tornam-se necessárias nesta exploração comercial (RIDHA e AZAD, 2012).

Um dos aditivos que possuem eficiente uso na aquicultura são os acidificantes baseados em ácidos orgânicos (BUREL, 2012). Entre eles os ácidos graxos de cadeia curta, como o propiônico e o fórmico; e ácidos graxos de cadeia média, como o capríico e caprílico, são os mais utilizados. Sua principal característica funcional é agir na remediação, sendo alguns ácidos mais efetivos contra bactérias (p.ex.: ácido fórmico) e outros contra fungos (p.ex.: ácido propiônico) (RICKE, 2003). O uso de aditivos acidificantes na produção de aves e suínos já é de uso corrente por parte dos nutricionistas e sanitaristas, porém na produção aquícola, ela ainda está em fase de estudos.

Em uma breve revisão, LÜCKSTÄDT (2006) apresenta alguns trabalhos de pesquisa utilizando ácidos orgânicos na dieta de diferentes espécies de peixes com interesse zootécnico. Nestes trabalhos, demonstra-se que o uso de destes aditivos, seja na forma pura ou associado entre eles, pois desempenham um impacto positivo sobre os ganhos zootécnicos e sobre parâmetros microbiológicos da criação.

Os ácidos orgânicos quando inclusos na dieta, atuam sobre a motilidade intestinal, no esvaziamento do trato gastrointestinal e absorção de água e minerais, apresentando efeitos sobre os processos fisiológicos dos peixes, aprimorando o sistema imune. Além disto, estes ácidos reduzem a população de microbiota patogênica no estômago e intestino dos peixes, assim como parecem atuar como promotores de crescimento naturais (CAVALHEIRO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015).

Os dados para uso de aditivo acidificante diretamente na água do ambiente de cultivo ainda são incipientes, mas se fazemos uma analogia com o que se verifica na água de bebida de aves e suínos, efeitos benéficos no controle de patógenos baseados nos princípios da biocontrole, possivelmente oferecendo um ambiente mais equilibrado aos organismos aquáticos, baseando-se na atividade de remediação (Informação Pessoal).

1.3 Remediação e biocontrole em ambiente de cultivo

A água é escassa e seu uso racional inclui a preservação de sua qualidade. Condições inadequadas resultam em prejuízos que comprometem o sucesso dos sistemas de produção. Os peixes dependem da água para realizar todas as suas funções vitais, como: respiração, alimentação, reprodução e excreção. Por isso, manter a qualidade da água nos ambientes de cultivo é de fundamental importância à produção de peixes com qualidade (OSTRENSKY e BOEGER, 1998).

Os biocontroladores possuem a capacidade de reduzir a concentração dos agentes patogênicos no ambiente de cultivo como tratamento antagonista a patógenos, reduzindo o agente causador de perdas produtivas. Entre os micro-organismos utilizados, estão as microalgas ministradas diretamente nos tanques de cultivos ou em alguma forma de alimento vivo, reduzindo a carga de bactérias patogênicas presente na água e no biofilme (MAKRIDIS et al., 2006). Estudos destacaram que os probióticos, incluindo *Bacillus*, fornecem um ambiente mais favorável para peixes através da redução da proliferação de bactérias patogênicas e fitoplâncton, bem como através da biorremediação de resíduos orgânicos na criação de água (BANERJEE & RAY, 2017).

Os ácidos orgânicos também apresentam potencial uso na remediação através dos efeitos diretos nos parâmetros físicos e químicos, evitando que o ambiente comprometa a saúde animal.

1.3.1 Ácidos como remediadores

O uso excessivo de antibióticos culminou no aparecimento de cepas bacterianas resistentes (DA SILVA et al., 2016) tornando um problema quando utilizado no tratamento de doenças nos planteis bem como na saúde alimentar por parte da sociedade consumidora, relacionado à presença de resíduos na carne, ovos ou leite (SANTANA et al., 2011). Neste cenário, a utilização de ácidos orgânicos, seja na forma pura ou associado entre eles, via água de bebida ou na ração, tem adquirido

considerável interesse nos últimos anos, devido a necessidade de se encontrar alternativas à proibição de uso de vários antibióticos.

O efeito antimicrobiano que muitos ácidos orgânicos exercem é através da forma não dissociada que atravessa facilmente citoplasmática. Os ácidos orgânicos possuem a capacidade de atingir a parede celular, membrana citoplasmática e funções particulares do metabolismo no citoplasma associado com replicação, síntese de proteínas e função (RICKE, 2003).

Uma vez no interior da bactéria, os ácidos orgânicos diminuem pH bacteriano intracelular, através da produção dos íons H^+ e elevando o gasto energético (LÜCKSTÄDT, 2008). As células reagem eliminando os prótons tentando manter o pH do citoplasma quase neutro sustentando suas funções macromoleculares, e esse mecanismo aumenta o consumo de trifosfato de adenosina celular (ATP) e pode levar depleção de energia celular (DAVIDSON, 2001).

O uso de ácidos orgânicos (ácido láctico) na água potável durante a retirada de ração reduz a população de *Campylobacter* na colheita e nas carcaças (BYRD et al., 2001). Assim como, o ácido fórmico apresentou redução no controle de *Salmonella Enteritidis* administrado via água de bebida em frangos de corte experimentalmente infectados (RUI, 2014). Estudos demonstram que o uso de polihidrobutirato apresentaram bons resultados no controle de *Vibrio* quando aplicado em água por artêmia franciscana (DEFOIRD et al. 2007). Outro ponto que comumente os ácidos orgânicos mostram resultados positivos como remediadores em ambiente aquático, reduzindo carga bacteriana, e conseqüentemente seja na forma pura ou associado entre eles, reduzindo os riscos de contaminação ambiental. No entanto, mais estudos são necessários para elucidar seus efeitos como remediadores na água de cultivo nos sistemas intensivos e tecnologicamente sustentáveis, como o de BFT (do inglês, *biofloc technology*).

O BFT é uma tecnologia alternativa para produção em alta densidade, que mantém a qualidade da água e uma mínima taxa de renovação. Neste sistema, a remoção

dos compostos nitrogenados ocorre por meio de agentes biológicos (organismos fotoautotróficos, bactérias autotróficas e heterotróficas), e contribui para a manutenção da qualidade da água, além de disponibilizar alimento para os organismos cultivados sob a forma de biomassa bacteriana (EBELING et al., 2006). O crescimento da população bacteriana heterotrófica é estimulado, aumentando a relação carbono:nitrogênio da água pela adição de melaço ou diminuição do teor de proteína da ração (AVNIMELECH, 1999).

Essa tecnologia tem se tornado uma alternativa promissora para promover a sustentabilidade e a biossegurança dos animais aquáticos por meio da utilização de menores volumes de água, causando menos danos ao meio ambiente (AVNIMELECH, 1999; NAYLOR et al., 2000).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Compreender os efeitos do uso de um acidificante aplicado na água de biofoco, e sua relação com o ambiente e alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2 Específicos

- Determinar a capacidade de inibição *in vitro* do ácido (EUROGUARD® SOFT F60, ácido fórmico mín. 500,00 g.kg⁻¹; e derivados de lignina, mín. 75,00 g.kg⁻¹; e veículo) contra de bactérias patogênicas;
- Determinar a concentração mínima inibitória do ácido (composição) frente sete bactérias patogênicas, sob duas diferentes temperaturas;
- Determinar uma dose do ácido (EUROGUARD® SOFT F60, ácido fórmico mín. 500,00 g/kg; e derivados de lignina, mín. 75,00 g.kg⁻¹; e veículo) a ser testada em um ensaio *in vivo* com alevinos de tilápia-do-nilo (*O. niloticus*)
- Avaliar se a dose determinada altera a homeostase animal de alevinos de tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) cultivadas em sistema de biofocos; e

- Avaliar se a dose determinada altera os parâmetros de qualidade da água no cultivo de alevinos de tilápia-do-nylo (*O. niloticus*) em sistema de bioflocos.

3. Artigo científico

Aquaculture Research

<https://www.scielo.br/journal/aabc/about/#instructions>

ROVEDA, M.^{1,2}; BOLÍVAR, N⁴; MENEZES, C. C. A⁵ JATOBÁ, A³

¹Mestrando do Programa de Pós Graduação em Saúde Animal – Instituto Federal Catarinense - campus Araquari, Araquari, Santa Catarina, Brasil.

²Pronutra do Brasil IND. E Com. LTDA (EUROTEC NUTRITION). Palhoça, Santa Catarina, Brasil.

³Laboratório de Aquicultura – Instituto Federal Catarinense – campus Araquari, Araquari, Santa Catarina, Brasil.

⁴Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina.

⁵Bolsista do Laboratório de Aquicultura, IFC – *Campus* Araquari.

Resumo

ROVEDA, Márnio. **Acidificante na água da produção de tilápia-do-nilo (*Oreochromis Niloticus*) em bioflocos** 2022. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2022.

Este trabalho tem o objetivo de avaliar o uso de um aditivo a base de ácido fórmico e derivados de lignina, sobre os parâmetros microbiológicos, zootécnicos, hematológicos e de qualidade de água em sistema de bioflocos para produção de tilápia-do-nilo. Foi realizada uma primeira etapa, com teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e halo de inibição onde foi possível observar que o aditivo apresentou efeito inibitório frente a todas as bactérias testadas. Na etapa de avaliação da dose-resposta para o aditivo, foram testadas doses de 0; 2,5; 5; 10 e 20 ppm, onde a dose de 2,5 ppm mostrou mais adequada para utilização no cultivo do bioflocos. Não foi observada alterações significativas no pH e na alcalinidade da água em um período de 24 horas após a administração do aditivo. Parâmetros como quantidade de nitrato e ortofosfatos na água do bioflocos foram estatisticamente inferiores quando se fez o uso do aditivo. Não houve diferença estatística para os parâmetros zootécnicos e hematológicos entre os grupos tratados ou não com aditivo. O autor conclui que o uso de aditivo acidificante a base de ácido fórmico e derivados de lignina contribuem positivamente na qualidade da água de um sistema de bioflocos.

Palavras-chave: Ácido fórmico, Bioflocos, Desempenho zootécnico, Ortofosfórico, Amônia.

Abstract

ROVEDA, Márnio. Acidifier in water from Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) production in bioflocs 2022. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2022.

This work aims to evaluate the use of an additive based on formic acid and lignin derivatives on microbiological, performance, hematological and water quality parameters in a biofloc system for Nile tilapia production. A first step was carried out, with a test of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and inhibition halo, where it was possible to observe that the additive had an inhibitory effect against all the bacteria tested. In the dose-response evaluation step for the additive, doses of 0; 2.5; 5; 10 and 20 ppm were utilized, where the dose of 2.5 ppm was more suitable for use in biofloc cultivation. There were no significant changes in the pH and alkalinity of the water in a period of 24 hours after the administration of the additive. Parameters such as the amount of nitrate and orthophosphates in the biofloc water were statistically lower when the additive was used. There was no statistical difference for the performance and hematological parameters between the groups treated or not with additive. The author concludes that the use of an acidifier additive based on formic acid and lignin derivatives contributes positively to the water quality of a biofloc system.

Keywords: Formic acid, Biofloc, Zootechnical performance, orthophosphoric, Ammonia.

3.1 Introdução

A aquicultura é um dos ramos da produção animal que mais cresce no mundo, contribuindo com mais da metade do pescado consumido, colaborando de forma significativa para geração de emprego e renda (FAO, 2020). No Brasil a tilápia continua sendo a principal espécie produzida, com uma produção de 534.005 toneladas em 2021, consolidando o Brasil como o 4º maior produtor mundial (Anuário Peixe BR, 2022).

Neste contexto, torna-se imperativo observar que a maximização da intensidade dos sistemas produtivos passa pelas boas práticas de produção nos viveiros, onde destacamos um ambiente de cultivo saudável e de qualidade dos alimentos produzidos (Tavechio et al. 2009; Rodrigues et al., 2015). Conforme (Ridha & Azad 2012), os aditivos utilizados na aquicultura têm o propósito de incrementar os índices zootécnicos e controlar o status sanitário dos animais. Com a crescente proibição do uso de antibióticos (promotores de crescimento) na dieta de animais de produção, entre eles, os peixes cultivados, a pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos tornam-se necessárias nesta exploração comercial.

Um dos aditivos que possuem eficiente uso na aquicultura são os acidificantes, baseados em ácidos orgânicos (Burel, 2012). Os ácidos orgânicos utilizados são os ácidos graxos de cadeia curta, como o propiônico e o fórmico e ácidos graxos de cadeia média, como o capróico e caprílico. Sua principal característica funcional é agir na remediação, sendo alguns ácidos mais efetivos contra bactérias (p.ex.: ácido fórmico) e outros ácidos mais efetivos contra fungos (p.ex.: ácido propiônico) (Ricke, 2003).

A remediação possui a capacidade de reduzir a concentração dos agentes patogênicos no ambiente de cultivo como tratamento antagonista a patógenos, reduzindo

o agente causador de perdas produtivas. Os ácidos orgânicos têm uso na remediação através dos efeitos diretos nos parâmetros físicos e químicos, evitando que o ambiente comprometa a saúde animal.

Os ácidos orgânicos mostram resultados positivos como remediadores em ambiente aquático, reduzindo carga bacteriana, e conseqüentemente seja na forma pura ou associado entre eles, reduzindo os riscos de contaminação ambiental. No entanto, mais estudos são necessários para elucidar seus efeitos como remediadores na água de cultivo nos sistemas intensivos e tecnologicamente sustentáveis, como o de bioflocos. Assim, este trabalho objetivou definir uma dose do ácido orgânico, e verificar seu efeito na água do BFT e homeostase da tilápia-do-nilo (*O. niloticus*).

3.2 Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) do Instituto Federal Catarinense – campus Araquari (IFC – Araquari), sob número de protocolo 373-2021, sendo conduzido no Laboratório de Aquicultura (LAq), Instituto Federal Catarinense (IFC), campus Araquari, e Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Neste trabalho foi utilizado o *blend* de ácidos orgânicos (EUROGUARD® SOFT F60, ácido fórmico mín. 500,00 g.kg⁻¹; e derivados de lignina, mín. 75,00 g.kg⁻¹; e veículo). E 160 alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de 3,31 ± 0,06g, provenientes do próprio LAq/IFC.

3.2.1 Teste de inibição por disco difusão em ágar

A capacidade de inibição dos sais orgânicos *in vitro* frente a sete cepas de bactérias patogênicas: *Aeromonas hydrophyla* (isolada na Werg, AHW), *Staphylococcus aureus* (SA), *Citrobacter freundii* (FC), *Aeromonas hydrophila* (AH), *Aeromonas veronii* (AV), *Vibrio alginolyticus* (VA) e *Vibrio parahaemolyticus* foram avaliadas pela metodologia de mínima concentração inibitória (MIC, do inglês *minimum inhibitory concentration*) e através do teste de inibição por disco difusão em ágar.

Os patógenos foram semeados em Ágar Triptona de Soja (TSA) com 3% de concentração de Cloreto de Sódio (NaCl) para bactérias de água salgada e TSA 0% de NaCl para bactérias de água doce. Após uma incubação de 24 horas a 30°C, a massa bacteriana crescida foi transferida com ajuda de uma alça previamente esterilizada e colocada em solução salina estéril para ajustar as concentrações de cada bactéria patogênica de acordo com a escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) através da absorbância com o auxílio de um espectrofotômetro. Posteriormente 100 µL de cada bactéria foi inoculada em uma placa contendo ágar Mueller-Hinton e com ajuda de uma alça de Drigalski o inóculo foi esfregado uniformemente em toda a superfície da placa de Petri (150 mm x 6 mm) até a absorção completa. Em seguida, o ágar foi perfurado formando poços de 0,8 mm de diâmetro e dentro de cada poço foram colocados 50 µL do acidificante. As placas de Petri foram incubadas a 30°C e após 24 horas examinou-se cada placa de Petri para verificar se houve uniformidade no crescimento bacteriano, se havia presença de contaminantes e se o halo de inibição resultantes eram circulares. Os halos de inibição (figura 01) foram medidos em milímetros (mm) com o auxílio de uma

régua, os resultados foram classificados qualitativamente. Sendo descritos como: sensíveis, moderadamente sensíveis ou resistentes aos antimicrobianos utilizados no teste. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

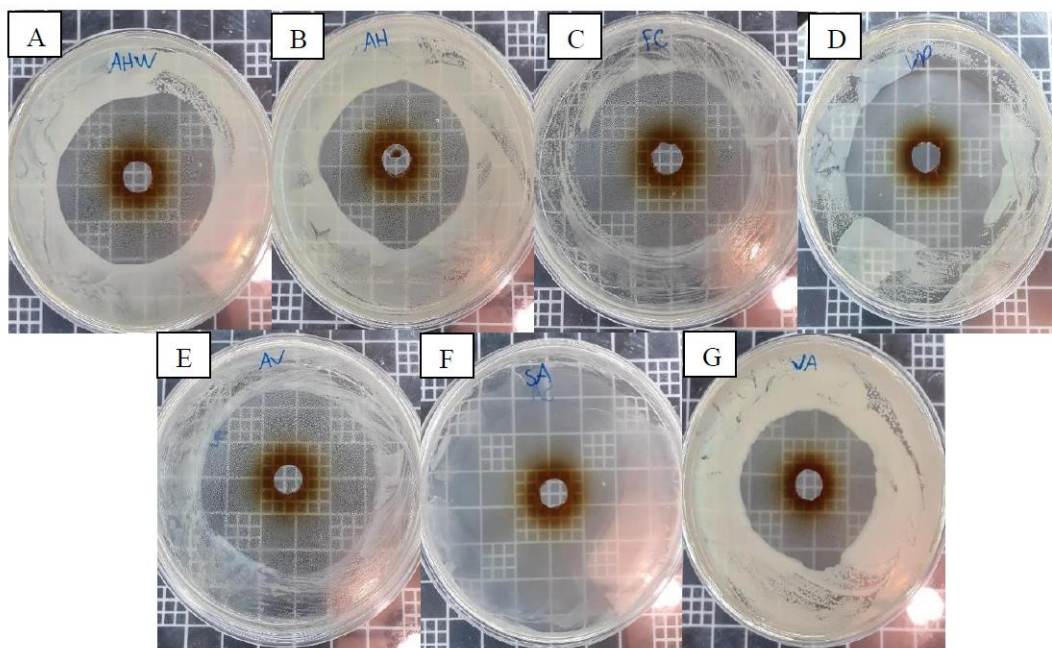


Figura 1. Halos de inibição obtidos com Euroguard frente a diferentes bactérias patôgenas: A) *A. hydrophila* W, B) *A. hydrophila*, C) *C. freundii*, D) *V. parahaemolyticus*, E) *A. veronii*, F) *S. aureus*, G) *V. alginolyticus*

3.2.2 Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O teste para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizado em duas diferentes temperaturas (22°C e 28°C) e incubadas por 24 horas utilizando microplacas de 96 poços, fundo em “U”. Nestas, foram adicionados 100 µL de meio de cultura PWS (do inglês, Salt peptone water- 1% de peptona, 3 % de NaCl, pH 7.4) para os *Vibrios* e PB (do inglês, Poor Broth - 1% de peptona, 0,5% de NaCl, pH 7.4) para as

demais bactérias. Em seguida, foi adicionado 100 µL do acidificante no primeiro poço e realizado diluição seriada em fator 1:2 até o 12º poço. Posteriormente, foram adicionados em todos os poços 20 µL para cada cepa da bactéria patogênica na concentração de 0,5 na escala de Mac Farland. Para os controles foram utilizados somente os meios de cultura, adicionando-se ou não a bactéria patogênica (controle positivo e negativo, respectivamente). Após o período de incubação, o crescimento bacteriano foi analisado pelo método colorimétrico. Para este, foram adicionados 30 µL da solução de Resazurina sódica e a leitura dos resultados foi realizada após 1 hora considerando a concentração imediata ao aparecimento da cor, onde a cor vermelha indica crescimento bacteriano e a cor azul ausência de crescimento. Os testes para cada bactéria patogênica foram realizados em triplicata.

3.2.3 Ensaio de dose-resposta para ácido

Para determinação da dosagem, a próxima etapa foi baseada em um ensaio dose-resposta, onde as dosagens usadas do acidificante foram aplicadas diretamente na água matriz do biofoco (BFT) utilizando as concentrações de 0,0% (0 ppm); 0,00025 % (2,5 ppm); 0,0005 % (5 ppm); 0,0010 % (10 ppm) e 0,002 % (20 ppm).

Foram utilizadas quinze unidades de garrafa PET'S com capacidade para 1 litro, todas as garrafas receberam um sistema de aeração constante e independente, que entrava pela tampa. Todas as garrafas foram encaixadas de cabeça para baixo em uma estrutura de madeira para que fiquem estáveis.

A estrutura apoio das garrafas (Figura 2) foi colocada em banho-maria numa caixa de polietileno (150 L) dispendo de um termostato para manter a temperatura média de

aproximadamente $28,3 \pm 0,17$ °C. A aplicação do produto foi realizada duas vezes, sendo uma no início do teste e outra após 24 horas. Alcalinidade e pH foram mensuradas imediatamente após as aplicações do acidificante.



Figura 2. Estrutura confeccionada para a realização do teste dose-resposta, contendo garrafas PET's com sistema de aeração independente e controle de temperatura através de um “banho-maria”.

3.2.4 Teste *in vivo*

A preparação do biofoco ocorreu nove dias antes do povoamento, onde foi realizado a fertilização da água dos tanques com uma fonte de carbono (açúcar) e ração moída para manutenção da relação carbono: nitrogênio 10:1 (Ebeling et al. 2006. Avnimelech, 1999). Depois de povoado dos peixes, foi mantida uma fertilização fixa também de 10:1 por uma semana, na segunda e terceira semana fertilizou-se três e duas

vezes, respectivamente, durante a semana. Realizou-se também a aplicação de Bicarbonato de sódio (NaHCO_3) duas vezes na semana durante todo o experimento.

As unidades experimentais foram divididas em oito caixas de polietileno com capacidade para 250 L (úteis), sendo cada caixa equipada com aeração constante. As caixas foram divididas aleatoriamente em dois grupos, em quadruplicata. Cada caixa foi povoada com 20 peixes (médio inicial de $3,31 \pm 0,06\text{g}$), sendo a biomassa inicial média de $66,24 \pm 1,22\text{g}$. Quatro unidades receberam uma dose definida na etapa *in vitro* do produto SOFT F60 por m^3 de água e as outras quatro caixas foram do grupo controle. A aplicação do produto SOFT F60 foi diária. Os peixes eram alimentados quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00) com ração comercial atendendo exigência proteica à fase utilizada, sendo realizada uma biometria semanalmente para ajuste da ração e avaliação zootécnica. A reposição de água perdida por evaporação era repostada duas vezes durante a semana.

Para avaliação do ambiente de cultivo foi mensurado diariamente o oxigênio dissolvido (mg/L), temperatura ($^\circ\text{C}$), volume de floco pelo cone de sedimentação Imhoff (mL/L). Semanalmente eram realizadas a verificação da concentração de amônia (NH_3), nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), alcalinidade (CaCO_3), ortofosfato (PO_4^{3-}), condutividade da água (μS) e pH, seguindo protocolos da Alfakit; e os sólidos suspensos totais - SST (mg/L) de acordo com a metodologia descrita em (APHA 1995). A amônia (NH_3) e o pH foram verificados duas vezes durante a semana

3.2.5 Homeostase animal

Após quatro semanas, ao final do experimento, 40 peixes (5 de cada tratamento) foram anestesiados com Eugenol (50 mg L^{-1}), e o sangue foi coletado por venopunção

caudal utilizando seringas com 10% EDTA como anticoagulante, além disso, realizou-se uma biometria final, onde pesou-se e mediu-se cada peixe. Para as análises hematológicas, foram feitas duplicatas de extensões sanguíneas e coradas com MayGrunwald/Giemsa/Wright (Ranzani-Paiva et al. 2013), para contagem diferencial e total de leucócitos, como descrito por (Jatobá et al. 2011). Foi determinado também, o hematócrito e quantificado o número total de eritrócitos em hemocitômetro (Ranzani-Paiva et al. 2013). Os índices hematimétricos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), também foram calculadas.

Após coleta hematológica foi avaliado o peso médio final, sobrevivência, eficiência alimentar aparente, taxa de crescimento específico e produtividade, de todos os tratamentos, de acordo com as fórmulas abaixo.

$$\text{Conversão alimentar aparente} = \left[\frac{(\text{Ração ofertada})}{(\text{Biomassa final} - \text{Biomassa inicial})} \right]$$

$$\text{Sobrevivência}(\%) = \left[\frac{(\text{População inicial} - \text{População final})}{\text{População inicial}} \right] \times 100$$

$$\text{TCE}(\% \cdot \text{dia}^{-1}) = \left[\frac{(\log(\text{peso final}) - \log(\text{peso inicial}))}{\text{dias de cultivo}} \right] \times 100$$

$$\text{Produtividade}(\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}) = \left[\frac{(\text{Biomassa final} - \text{Biomassa inicial})}{\text{volume da unidade experimental}} \right]$$

$$\text{Crescimento semanal}(\text{g} \cdot \text{semana}^{-1}) = \left[\frac{(\text{Média final} - \text{Média inicial})}{\text{Semanas de cultivo}} \right]$$

Adicionalmente foi retirado por laparotomia abdominal o fígado e as vísceras para a pesagem e depois realizado a pesagem do peixe eviscerado, para determinação dos seguintes índices: hepatossomático, IHS = (peso do fígado/peso da carcaça) x 100; viscerossomático, IVS = (peso das vísceras/peso da carcaça) x 100. E A relação peso/comprimento e o fator de condição alométrico foram calculados de acordo com (Santos 1978). A partir dos dados de Lt, Wt e b, foi calculado o fator de condição alométrico (K), de acordo com a equação: $K = Wt/Lt^b$.

3.2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar se a distribuição de dados estava dentro da curva de normalidade, e ao teste de Levene para verificação da homocedasticidade. Os dados obtidos atenderem aos pré-requisitos de normalidade e homocedasticidade, foram submetidos ao teste t Student. Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5% (Zar 2010).

3.3 Resultados e discussão

Teste difusão *in vitro*

O ácido orgânico inibiu todas as bactérias avaliadas (Tabela I). Observou-se um maior halo de inibição (mm) frente a bactéria *S. aureus*, e os menores halos foram obtidos frente a *A. hydrophyla* W e *C. freundii*. Este resultado corrobora com (Mine & Boopathy 2013) que observaram o ácido fórmico como ácido orgânico com maior inibição de bactérias *V. alginolyticus*, *V. cholearae*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*. Em um experimento com artemia, (Defoird et al. 2006), observaram que o efeito do ácido

fórmico, acético, propionico butírico e valérico em meio líquido, inibiram completamente o patógeno *V. campbellii* LMG21363 a uma concentração de 100 mM.

Concentração Mínima Inibitória (CMI)

A CMI variou entre 0,05% a 3,13%, sendo que para a temperatura de 28°C para os patógenos testados, já a 22°C, o produto indicou maior sensibilidade para *S. aureus* com uma concentração de 0,05%. Já para *C. freundii* a concentração inibitória diminuiu para 1,56% e para *A. veronii*, *A. hydrophyla* W e *A. hydrophyla* os resultados foram similares aos obtidos a 28°C (Tabela II). Provavelmente não foi possível obter resultados frente as vibriónáceas em 22 °C, devido a temperatura ser baixa para o seu crescimento.

Tabela I. Halos de inibição (média ± desvio padrão) do crescimento bacteriano.

Bactérias Patogênicas	Halos de inibição (mm)
<i>Aeromonas hydrophyla</i> W	42,00 ± 3,46
<i>Staphylococcus aureus</i>	60,00 ± 5,00
<i>Aeromonas veronii</i>	48,67 ± 2,08
<i>Aeromonas hydrophila</i>	46,33 ± 2,31
<i>Citrobacter freundii</i>	41,00 ± 1,73
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	49,33 ± 1,15
<i>Vibrio alginolyticus</i>	47,67 ± 5,51

Avaliando a inclusão do butirato de sódio na dieta de tilápias, (Jesus 2019) observou através do teste de CMI, que a maior eficácia foi de 0,33±0,14% para *A. hydrophila* e 0,66±0,28% para *S. agalactiae* em pH 6,0, sendo assim, as concentrações indicadas entre 0,25 a 0,50 %.

Tabela II. Teste de concentração inibitória mínima (%) do produto SOFT 60F (60% ácido fórmico 40% e derivados de lignina) frente a bactérias patogênicas.

Bactérias Patogênicas	22 °C	28 °C
<i>Aeromonas hydrophyla</i> W	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,05 ± 0,00	0,10 ± 0,00
<i>Aeromonas veronii</i>	3,13 ± 0,00	3,13 ± 0,00
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,00
<i>Citrobacter freundii</i>	1,56 ± 0,00	3,13 ± 0,00
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	0,10 ± 0,00
<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	0,10 ± 0,00

Ensaio de dose resposta

As doses avaliadas não alteraram significativamente o pH e alcalinidade da água do bioflocos, após aplicação de duas doses consecutivas, não demonstrando efeito acumulativo (Figura 3). Já na contagem de bactérias filamentosas, foi observado uma redução na contagem em todas as doses avaliadas (Figura 4). A dose 2,5ppm mostrou mais favorável para utilização no cultivo, pois além de manter o ambiente equilibrado, inibiu as bactérias filamentosas, provavelmente devido as atividades antibacterianas presente dos ácidos orgânicos (Ricke 2003).

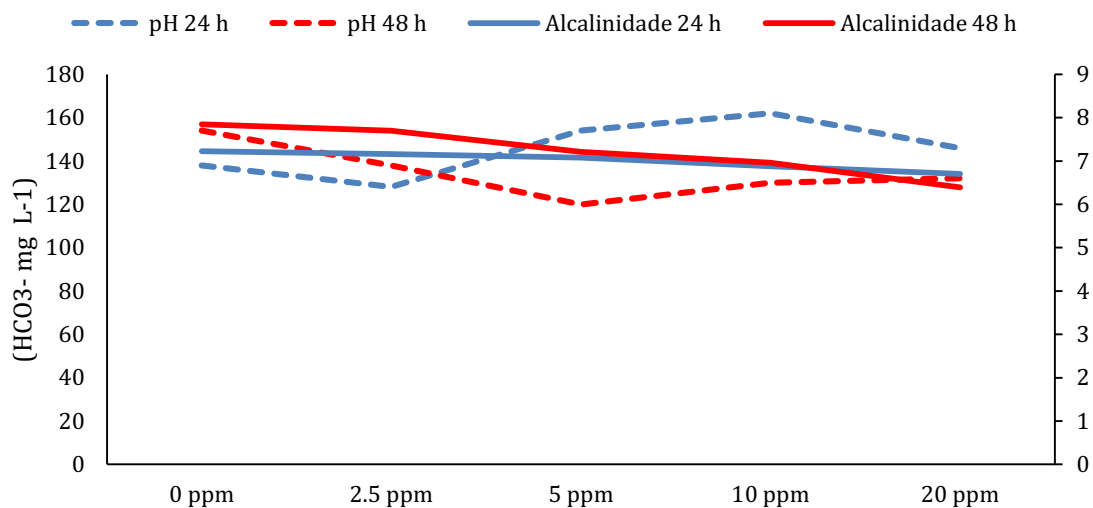


Figura 2. Variação de pH e alcalinidade do 24 e 48 horas após adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina).

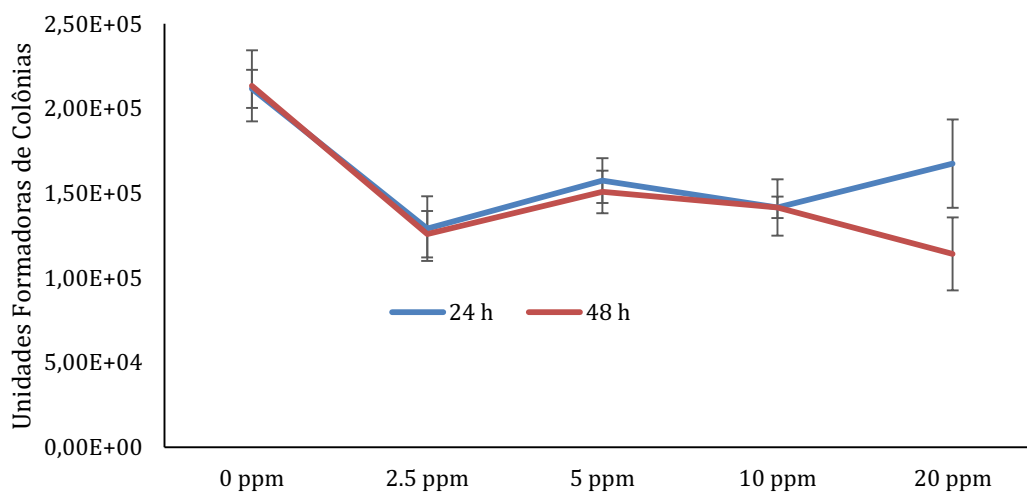


Figura 4. Contagem de bactérias filamentosas na água 24 e 48 horas adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina)

Uma vez que a alteração dos parâmetros não variou bruscamente entre as 24h (pH = $7,16 \pm 0,06$; alcalinidade = $128,00 \pm 29,05$) e 48h (pH = $7,70 \pm 0,05$; alcalinidade = $138,00 \pm 11,14$), mantendo-se resultados compatíveis com a criação de tilápia-do-nylo, além de ser capaz de inibir as bactérias filamentosas devido as atividades antibacterianas (Ricke 2003).

O ensaio dose resposta tem por objetivo estimar, partindo de parâmetros pré-definidos, diferentes concentrações como resultado estabelecido e estável nas fases de resposta ao acidificante avaliado. Através das observações dos resultados obtidos pelo CIM, demonstrou-se que a maior concentração do acidificante apresentou uma inibição de 3,13% para *A. veronii*.

Teste *in vivo* - Qualidade de água

Os valores médios obtidos para os parâmetros de qualidade de água ao longo das quatro semanas de experimentação, divergiram significativamente ($p < 0,05$) no teor de NH_3 , NO_2 , PO_4^{3-} na água, os resultados de todos esses parâmetros (Tabela III) se mostraram menores no tratamento com o remediador. As demais análises não tiveram diferenças significativas.

Tabela III. Parâmetros de qualidade de água em ambiente de cultivo com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) como remediador durante 4 semanas.

Parâmetros de qualidade de água	Controle	Remediador	Significância (p)
Temperatura (°C)	28,83 ± 0,62	28,43 ± 0,74	0,2193
Oxigênio dissolvido (mg. L ⁻¹)	6,90 ± 0,18	7,07 ± 0,20	0,1345
Volume do floco (mL)	4,10 ± 0,72	3,80 ± 1,73	0,3801
Alcalinidade (mg. L ⁻¹)	125,29 ± 12,72	146,33 ± 20,17	0,0640
pH	8,12 ± 0,07	8,14 ± 0,06	0,3075
¹ TAN (mg. L ⁻¹)	0,25 ± 0,07	0,16 ± 0,12	0,1175
² NH ₃ (mg. L ⁻¹)	0,05 ± 0,01*	0,02 ± 0,02*	0,0124
³ NO ₂ ⁻ (mg. L ⁻¹)	13,58 ± 0,92*	8,06 ± 2,41*	0,0104
⁴ NO ₃ ⁻² (mg. L ⁻¹)	51,30 ± 65,38	26,98 ± 20,50	0,2522
⁵ PO ₄ ³⁻ (mg. L ⁻¹)	2,70 ± 0,37*	1,67 ± 0,32*	0,0030
⁶ TSS (mg. L ⁻¹)	102,91 ± 10,32	86,36 ± 18,58	0,0852
Condutividade (μ/S)	2585,63 ± 1693,52	1796,77 ± 71,86	0,1939

¹Total de amônia; ²Amônia tóxica; ³Nitrito; ⁴Nitrato; ⁵Ortofosfato; ⁶Total Sólidos Suspensos
*Indica diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos no teste T.

A alcalinidade está relacionada com a capacidade de neutralização de ácidos, sendo um dos parâmetros importantes a ser considerado quando se trata do controle de pH no ambiente de cultivo. Uma alta alcalinidade (> 100 mg.L⁻¹), concentração recomendada para o sistema de biofloco (Furtado et al. 2014) possui um alto poder de buffer, ou seja, atua como solução tampão impedindo as variações bruscas de pH (Arana 1997).

Esses fatores são importantes quando se considera a utilização de ácidos orgânicos diretamente na água de cultivo dos animais, uma vez que se esses parâmetros não estão controlados podem ser reduzidos bruscamente com a adição de um ácido (pH incompatível com o cultivo) e conseqüentemente afetando negativamente os peixes, podendo levar a morte (Boyd 1990).

Não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) para temperatura, pH conforme descrito por (Kubitza 2011) e oxigênio dissolvido, que durante o período experimental esteve dentro da faixa recomendada para produção de peixes ($> 5 \text{ mg.L}^{-1}$), segundo recomendações de (Vinatea et al. 2010).

Um dos problemas do metabolismo dos microrganismos é a redução da alcalinidade, levando a diminuição do poder tampão do sistema. (Avnimelech 2009), recomenda que a alcalinidade para bioflocos esteja acima de 50 mg.L^{-1} de CaCO_3 . Segundo (Ostrensky & Boeger 1998), quanto maior a alcalinidade da água, mais íons carbonato e bicarbonato estarão presentes e mais difícil será fazer o seu pH variar. No presente estudo, a aplicação do ácido não alterou os parâmetros de alcalinidade sem sobrecarregar o sistema de produção, sendo um indicativo de sua estabilidade e do poder tamponante do mesmo.

Em relação aos compostos nitrogenados, a amônia total (TAN) permaneceu em níveis aceitáveis durante o período experimental. Segundo (Sá 2012) para não causar prejuízos aos peixes, recomenda-se que o nível de NH_3 esteja abaixo de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$. Neste contexto, os resultados encontrados neste trabalho, mostram que a NH_3 do grupo tratado com o remediador não afetou o desempenho dos animais cultivados. Este resultado pode ser explicado pela manutenção dos valores do pH utilizando o remediador,

uma vez que o fator contribuinte para o aumento da sua toxicidade é o aumento do pH. Segundo (Ostrensky & Boeger 1998), para cada unidade de aumento do pH, a quantidade de NH_3 aumenta em 10 vezes na água. Em um estudo conduzido por (Da Silva et al. 2014), não foram observadas variações significativas para NH_3 na engorda experimental de *Litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo de bioflocos, suplementados com butirato de sódio e polihidroxibutirato (PHB). Resultado também observado por (Amorim 2018) utilizando blend de ácidos orgânicos via ração de juvenis de tilápias-do-Nilo cultivados com água oriunda de poço artesiano.

Os níveis de ortofosfato (PO_4^{3-}) apresentaram resultados significativos através da neutralização do grupo do remediador deixando a alcalinidade disponível sem alteração do pH nos dois tratamentos. O fósforo é um elemento chave porque é essencial para a nutrição animal (Steffens 1989). Apresenta características de alta solubilidade e disponibilidade para produtores primários na sua forma inorgânica, e nos sistemas de cultivo, seu maior aporte é via ração e, conseqüentemente, excreção dos animais (Odum & Barrett 2007). Portanto, o fósforo pode contaminar meios aquáticos e causar o crescimento exacerbado de algas, além de elevar a demanda bioquímica de oxigênio, causando diminuição do oxigênio presente na água e alterações no meio, levando à morte de peixes e outros animais (Tundisi & Tundisi 2008).

Ainda neste contexto, com base nos dados do diagnóstico dos serviços de água e esgotos, realizados pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS (2018), apenas 44% do esgoto gerado no Brasil passa por tratamento. A geração de esgoto domésticos e industriais, causa impacto ambiental com aumento da concentração de fósforo nos ecossistemas aquáticos.

Estes resultados sugerem que o ácido utilizado, provavelmente neutralizou o fósforo do sistema, sem interferir no pH ou mesmo na alcalinidade, o que é interessante para sistemas de produção aquícola, em especial o BFT.

Teste *in vivo* – zootecnia e homeostase animal

Estudo realizado por (Reda et al. 2016), que demonstrou melhoras significativas no peso corporal final (PCF), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCS) e conversão alimentar (TCA) utilizando 2,0 kg.ton⁻¹ de uma mistura de ácido fórmico, ácido propiônico e propionato de cálcio em alevinos de tilápia-do-nilo.

Uma mistura de ácidos orgânicos e óleo essencial para tilápia-do-nilo, não apresentou diferenças estatística nos grupos com suplementação para contagem de eritrócitos, leucócitos, hematócritos, hemoglobina, trombócitos, linfócitos e neutrófilos, a suplementação não causou nenhuma alteração (Silva et al. 2018), corroborando com os dados encontrados nesta pesquisa, apensar da aplicação (água e dieta) divergirem entre os trabalhos.

Os efeitos não significativos para os parâmetros zootécnicos e hematológicos sugerem uma segurança na aplicação do blend de ácidos orgânicos testados, pois o produto atuou no ambiente sem interferir na assimilação de nutrientes ou perfil hematológico dos peixes, sugerindo a manutenção da homeostase animal

Tabela IV. Desempenho zootécnico e parâmetros corporais de Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivado em ambiente com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) como remediador.

Parâmetros	Controle	Remediador	Significância (p)
Sobrevivência (%)	0,85 ± 0,05	0,78 ± 0,25	0,3094
Peso médio final (g)	15,18 ± 1,79	17,97 ± 5,75	0,2305
Ganho semanal (g.sem ⁻¹)	3,96 ± 0,59	4,91 ± 1,94	0,2289
Conversão alimentar	1,09 ± 0,17	1,03 ± 0,15	0,3551
TCE (%.dia ⁻¹)	3,14 ± 0,23	3,48 ± 0,72	0,2410
Produtividade (kg.m ⁻³)	1,03 ± 0,12	0,99 ± 0,00	0,3961
Índice hepatossomático (%)	3,76 ± 0,33	3,82 ± 0,29	0,4398
Índice vicerossomático (%)	11,71 ± 1,36	11,55 ± 1,38	0,4617
Fator de condição (k)	1,01 ± 0,02	1,00 ± 0,02	0,4893

Tabela V. Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em ambiente de cultivo com adição de ácidos orgânicos (50% ácido fórmico 7,5% derivados de lignina) na água do cultivo.

Parâmetros	Controle	Remediador	Significância (p)
Contagem total e diferencial			
Trombócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	5,45 \pm 1,94	7,27 \pm 0,89	0,1589
Leucócitos totais ($\times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	10,04 \pm 2,59	9,96 \pm 1,28	0,4133
Linfócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	9,45 \pm 2,09	9,40 \pm 1,19	0,4882
Basófilos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0,06 \pm 0,11	0,17 \pm 0,08	0,1376
Monócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0,01 \pm 0,04	0,01 \pm 0,05	0,1226
Neutrófilos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0,00 \pm 0,03	0,01 \pm 0,02	0,3088
Eosinófilos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,01	0,3791
Índices Hematimétricos			
Eritrócitos ($\times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0,97 \pm 0,36	1,00 \pm 0,14	0,4518
Hematocrito (%)	31,70 \pm 0,14	31,35 \pm 7,28	0,4744
Hemoglobina (g/dL ⁻¹)	9,40 \pm 1,30	13,18 \pm 5,02	0,2392
Proteínas plasmáticas totais (mg. L-1)	1039,87 \pm 4,45	1037,30 \pm 3,96	0,2611
Volume Corpuscular Médio (10 ⁴ .fL)	3,34 \pm 1,18	3,78 \pm 3,15	0,2746
Hemoglobina Corpuscular Média (10 ⁴ .pg)	0,97 \pm 0,45	1,01 \pm 0,40	0,4711
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g.dL ⁻¹)	2,86 \pm 0,40	3,54 \pm 0,02	0,2594

3.4 Conclusão

Ácido orgânico Euroguard F60 aplicada na água do bioflocos na concentração de 2,5 ppm, provou-se favorecer a redução da amônia tóxica, nitrito e ortofosfato, conseqüentemente melhorando o ambiente de cultivo. A concentração pode ser utilizada continuamente sem comprometer a performance do animal, assim como, não alterando a homeostase dos peixes. Futuros estudos devem ser realizados para compreender sua utilização em outros ambientes de cultivos, assim como definir seu potencial remediador de outros corpos aquáticos, como efluentes industriais e esgotos domésticos.

3.5 Referências do artigo

- BUREL, C. 2012. Alternatives to antimicrobial growth promoters in animal feeds. In: FINK-GREMMELS, J. Animal feed contamination: Effects on livestock and food safety, (Ed.), Woodhead Publishing es in Food Science, Technology and Nutrition, N°215, Sawston Cambridge, UK, p 432-448.
- RODRIGUES, R, MEURER, F, BOSCOLO, WR. 2015. Aditivos en la nutrición de peces. Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA, v. 7, n. 2, p. 228-236.
- RIDHA, M.T., AZAD, I.S. 2012. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. *Aquaculture Research*, 43 (6): 843- 852.
- ANUÁRIO PEIXE-BR 2022. São Paulo: Associação Brasileira de Piscicultura, 2022. Anual
- FAO. 2020. Situação Mundial da Pesca e Aquicultura 2020. Sustentabilidade em ação. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229en> 18-07-21
- EBELING JM, TIMMONSMB, BISOGNI, J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, V. 257, n. 1-4, p. 346-358.
- AVNIMELECH Y. 2009. Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. *Aqua-cultural Engineering*, V. 34, n. 3, p. 172-178.
- RANZANI-PAIVA MJT. 2013. PÁDUASB; TAVARES-DIASM, EGAMIMI. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, p 140.
- ZAR JH.. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5. ed. Upper Saddle River, N.J: Prentice Hall.
- FURTADO PS., GAONACA P., POERSCHLH. WASIELESKYW. 2014. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*, V. 22, n. 3, p. 1009-1023.
- BOYD CE. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Auburn: Alabama Agricultural Experiment Station, 482 p.

- RICKE, Sc. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, V. 82, n. 4, p. 632-639.
- KUBITZAF. 2011. *Tilápia tecnologia e planejamento na produção comercial*. 2. ed. Jundiaí - Sp - Brasil: Editado Pelo Autor, 316 p.
- VINATEA L. 2010. *Qualidade da água em aquicultura: princípios e práticas*. 3. ed. Florianópolis: Editora da UFSC.
- AVNIMELECH, Y., KOCHBA, M. Oof nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio flocc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture*, v. 287, 163-168, 2009
- OSTRENSKY, A., BOEGER, W. 1998. *Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo*, Guaíba: Agropecuária.
- SÁ, M. V. C. 2012. *Limnocultura: Limnologia para aquicultura*. Fortaleza: Edições UFC, wue, 218 p.
- DA SILVA, B ET AL. 2014. Sais orgânicos como aditivos alimentares para camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.
- AMORIM, DB. 2018. Interações de níveis de ácidos orgânicos e de proteína digestível das dietas no desempenho e eficiência de utilização de nutrientes para tilápia do Nilo.
- MINE, S, & BOOPATHY, R. 2013. Effect of Organic Acids on Shrimp Pathogen, *Vibrio harveyi*. *Current Microbiology*, 63, 1-7. doi:10.1007/s00284-011-9932-2
- DEFOIRDT, T ET AL. 2006. Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Aquaculture*, v. 261, n. 2, p. 804-808.
- SANTO SEP. 1978. *Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura*. *Hucitec / Edusp*, São Paulo, SP, 129p.
- ARANA, LUIS VINATEA. 1997. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisao para peixes e camarões*. Florianópolis: Ed. da Ufsc, 166 p.
- JATOBÁ, A.; VIEIRA, F.N.; BUGLIONENETO, C.C. et al. 2011. Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. *Fish Physiol. Biochemi.*, v.37, p.725-732.
- JESUS, GABRIEL FERNANDES ALVES et al. 2019. Suplementação dietária com butirato de sódio no cultivo de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*.
- STEFFENS, W. 1989. *Principles of Fish Nutrition*. Ellis Horwood, Chichester, London, UK. 384p
- TUNDISI, J.G.; TUNDISI, T.M. 2008. *Limnologia*. São Paulo: Oficina de Textos, 631p.

SNIS. SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. 2018. Diagnóstico dos Serviços de água e esgotos.

ODUM, E. P.; BARRETT, G.W. 2007. Fundamentos da Ecologia. Thompson Pioneira, 5.ed, 612p.

REDA, RASHA M.; MAHMOUD, RANIA; SELIM, KHALED M.; EL-ARABY, IMAN E.. 2016. Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, V. 50, p. 255-262, 2016.

SILVA, Kennya Addam Gomes et al. 2018. Mistura de ácidos orgânicos e óleo essencial para *Oreochromis niloticus*.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19. ed. Washington, D.C: Apha/Awwa/Wef.

AVNIMELECH, YORAM. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, V. 176, n. 3-4, p. 227-235

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a realização deste trabalho, verificou-se um grande número de artigos científicos sobre o uso de aditivos acidificantes com administração via ração, entretanto os estudos de ácidos atuando como remediadores, são bem escassos, o que dificultou a comparação e discussão dos dados.

Este trabalho apresentou um desafio maior, pois os acidificantes usados neste experimento foram aplicados diretamente na água de cultivo. Os estudos desta prática na aquicultura ainda são incipientes para finalidade. Desta forma, realizou – se algumas repetições do ensaio dose resposta para obtenção de resultados eficientes e condizentes com o cultivo da tilápia-do-nilo.

Alguns dados não conseguiram ser devidamente analisados pela falta de disponibilidade de tempo, como os da análise de metagenômica inseridos no anexo.

Em virtude da pandemia, os serviços de laboratório externo ficaram prejudicados pela falta de pessoal ou por operacionalidade. Em virtude disso, as análises que realizamos sofreram atrasos consideráveis, o que conseqüentemente acarretou o atraso da confecção desta dissertação.

5. REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19. ed. Washington, D.C: Apha/Awwa/Wef, 1995.

AMORIM, DB. 2018. **Interações de níveis de ácidos orgânicos e de proteína digestível das dietas no desempenho e eficiência de utilização de nutrientes para tilápia do Nilo**, 2028.

ANIMAL BUSINESS BRASIL, 2019. <https://animalbusiness.com.br/producao-animal/criacao-animal/tilapia-o-segundo-peixe-mais-consumido-do-mundo/>. Acesso: 18-07-21

ANUÁRIO PEIXE-BR 2021. São Paulo: **Associação Brasileira de Piscicultura**, 2021.

ANUÁRIO PEIXE-BR 2022. São Paulo: Associação Brasileira de Piscicultura, 2022.

ARANA, LUIS VINATEA. Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. Florianópolis: **Ed. da Ufsc**, 166 p, 1997.

AVNIMELECH Y. Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. **Aqua-cultural Engineering**, V. 34, n. 3, p. 172-178, 2009.

AVNIMELECH, Y., KOCHBA, M. Oof nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. **Aquaculture**, v. 287, 163-168, 2009

AVNIMELECH, YORAM. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, V. 176, n. 3-4, p. 227-235, 1999.

BANERJEE, G., & RAY, A. K. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. **Research in Veterinary Science**, 115, 66–77, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>

BOYD CE. Water Quality in Ponds for Aquaculture. **Auburn: Alabama Agricultural Experiment Station**, 482 p, 1990.

BUREL, C. Alternatives to antimicrobial growth promoters in animal feeds. In: FINK-GREMMELS, J. Animal feed contamination: Effects on livestock and food safety, (Ed.), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, N°215, **Sawston Cambridge**, UK, pp 432-448, 2012.

BYRD, J. A. et al. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on Salmonella and Campylobacter contamination of broilers. **Poultry science**, v. 80, n. 3, p. 278-283, 2001.

CAVALHEIRO, A.C.M.; CASTRO, M.L.S.; EINHARDT, M.D.S.; POUEY, J.L.O.F.; PIEDRAS, S.N.; XAVIER, E.G. Microingredientes utilizados em alimentação de peixes em cativeiro – Revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** 109: 11-20, 2014.

DA SILVA, BRUNO CORÊEA et al. **Sais orgânicos como aditivos alimentares para camarão marinho *Litopenaeus vannamei***, 2014.

DA SILVA, BRUNO CORRÊA et al. Dietary supplementation with butyrate and polyhydroxybutyrate on the performance of pacific white shrimp in biofloc systems. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 47, n. 4, p. 508-518, 2016.

Davidson, P. M. Chap. 29. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. Pages 593–627 in Food Microbiology—Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. M. P. Doyle, L. R. Beuchat, and T. J. Montville, ed. **American Society for Microbiology**, Washington, DC, 2001.

DEFOIRDT, T ET AL. Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Aquaculture**, v. 261, n. 2, p. 804-808, 2006.

DEFOIRDT, T., D. HALET, H. VERVAEREN, N. BOON, T. V. WIELE, P. SORGELOOS, P. BOSSIER, AND W. VERSTRAETE. The bacterial storage compound poly-b-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Environmental Microbiology** 9(2):445–452, 2007.

EBELING JM, TIMMONSMB, BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, V. 257, n. 1-4, p. 346-358, 2006.

EMBRAPA. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-noticia/53738345/artigo-o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado>. Acesso: 15-08-21, 2020.

FAO (Brasil) <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1371997/> 18-07-21

FAO. 2020. **Situação Mundial da Pesca e Aquicultura 2020**. Sustentabilidade em ação . Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229en> 18-07-21.

FURTADO PS., GAONACA P., POERSCHLH. WASIELESKYW. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). **Aquaculture International**, V. 22, n. 3, p. 1009-1023, 2014.

GONÇALVES, A. A. Tecnologia do pescado: Ciência. **Inovação e Legislação**, v. 608, 2011.

JATOBÁ, A.; VIEIRA, F.N.; BUGLIONENETO, C.C. et al. Diet supplemented with probiotic for Nile tilapia in polyculture system with marine shrimp. **Fish Physiol. Biochem.**, v.37, p.725-732, 2011.

JESUS, GABRIEL FERNANDES ALVES et al. **Suplementação dietária com butirato de sódio no cultivo de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus***, 2019.

KUBITZAF. **Tilápia tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí - Sp - Brasil: Editado Pelo Autor, 316 p, 2011.

LUCKSTADT C. The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, **Nutrition and Natural Resources**, 3(044), 1-8, 2008.

LÜCKSTÄDT, C. Acidifiers in aquaculture prove beneficial. **Feed Mix**, vl.14, n.3, p.1-2, 2006.

MAKRIDIS, P.; COSTA, R.A.; DINIS, M.T. Microbial conditions and antimicrobial activity in cultures of two microalgae species, *Tetraselmis chuii* and *Chlorella minutissima* and effect on bacterial load of enriched *Artemia* metanauplii. **Aquaculture**, v.255,p.76–81, 2006.

MINE, S, & BOOPATHY, R. Effect of Organic Acids on Shrimp Pathogen, *Vibrio harveyi*. **Current Microbiology**, 63, 1-7. doi:10.1007/s00284-011-9932-2, 2013.

NAYLOR, RL; GOLDBURG, RJ; PRIMAVERA, JH *et al.* Efeito da aquicultura na oferta mundial de pescado. **Natureza**, v.405, p.1017-1024, 2000.

ODUM, E. P.; BARRETT, G.W. **Fundamentos da Ecologia**. Thompson Pioneira, 5.ed, 612p, 2007.

OSTRENSKY, A., BOEGER, W. **Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo**, Guaíba: Agropecuária. 1998.

RANZANI-PAIVA MJT. PÁDUASB; TAVARES-DIASM, EGAMIMI. Métodos para análise hematológica em peixes. **Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá**, p 140, 2013.

REDA, RASHA M.; MAHMOUD, RANIA; SELIM, KHALED M.; EL-ARABY, IMAN E.. 2016. Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, V. 50, p. 255-262, 2016.

RICKE, SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poult Sci.** 82:632–9. doi: 10.1093/ps/82.4.632, 2003.

RIDHA, M.T., AZAD, I.S. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. **Aquaculture Research**, 43 (6): 843- 852, 2012.

RODRIGUES, R, MEURER, F, BOSCOLO, WR. Aditivos en la nutrición de peces. **Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA**, v. 7, n. 2, p. 228-236, 2015.

RUI, Bruno Rogério. Uso do ácido fórmico no controle de Salmonella Enteritidis em frangos de corte experimentalmente infectados. 2014.

SÁ, M. V. C. **Limnocultura: Limnologia para aquicultura**. Fortaleza: Edições UFC, wue, 218 p, 2012.

SANTANA, E.S.; OLIVEIRA, F.H.; BARNABÉ, A.C.S.; MENDES, F.R.; ANDRADE, M.A. Uso de Antibióticos e Quimioterápicos na Avicultura. **Enciclopédia Biosfera**, 7:1-21. 2011.

SANTO SEP. **Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura**. Hucitec / Edusp, São Paulo, SP, 129p, 1978.

SILVA, Kenya Addam Gomes et al. **Mistura de ácidos orgânicos e óleo essencial para Oreochromis niloticus**, 2018.

SNIS. SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. **Diagnóstico dos Serviços de água e esgotos**, 2018.

STEFFENS, W. **Principles of Fish Nutrition**. Ellis Horwood, Chichester, London, UK. 384p, 1989.

TAVECHIO, Washington Luiz Gomes; GUIDELLI, Gislaine; PORTZ, Leandro. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 2, p. 335-341, 2018.

TUNDISI, J.G.; TUNDISI, T.M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 631p, 2008.

VINATEA L. **Qualidade da água em aquicultura: princípios e práticas**. 3. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

ZAR JH.. **Biostatistical Analysis**. 5. ed. Upper Saddle River, N.J: Prentice Hall, 2010

ANEXOS

CEUA



CERTIFICADO Nº 822 / 2021 - CUBS/ARA (11.01.02.39)

Nº do Protocolo: 22349.003280/2021-04

Araquari-SC, 20 de agosto de 2021.

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO
INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE, CAMPUS ARAQUARI
CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação de biocontroladores e biorremediadores em cultivo de biofocos" de protocolo número " 373/2021" sob a responsabilidade de "Adolfo Jatobá Medeiros Bezerra" que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de Pesquisa encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 08 de Outubro de 2008, do Decreto 6.899 de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais IFC-Araquari em reunião de "18/08/2021".

Vigência do projeto:	01/09/2021 a 31/12/2022
Espécie/Unidade:	Peixes/Tilápia-do-nilo
Nº de Animais:	600 animais
Peso/Idade:	10g /1-3 meses
Sexo:	Não Especificado
Origem:	Laboratório de Aquicultura - IFC Araquari

OBS:

https://sig.ifcc.edu.br/ijep/protocolo/documento/documento_visualizar

Em caso de não execução do projeto, deve ser solicitada a retirada do mesmo em até 60 dias após a emissão do parecer conforme orientação disponível em <http://araquari.ifcc.edu.br/ceua/>
60 dias após a execução do projeto, deve ser submetido relatório final para avaliação do comitê conforme regimento do CEUA Artigo 25 §4:
§ 4º. O proponente de um projeto/protocolo deve, ao final da execução do mesmo, encaminhar à CEUA/IFC o relatório final contendo informações básicas baseando-se nos itens descritos no formulário de submissão. O não envio de relatório de projeto/protocolos já concluídos implicará na não aprovação de novos projeto/protocolos do mesmo proponente.

Elizabeth Schwieger

Médica Veterinária (CRMVRS 10058)

Prof. EBITT (Slape nº 1048884)

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais do IFC - Campus Araquari
Portaria nº 247/2018/Reitoria

(Protocolo digitalizado em 20/08/2021 14:42)

ELIZABETH SCHWIEGER
MÉDICA VETERINÁRIA TÍTULO TECNOLÓGICO
CRMVMS (11.01.02.18)
Particula: 1048884

Para verificar a autenticidade deste documento acesse em <https://sig.ifcc.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 822, ano: 2021, tipo: CERTIFICADO, data de emissão: 20/08/2021 e o código de verificação: 202448e42f

Resultados de Metagenômica da água

Gráfico 1. Escala multi-dimensional (MDS) de diversidade dos perfis microbianos da água de cultivo de tilápias-do-nilo (*O. niloticus*) em bioflocos com ou sem a presença do remediador (ácido orgânico).

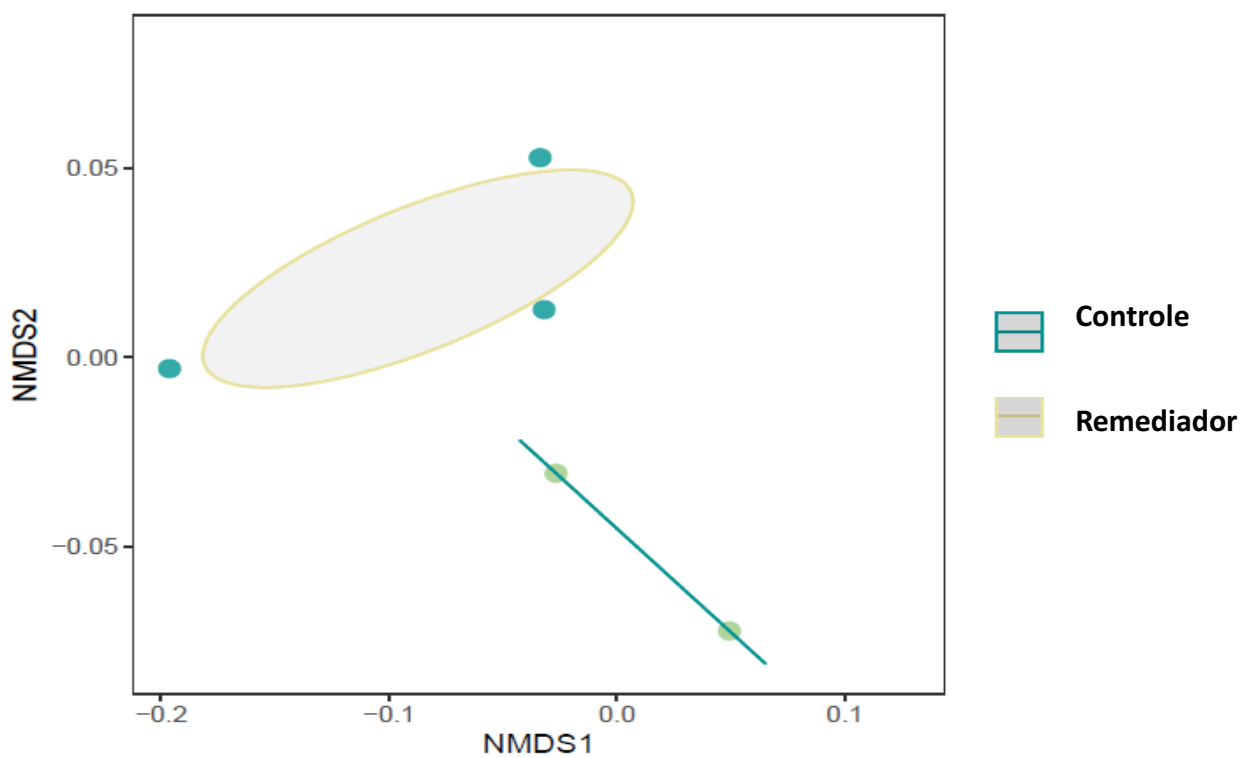


Gráfico 2. Diversidade dos perfis microbianos da água de cultivo de tilápias-do-nilo (*O. niloticus*) em bioflocos com ou sem a presença do remediador (ácido orgânico).

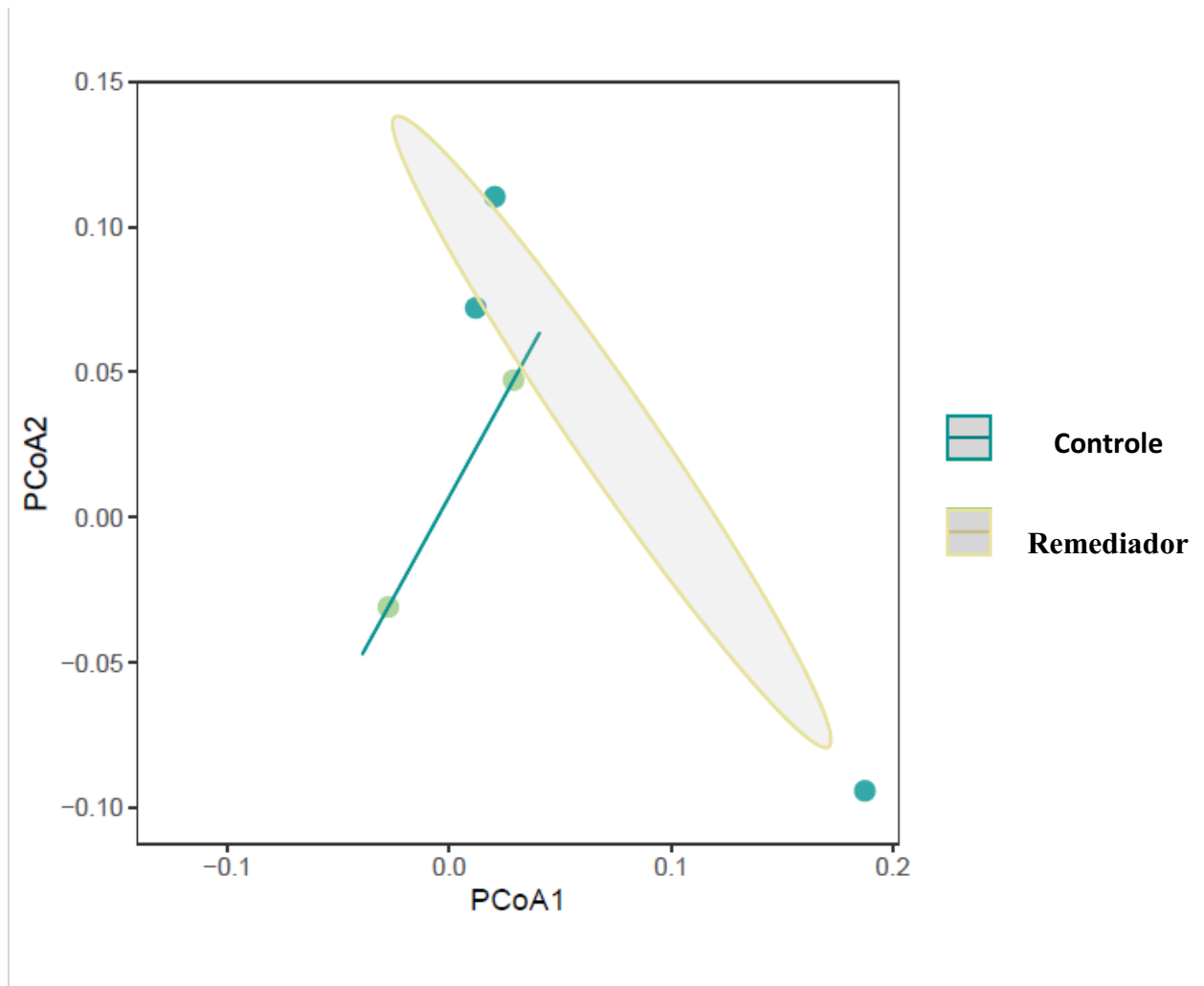


Gráfico 3. Riqueza dos perfis microbianos da água de cultivo de tilápias-do-nilo (*O. niloticus*) em bioflocos com ou sem a presença do remediador (ácido orgânico).

