



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA

DAVID NUNES AGUIAR BRUZACA

**Desempenho da *Daphnia magna* (Straus, 1820) cultivada em efluente de Tilápia do Nilo
cultivada em sistema de bioflocos com diferentes relações C:N**

Recife
2019

DAVID NUNES AGUIAR BRUZACA

**Desempenho da *Daphnia magna* (Straus, 1820) cultivada no efluente de Tilápia do Nilo
em sistema de bioflocos com diferentes relações C:N**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção de título
de Bacharel em Engenharia de Pesca pelo curso
de Bacharelado em Engenharia de Pesca da
Universidade Federal Rural de Pernambuco –
Campus Sede.

Orientador: Profº. Dr. Alfredo Olivera Gálvez

Recife

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586c Bruzaca, David Nunes Aguiar.

Desempenho da *Daphnia magna* (Straus, 1820) cultivada em efluente de Tilápia do Nilo cultivada em sistema de bioflocos com diferentes relações C:N / David Nunes Aguiar Bruzaca. – Recife, 2019. 31 f.: il.

Orientador(a): Alfredo Olivera Gálvez.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. Cladócero 2. Bioflocos 3. *Daphnia* 4. Efluente I. Gálvez, Alfredo Olivera, orient. II. Título

CDD 639

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA

**Desempenho da *Daphnia magna* (Straus, 1820) cultivada em efluente de Tilápia do Nilo
cultivada em sistema de bioflocos com diferentes relações C:N**

David Nunes Aguiar Bruzaca

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para
a obtenção de título de Bacharel em
Engenharia de Pesca pelo curso de
Bacharelado em Engenharia de Pesca da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco – Campus Sede. Defendido
e aprovado em 25/01/2019 pela seguinte
Banca Examinadora.

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez- Orientador

[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco-Sede]

M.a Jessika Lima de Abreu- Titular

[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco-Sede]

M.a Laenne Bárbara Silva de Moraes- Titular

[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco-Sede]

M.a Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos- Suplente

[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco-Sede]

Resumo

Na aquicultura, os sistemas com mínima troca de água vêm como alternativa para um cultivo sustentável. A tecnologia de bioflocos (BFT), que consiste na formação de agregados microbianos através da manipulação da relação carbono: nitrogênio do meio, é uma opção na redução da emissão de efluentes. Entretanto, o acúmulo de resíduos nitrogenados e fosfatados ao longo de vários ciclos de cultivo nesse sistema acaba causando impactos significativos com a liberação do efluente no meio ambiente. Com isso, a *Daphnia magna*, que é um microcrustáceo da família dos cladóceros que se beneficia da matéria orgânica presente no ambiente aquático, pode ser utilizada para a biorremediação deste efluente. O cultivo deste microcrustáceo é realizado tradicionalmente em sistema de água clara com adição da microalga *Chlorella vulgaris* em sua dieta. Com isso, o presente trabalho objetiva avaliar o desempenho da *D. magna* cultivada em águas efluente do sistema BFT em diferentes relações carboidrato:nitrogênio com a inoculação da microalga *C. vulgaris* e suplementação com ração. O experimento foi realizado com seis tratamentos em triplicatas baseados em dois fatores, sendo eles: Relação C:N (10:1, 15:1 e 20:1) e Ração (com adição (R) ou sem adição (SR)). As variáveis de qualidade de água: temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹), salinidade (g.L⁻¹), pH, nitrito NO₂ (mg.L⁻¹), amônia NH₃ (mg.L⁻¹), dureza e alcalinidade foram medidas ao longo do cultivo. Já para as variáveis de crescimento foram verificadas: taxa de crescimento específico (TCE); tempo de duplicação (TD), densidade média máxima (DMX), rendimento (R) e dia de máxima densidade (DMD). Para as variáveis pH, temperatura, TDS, Salinidade, Amônia, Nitrito e Dureza não houveram diferenças significativas ($p > 0,05$) durante todo o cultivo. Quanto ao Oxigênio Dissolvido houve diferença significativa para o fator relação e para a interação entre os fatores ração e relação. Houve diferença significativa também quando tratada a alcalinidade para o fator ração, o fator relação e para a interação entre eles, com média variando entre 50,93 e 80,37. O pH, Oxigênio dissolvido e a temperatura foram favoráveis para o desenvolvimento adequado do cladóceros. Apesar de apresentar diferenças estatísticas apenas para o fator relação, as DMX estiveram entre 1001 ± 283 e 3433 ± 267 org.L⁻¹. Os dias de máxima densidade foram 12º, 14º e 18º dias. O tratamento 10SR propiciou maior densidade média máxima de *Daphnia magna*, no 14º dia de cultivo, além de apresentar valores de TCE, TD e R superiores aos demais tratamentos. Contudo, todos os tratamentos possibilitaram o crescimento do cladóceros, comprovando que o uso do efluente é uma alternativa à produção de alimento vivo.

Palavras-chave: Cladóceros; Bioflocos; *Daphnia*; Efluente

Abstract

In aquaculture, systems with minimum water exchange are an alternative to sustainable farming. Biofloc technology (BFT), which consists of the formation of microbial aggregates through the manipulation of the carbon: nitrogen ratio of the culture medium is an option in reducing the emission of effluents. However, the accumulation of nitrogen and phosphate residues over several crop cycles in this system ends up causing significant impacts with the release of effluent into the environment. Therefore, *Daphnia magna*, which is a microcrustacean of the cladoceran family that benefits from the organic matter present in the aquatic environment, can be used for the bioremediation of this effluent. The cultivation of this microcrustacean is traditionally carried out in a clear water system with the addition of the microalgae *Chlorella vulgaris* in its diet. In this way, the present work aims to evaluate the performance of *D. magna* cultivated in effluent waters of the BFT system in different carbohydrate: nitrogen ratios with the inoculation of *C. vulgaris* microalgae and fish feed supplementation. The experimentation is done with six treatments in triplicates based on two factors, being : Ratio C: N (10: 1, 15: 1 e 20: 1) and Feed (with addition of fish feed (R) or without addition of fish feed (SR)). The variables of water quality: temperature (°C), dissolved oxygen (mg.L⁻¹), salinity (g.L⁻¹), pH, NO₂ (mg.L⁻¹), TAN (mg.L⁻¹), hardness and alkalinity were measured throughout the culture. The specific growth rate (TCE), doubling time (TD), maximum mean density (DMX), yield (R) and day of maximum density (DMD) were verified for the growth variables. To the variables pH, temperature, Salinity, TAN, Nitrite and Hardness there were no significant differences ($p > 0.05$) throughout the culture. Regarding dissolved oxygen there was a significant difference for the ration factor and for the interaction between the ration and feed factors. There was also a significant difference when the alkalinity was treated for the ration factor, the feed factor and for the interaction between them, with an average of 50.93 and 80.37. The pH, dissolved oxygen and temperature were favorable for the proper development of the cladoceran. Although there were statistical differences only for the ration factor, the DMXs were between 1001 ± 283 and 3433 ± 267 org.L⁻¹. The days of maximum density were 12°, 14° and 18° days. The 10SR treatment provided a higher average maximum density of *Daphnia magna* on the 14th day of cultivation, besides showing TCE, TD and R values higher than the other treatments. However, all treatments allowed the growth of the cladoceran, proving that the use of the effluent is an alternative to the production of live food.

Keywords: Cladoceran; Bioflocs; *Daphnia*; Effluent

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crescimento da <i>D. magna</i> cultivada em efluente proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em bioflocos com diferentes relações C:N e com adição ou não de ração.....	20
Figura 2- Análise de componentes principais para a resposta das variáveis em relação ao cultivo de <i>D. magna</i> cultivada em efluente proveniente do cultivo de tilápia em bioflocos com adição ou não de ração.....	22

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Média, valores mínimos e máximos das variáveis de qualidade de água no cultivo de <i>D. magna</i> utilizando efluente proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração.	19
Tabela 2 - Média $\pm$ desvio padrão das variáveis de crescimento no cultivo de <i>D. magna</i> utilizando efluente proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração	20
Tabela 3 - Valores de correlação de entre variáveis de crescimento e qualidade de água no cultivo de <i>D. magna</i> utilizando efluente proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração.....	21

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO	10
2. METODOLOGIA	14
3. RESULTADOS	18
4. DISCUSSÃO.....	22
5. CONCLUSÃO	25
6. BIBLIOGRAFIA.....	26

1. INTRODUÇÃO

Em 2016, um pico de 171 milhões de toneladas na produção global de pescado foi registrado, onde cerca de 47% deste total foram provenientes da aquicultura (FAO, 2018). Segundo a FAO (2018), entre os anos de 2011 e 2016 a aquicultura obteve o crescimento anual de 5,8% e se destaca entre os principais setores de produção de alimento com um dos maiores índices de crescimento anual. Com o desenvolvimento do setor, novas tecnologias têm sido implantadas para maior sucesso na produção de organismos aquáticos e otimização no uso dos recursos naturais.

Um dos exemplos, quando se fala do desenvolvimento do setor aquícola, é o sistema de bioflocos, que surgiu como alternativa para reduzir o lançamento de efluentes no meio ambiente e aumentar a biossegurança nas unidades produtivas. Isso se deve a reduzida troca de água do sistema que por sua vez é propiciada pelo equilíbrio da comunidade microbiana (Azim and Little, 2008; Luo et al., 2014; Lima et al., 2015). A tecnologia destaca-se pelos bons resultados produtivos para diferentes espécies como *Oreochromis niloticus* (Wambach, 2013; Lima et al., 2015) e *Macrobrachium rosenbergii* (Frozza et al., 2013) por exemplo. Este sistema é caracterizado pela formação de agregados microbianos (leveduras, bactérias, protozoários, fitoplâncton e zooplâncton), induzidos através da manipulação da relação C:N do sistema, variando de 10 a 20:1 (Avnimelech, 2012). Desta forma, diferentes relações C:N induzem a diferentes microbiotas e distintos grupos bacterianos (autotróficos e heterotróficos), onde a predominância dos diferentes grupos varia de acordo com a relação C:N estabelecida no sistema (Ebeling, 2006). Esta comunidade microbiana permite que o nitrogênio gerado pelos alimentos não consumidos e excretas dos organismos seja convertido em biomassa protéica, voltando a ser disponibilizado no cultivo para esses mesmos organismos como alimento (Day et al., 2016).

Apesar dos benefícios trazidos pelo sistema de bioflocos, após sucessivos ciclos há a formação de efluentes com elevadas concentrações de nitrato, fósforo e matéria orgânica (Emereciano et al., 2017). E com o surgimento desta problemática foram desenvolvidos métodos onde se utilizam organismos filtradores e assimiladores de nutrientes, como microalgas (Souza et al., 2015), macroalgas (Carneiro, 2007), moluscos (Proença, 2010) e microcrustáceos (Pau et al., 2013), para biorremediação desses efluentes. Visto a necessidade de aproveitamento deste efluente e a vasta gama de opções a serem utilizadas como biorremediadores, podemos destacar os microcrustáceos que por sua vez podem contribuir no tratamento da água e na nutrição animal.

Um dos principais fatores que determinam o sucesso da produção de espécies aquáticas é a nutrição, que contribui no desenvolvimento da espécie em cativeiro. Visto que na maioria das espécies a oferta de alimento vivo é indispensável, principalmente nas fases iniciais de vida, pois os lipídeos e ácidos graxos essenciais presentes neste alimento atuam no fornecimento de energia, nos mecanismos de defesa e nos componentes da membrana celular (Fereidouni et al., 2013), além de auxiliar no aumento da sobrevivência bem como no crescimento e maturação sexual das espécies cultivadas (Ocampo, 2010).

Para suprir esta necessidade de alimento vivo, principalmente em peixes e crustáceos, podem ser ofertados organismos planctônicos, dentre esta vasta diversidade temos como exemplo os cladóceros (Lavens e Sorgeloos, 1996). Ordem esta que é representada por microcustáceos componentes do zooplâncton comumente conhecidos como pulgas-d'água, entre os cladóceros encontra-se o gênero *Daphnia*, que é composto por aproximadamente 100 espécies, sendo as mais populares a *D. magna*, *D. pulex*, *D. longispina* e *D. similis* (Ebert, 2005). As espécies do gênero são abundantes em ambientes com altas concentrações de matéria orgânica, onde elas podem utilizar bactérias, leveduras e microalgas como alimento (Ocampo et al., 2010).

Segundo Lavens e Sorgeloos (1996) o conteúdo nutricional desses cladóceros está diretamente relacionado às suas fontes de alimento, os integrantes do gênero *Daphnia* apresentam relevante conteúdo nutricional, em peso seco: proteínas (50%), lipídios (20-27%), ácidos graxos essenciais (4,2%), (Hoff e Snell, 2004) vitaminas e enzimas que atuam no intestino de larvas de peixes. Além disso, sua produção se destaca, pois estes cladóceros apresentam rápida reprodução e ciclo de vida curto facilitando a obtenção de biomassa (Otero et al., 2013). Um dos alimentos comumente fornecidos aos cladóceros são as microalgas (Hoff and Snell, 2004).

A *Chlorella vulgaris* é uma das microalgas mais utilizadas para a alimentação destes cladóceros, não apenas pelo seu tamanho ideal, facilidade de cultivo e crescimento acelerado (Lourenço, 2006), mas também por possuir um conteúdo nutricional significativo: teor de proteína maior que 40% (Matosi et al., 2015) e alta concentração de ácidos graxos, cerca de 10% em peso seco (Villarruel-López et al., 2017), onde, da quantidade total de ácidos graxos, 40,8% corresponde aos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (Tibbetts et al., 2017).

Além da dieta algal podem ser adicionados outros suplementos como a ração para peixes por exemplo. Sipaúba-Tavares e Bachion (2002) relataram que a dieta algal

suplementada com ração para peixes solubilizada aumentou os níveis de proteína na composição nutricional do cladóceros *Moina micrura* alcançando valores próximos a 70% de proteína, já Buratini e Aragão (2012), com *Daphnia similis*, observaram que a utilização da dieta com ração solubilizada manteve a sobrevivência estável em cerca de 90% até a oitava geração cultivada.

Estas características enriquecem os microcrustáceos que por sua vez transportam estes nutrientes para as espécies em cultivo, propiciando o aumento na resposta imune, a melhoria no desenvolvimento larval de peixes e crustáceos e conseqüentemente uma maior eficiência produtiva (Chiu et al., 2015).

Aliar as características do efluente proveniente do sistema de bioflocos com a possibilidade de utilizá-la como meio para a produção de *Daphnia* pode ser uma alternativa para a diminuição da carga de nutrientes do efluente. Campos (2017) trabalhou utilizando o efluente do cultivo de tilápia em sistema de bioflocos (C:N 12:1) para o cultivo da *D. similis* e identificou que o uso do biofloco associado à microalga *C. vulgaris* obteve melhores resultados de crescimento e que apenas o floco como alimento não foi capaz de proporcionar grandes crescimentos.

Dentro deste contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a produção de *Daphnia magna* com a oferta de *Chlorella vulgaris* e ração na dieta em diferentes relações C:N do efluente de cultivo de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos. Em 2016, um pico de 171 milhões de toneladas na produção global de pescado foi registrado, onde cerca de 47% deste total foram provenientes da aquicultura (FAO, 2018). Segundo a FAO (2018), entre os anos de 2011 e 2016 a aquicultura obteve o crescimento anual de 5,8% e se destaca entre os principais setores de produção de alimento com um dos maiores índices de crescimento anual. Com o desenvolvimento do setor, novas tecnologias têm sido implantadas para maior sucesso na produção de organismos aquáticos e otimização no uso dos recursos naturais. Um dos exemplos, quando se fala do desenvolvimento do setor aquícola, é o sistema de bioflocos, que surgiu como alternativa para reduzir o lançamento de efluentes no meio ambiente e aumentar a biossegurança nas unidades produtivas (Pierri, 2012). Isso se deve a reduzida troca de água do sistema que por sua vez é propiciada pelo equilíbrio da comunidade microbiana (Azim and Little, 2008; Luo et al., 2014; Lima et al., 2015).

A tecnologia de bioflocos destaca-se pelos bons resultados produtivos para diferentes espécies como *Oreochromis niloticus* (Wambach, 2013; Lima et al., 2015) e *Macrobrachium*

rosenbergii (Frezza et al., 2013) por exemplo. Este sistema é caracterizado pela formação de agregados microbianos (leveduras, bactérias, protozoários, fitoplâncton e zooplâncton), induzidos através da manipulação da relação C:N do sistema, variando de 10 a 20:1 (Avnimelech, 2012). Desta forma, diferentes relações C:N induzem a diferentes microbiotas e distintos grupos bacterianos (autotróficos e heterotróficos), cuja predominância irá variar de acordo com a relação C:N estabelecida no sistema (Ebeling, 2006). Esta comunidade microbiana permite que o nitrogênio, gerado pelos alimentos não consumidos e pelas excretas dos organismos, seja convertido em biomassa protéica, voltando a ser disponibilizado no cultivo como alimento (Day et al., 2016).

Apesar dos benefícios trazidos pelo sistema de bioflocos, após sucessivos ciclos há a formação de efluentes com elevadas concentrações de nitrato, fósforo e matéria orgânica (Emereciano et al., 2017). Sendo assim, foram desenvolvidos métodos onde se utilizam organismos filtradores e assimiladores de nutrientes, como microalgas (Souza et al., 2015), macroalgas (Carneiro, 2007), moluscos (Proença, 2010) e microcrustáceos (Pau et al., 2013), para biorremediação desses efluentes de cultivo. Tendo em vista a necessidade de tratar o efluente e a possibilidade de utilizá-lo como meio para a produção de microcrustáceos, surge uma alternativa interessante, tanto para o aproveitamento desta água residual quanto para a nutrição desses organismos. Dentre os microcrustáceos, destacam-se os cladóceros (Lavens e Sorgeloos, 1996), representados pelo gênero *Daphnia*, que é composto por aproximadamente 100 espécies, sendo as mais populares a *D. magna*, *D. pulex*, *D. longispina* e *D. similis* (Ebert, 2005). Essas espécies são abundantes em ambientes com altas concentrações de matéria orgânica, utilizando-se de bactérias, leveduras e microalgas como alimento (Ocampo et al., 2010).

A *Daphnia* é utilizada como alimento vivo, principalmente para peixes e crustáceos, nos estágios iniciais de vida (Lavens e Sorgeloos, 1996), sendo este um dos principais fatores que determinam o sucesso da produção de espécies aquáticas, pois os lipídeos presentes neste alimento fornecem energia e ácidos graxos essenciais que atuam nos mecanismos de defesa e nos componentes da membrana celular (Fereidouni et al., 2013), além de auxiliar no aumento da sobrevivência bem como no crescimento e maturação sexual das espécies cultivadas (Ocampo, 2010). Segundo Lavens e Sorgeloos (1996) o conteúdo nutricional desses cladóceros está diretamente relacionado às suas fontes de alimento, apresentando relevante conteúdo nutricional, em peso seco: proteínas (50%), lipídios (20-27%), ácidos graxos essenciais (4,2%) (Hoff e Snell, 2004) vitaminas e enzimas que atuam no intestino de larvas

de peixes. Além disso, possuem características que otimizam sua produção como, rápida reprodução e ciclo de vida curto facilitando a obtenção de biomassa (Otero et al., 2013). Dentre os alimentos fornecidos aos cladóceros, sobressaem-se as microalgas (Hoff and Snell, 2004).

Em meio a tantas espécies de microalgas, uma das mais utilizadas para a alimentação de *Daphnia* é a *Chlorella vulgaris*, não apenas pelo seu tamanho ideal, facilidade de cultivo e crescimento acelerado (Lourenço, 2006), mas também por possuir um conteúdo nutricional significativo: teor de proteína maior que 40% (Matosi et al., 2015) e alta concentração de ácidos graxos, cerca de 10% em peso seco (Villarruel-López et al., 2017), onde, da quantidade total de ácidos graxos, 40,8% corresponde aos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (Tibbetts et al., 2017). Além da dieta algal podem ser adicionados outros suplementos, como a ração para peixes, por exemplo. Sipaúba-Tavares e Bachion (2002) relataram que a dieta algal suplementada com ração para peixes solubilizada aumentou os níveis de proteína na composição nutricional do cladóceros *Moina micrura* alcançando valores próximos a 70% de proteína. Enquanto Buratini e Aragão (2012) observaram que a utilização da dieta com ração solubilizada manteve a sobrevivência estável em cerca de 90% até a oitava geração de *Daphnia similis*. Estes alimentos enriquecem os microcrustáceos que por sua vez transportam os nutrientes para as espécies em cultivo, propiciando aumento na resposta imune, melhoria no desenvolvimento larval e consequentemente maior eficiência produtiva (Chiu et al., 2015).

Dentro deste contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a produção de *Daphnia magna* em diferentes relações C:N da água residual do cultivo de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) em sistema de bioflocos, com a oferta de *Chlorella vulgaris* e suplementação de ração na dieta.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Produção de Alimento Vivo (LAPAVI), localizado Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Delineamento experimental

O experimento teve duração de 30 dias seguindo o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados contando com três tratamentos: I - água proveniente do

cultivo de tilápia em bioflocos de com relação C:N de 10:1; II - água proveniente do cultivo de tilápia em bioflocos de com relação C:N de 15:1; e III - água proveniente do cultivo de tilápia em bioflocos de com relação C:N de 20:1 e dois blocos (A- com adição de ração 40% PB; e B – sem adição de ração 36% PB) com três repetições para cada interação tratamento-bloco, perfazendo um total de 18 unidades experimentais para as seis interações. 1) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 10:1 com inoculação de microalga *Daphnia magna* e adição de ração (10R); 2) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 10:1 com inoculação de microalga *C. vulgaris* e sem adição de ração(10SR); 3) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 15:1 com inoculação da microalga *C. vulgaris* e adição de ração (15R); 4) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 15:1 com inoculação da microalga *C. vulgaris* e sem adição de ração (15SR); 5) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 20:1 com inoculação da microalga *C. vulgaris* e com adição de ração (20R); 6) Cultivo de *Daphnia magna* em sistema de bioflocos C/N 20:1 com inoculação da microalga *C. vulgaris* e sem adição de ração (20SR). A relação carbono:nitrogênio não foi mantida ao longo do cultivo.

Efluente e distribuição nas unidades experimentais

Foi utilizada água proveniente de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos com diferentes relações carboidrato:nitrogênio, onde a fonte de carbono utilizada foi o melaço. A proporção C:N foi de 10:1, 15:1 e 20:1 como sugerido na metodologia de Samocha et al. (2007) e Avnimelech (2009). O cultivo das tilápias teve duração de 62 dias, este foi realizado com densidade de estocagem de 40 ind.m⁻³ e temperatura de aproximadamente 27°C durante todo o cultivo. O arrazoamento foi feito com 5% da biomassa e o pH foi ajustado para cerca de 7.5 com bicarbonato de sódio (NaHCO₃). Os sólidos sedimentáveis dos tratamentos 10:1, 15:1 e 20:1 foram de 20, 60 e 80 ml L⁻¹, respectivamente, com alcalinidades de 135, 120 e 100 mg CaCO₃ L⁻¹, respectivamente.

Para o cultivo da *D. magna* o efluente foi diluído e a alcalinidade ajustada para aproximadamente 60 mg CaCO₃L⁻¹ (ABNT, 2016) de forma que fossem atendidas as condições ideais para o crescimento da espécie. Sendo assim, o volume de biofoco utilizado nos três tratamentos foi misturado à água doce clara previamente tratada com cloro (2 mL L⁻¹), desclorada e aerada por três dias antes do uso. A diluição variou de acordo com a relação C: N, utilizando aproximadamente 30-40% do volume do tanque (3 a 4 L tanque⁻¹) de

bioflocos e aproximadamente 70-60% do volume (7 a 6 L tanque⁻¹) de água clara com alcalinidade 20 mg CaCO₃ L⁻¹, totalizando um volume de 10 L tanque⁻¹.

Qualidade de água

As variáveis físico-químicas temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e pH foram aferidas diariamente, utilizando multiparâmetro MultiProbe System 5565 YSI. Nitrogênio amoniacal total (NAT) (Koroleff, 1976), nitrito (NO₂) (Golterman et al., 1978) e dureza (mg L⁻¹ de CaCO₃) (APHA, 2005), foram verificados três vezes ao longo do cultivo; enquanto a alcalinidade foi monitorada duas vezes por semana (APHA, 2005).

Cultivo da *Chlorella vulgaris*

A microalga *Chlorella vulgaris* foi cultivada em meio de cultura Provasoli (Provasoli, 1968), contendo em µmol L⁻¹: 1235000 NaNO₃, 69431.5 C₃H₇Na₂O₆P.H₂O, 66892.3 C₁₀H₁₄N₂O₈Na₂.2H₂O, 24760 Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O, 48520 H₃BO₃, 550 FeCl₃.6H₂O, 3030 MnCl₂.4H₂O, 550 ZnCl₂, 6.3 CoCl₂.6H₂O, 2.21 cyanocobalamina e 6.14 biotina.; utilizando 1.0 mL L⁻¹ do meio de cultura em cada unidade experimental. O cultivo foi realizado em sistema semi-contínuo, fotoperíodo integral e intensidade luminosa de aproximadamente 40 µmol m⁻²s⁻¹.

Preparo da ração

A ração para peixe contendo 40% de proteína bruta foi solubilizada, dissolvendo os nutrientes da ração na água. A mesma foi macerada e colocada em béquer com água destilada sob forte aeração durante o período de sete dias a uma concentração de 10g L⁻¹. Após este período, o sobrenadante foi retirado e condicionado em recipiente de vidro âmbar à 4°C, com validade de sete dias.

Cultivo da *D. magna*

O cultivo foi realizado em tanques de 10L de volume útil, com densidade inicial de 6 ind L⁻¹ (Buratini e Aragão, 2012), totalizando 60 indivíduos por tanque com aeração constante e fotoperíodo de 12C:12E. A reposição e drenagem da água foram realizadas conforme evaporação e aumento do volume ao adicionar a microalga.

A oferta de *C. vulgaris* para a *D. magna* ocorreu na fase exponencial de crescimento da microalga, diariamente no mesmo horário ao longo de todo o período de cultivo, à uma concentração de 3.2 x 10⁶ cél mL⁻¹ ind⁻¹ (Buratini e Aragão, 2012). Enquanto a oferta de ração foi de 0,05 mL.ind⁻¹.dia⁻¹ de acordo com Buratini e Aragão (2012).

A contagem dos organismos foi realizada a cada dois dias por método volumétrico onde se retiraram amostras homogêneas de 2L de cada unidade experimental, densidades menores que 250 indivíduos foram contados um a um e maiores que 250 indivíduos foram contados com auxílio de uma pipeta graduada de 10 mL de acordo com metodologia de Manso (2007).

Variáveis de crescimento da *D.magna*

Para a avaliação do crescimento da espécie foram verificados densidade média máxima (DMX), sendo a densidade máxima de organismos obtida no cultivo (ind L⁻¹), e dia de máxima densidade (DMD), o dia de maior número de organismos no cultivo. Assim como, calculou-se taxa de crescimento específico (TCE), tempo de duplicação (TD) e rendimento (R), utilizando as seguintes equações (Otero et al., 2013):

$$TCE = \frac{LnNt1 - LnNt0}{t1} * 100$$

onde:

Nt1: Número final de indivíduos

Nt0: Número inicial de indivíduos

t1: Dia de máxima densidade

$$TD = \frac{Ln2}{k}$$

Onde:

Ln2: Logaritmo natural de 2

k: Taxa de crescimento específico (TCE)

$$R = \frac{Nt1 - Nt0}{t1}$$

onde:

Nt1: Número final de indivíduos

Nt0: Número inicial de indivíduos

t1: Dia de máxima densidade

Análise estatística

Os dados do experimento foram avaliados quanto à normalidade e homogeneidade, pelos testes de Lilliefors Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Os dados normais foram submetidos à ANOVA fatorial, seguido do teste de Tukey, ao nível de significância de 0,05. Para os dados não normais aplicou-se o teste não paramétrico de Friedman. Aplicou-se o teste de correlação de Pearson aos dados de qualidade de água e de crescimento da *D. magna*, bem como realizou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA) com os dados previamente logaritmizados ($\log x+1$). O software de análise estatística utilizado foi o R 3.4 (R Core Team, 2015; Gross and Ligges, 2015; Wickham, 2016).

3. RESULTADOS

Qualidade de água

As variáveis físico-químicas da água mantiveram-se na faixa ideal de cultivo para a espécie, onde o valor médio de pH variou em torno de 7,5, o de oxigênio dissolvido entre 3,65 e 4,18 mg L⁻¹ e de temperatura em torno de 26 ± 1 °C. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis pH e temperatura. Com relação ao OD, houve diferença significativa ($p<0,05$) para o fator relação e para a combinação dos dois fatores (Ração x Relação), onde valores mais elevados foram encontrados no tratamento 10SR (4,18 ± 0,55 mg L⁻¹) e inferior nos tratamentos 15SR (3,65 ± 0,68 mg L⁻¹) e 20SR (3,78 ± 0,67 mg L⁻¹) (Tabela 1).

Para as variáveis químicas NAT e NO₂ e Dureza não houve diferenças significativas ($p>0,05$). O NAT variou de 0,146 a 0,406 mg L⁻¹ entre os tratamentos, o NO₂ variou de 0,142 a 0,832 mg L⁻¹, enquanto a Dureza variou de 75 a 133,33 mg CaCO₃ L⁻¹, em média. Já para a alcalinidade houve diferença significativa ($p<0,05$) tanto para o fator ração quanto relação e para a combinação dos dois fatores, onde maiores valores foram encontrados nos tratamentos 15R e 20R, sendo eles 80,37 e 71,85 mg CaCO₃ L⁻¹, respectivamente, já os tratamentos com menores valores foram os com relação de 10:1 com e sem adição de ração onde se obteve 50,93 e 51,67 CaCO₃ L⁻¹, respectivamente(Tabela 1).

Tabela 1. Média, valores mínimos e máximos das variáveis de qualidade de água no cultivo de *D. magna* utilizando efluente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração.

C:N	pH	T (°C)	OD (mgL ⁻¹)	NAT(mgL ⁻¹)	NO2(mgL ⁻¹)	Alcalinidade (mg CaCO3 L ⁻¹)	Dureza (mg CaCO3 L ⁻¹)
10SR	7,58 (6,80- 7,83)	26,99 (26,25- 27,57)	4,18 (2,72- 5,25)	0,333 (0-2,0)	0,142 (0-0,50)	51,67 (35- 85)	79 ,167 (50- 150)
10R	7,56 (7,04- 7,8)	26,27 (26,09- 27,41)	3,85 (2,44- 5,20)	0,146 (0- 0,25)	0,660 (0- 2,80)	50,93 (30- 90)	91,667 (50- 150)
15SR	7,51 (6,41- 7,94)	26,98 (26,54- 27,52)	3,65 (2,15- 5,10)	0,208 (0-0,5)	0,378 (0-1,80)	53,15 (40- 80)	75 (50- 150)
15R	7,57 (6,51- 7,99)	26,97 (26,06- 27,47)	3,82 (2,55- 4,83)	0,406 (0-2,0)	1,505 (0- 2,80)	80,37 (35- 150)	120,833 (50- 150)
20SR	7,51 (6,71- 7,86)	26,97 (26,8- 27,45)	3,78 (2,25- 5,18)	0,146 (0- 0,25)	0,253 (0- 1,75)	60,18 (50- 90)	133,3 (50 - 200)
20R	7,53 (7,16- 7,89)	26,96 (26,48- 27,51)	3,92 (2,30- 5,16)	0,232 (0- 1,0)	0,832 (0- 2,80)	71,85 (50- 110)	87,5 (50 -100)
Ração	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
Relação	ns	ns	*	ns	ns	*	ns
Ração x Relação	ns	ns	*	ns	ns	*	ns

Variáveis submetidas ao teste não paramétrico de Friedman ($p < 0.05$) onde "ns" indica a não diferenças significativas encontradas e "*" indica diferenças significativas. Apenas as variáveis Alcalinidade e OD foram submetidas à ANOVA fatorial seguido do teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0.05$).

Crescimento da *D. magna*

Ao avaliar as variáveis de crescimento, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos no fator relação (Tabela 2), com maiores valores de DMX para o tratamento 10SR ($3,433 \pm 267$ ind L⁻¹) e menor para o 20SR ($1,011 \pm 283$ ind L⁻¹). Os maiores valores de TCE e R foram obtidos no tratamento 10SR, $0,453 \pm 0.6$ % dia⁻¹ e 245 ± 19 ind L⁻¹ dia⁻¹, respectivamente. Enquanto o tratamento 20SR obteve o menor valor de TCE com $28,3 \pm 1,6$ % dia⁻¹ e o tratamento 20R obteve o menor valor de R com 46 ± 18 ind L⁻¹ dia⁻¹. O tempo de duplicação seguiu a mesma tendência das outras variáveis, com destaque para os tratamentos 10R e 10SR(Tabela 2).

Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão das variáveis de crescimento no cultivo de *D. magna* utilizando efluente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração.

C:N	DMX (org L ⁻¹)	TCE (% dia ⁻¹)	TD (dia)	R (org L ⁻¹ dia ⁻¹)	DMD
10R	1211 $\pm$ 455	0,439 $\pm$ 0,029	0,825 $\pm$ 0,066	100 $\pm$ 38	12°
10SR	3433 $\pm$ 267	0,453 $\pm$ 0,6	0,791 $\pm$ 0,012	245 $\pm$ 19	14°
15R	2817 $\pm$ 1483	0,336 $\pm$ 0,033	1,095 $\pm$ 0,100	148 $\pm$ 70	18°
15SR	2100 $\pm$ 200	0,325 $\pm$ 0,5	1,123 $\pm$ 0,016	116 $\pm$ 11	18°
20R	1522 $\pm$ 937	0,301 $\pm$ 0,032	1,204 $\pm$ 0,103	46 $\pm$ 18	18°
20SR	1011 $\pm$ 283	0,283 $\pm$ 0,016	1,262 $\pm$ 0,056	55 $\pm$ 15	18°
Ração	ns	ns	ns	ns	
Relação	*	*	*	*	
Ração x Relação	*	ns	ns	*	

Variáveis submetidas à ANOVA fatorial seguido do teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0.05$) onde o "ns" indica que não há diferenças significativas e "*" indicando diferenças significativas.

O dia de máxima densidade (DMD) foi alcançado no 12° dia para o tratamento 10R e no 14° dia para o tratamento 10SR, para os demais tratamentos o DMD foi alcançado no 18° dia (Tabela 2) com tendência ao declínio logo após (Figura 1).

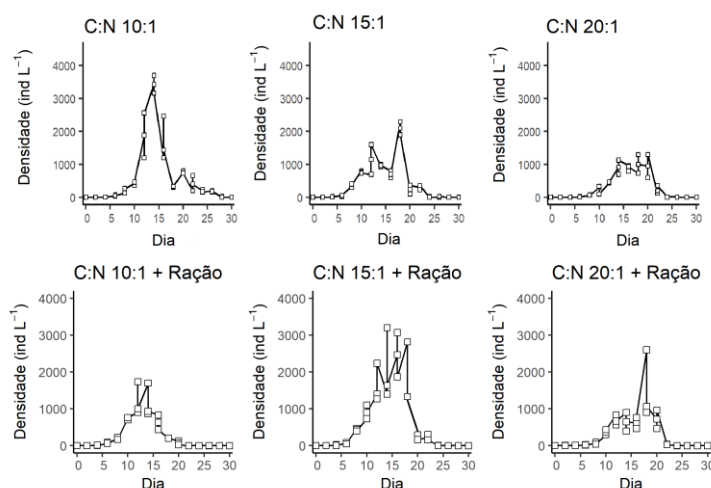


Figura 1. Crescimento da *D. magna* cultivada em efluente proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em bioflocos com diferentes relações C:N e com adição ou não de ração.

Avaliando as possíveis correlações existentes das variáveis de qualidade de água com as variáveis de crescimento da *D. magna*, observou-se que a dureza influenciou inversamente a Densidade populacional, TCE e R, obtendo correlações de -0,63 ($p=0,0049$), -0,61 ($p=0,0076$) e -0,69 ($p=0,0016$), respectivamente. O NO_2 , a alcalinidade e a dureza influenciaram diretamente o TD com correlações de 0,70 ($p=0,0011$), 0,62 ($p=0,0062$) e 0,48 ($p=0,042$), respectivamente. As demais variáveis físico-químicas não demonstraram correlações significativas ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de correlação de entre variáveis de crescimento e qualidade de água no cultivo de *D. magna* utilizando efluente do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N como meio de cultura associado a oferta ou não de ração.

	NO2	NAT	Dureza	Alcalinidade	pH	Temperatura	OD
Densidade	0,008	0,36	-0,63**	0,23	0,14	0,24	0,15
TCE	-0,10	-0,008	-0,61**	-0,41*	0,16	0,16	0,30
TD	0,70**	0,39	0,48*	0,62**	0,083	-0,18	-0,028
Rendimento	-0,094	0,25	-0,69**	0,035	0,17	0,26	0,26

As variáveis foram submetidas ao teste de correlação de Pearson.

* Correlação significativa com $p<0,05$

**Correlação significativa com $p<0,01$

*** Correlação significativa com $p<0,001$

A partir da análise de componentes principais (PCA) foi observado um grau de explicação de 60% da variação dos dados. Essa proporção cumulativa foi dividida entre duas componentes, onde a PC1 representou cerca de 35,5% da variação dos dados e a PC 2 cerca de 24,6%. As variáveis, TCE (-0,38), Dureza (0,44), Rendimento (0,43) e Densidade (-0,38) foram melhor explicadas pela primeira componente principal (PC1); já as variáveis NO_2 (-0,37), NAT (-0,48), TD (-0,38), pH (-0,37) e temperatura (-0,22) foram melhor explicadas pela segunda componente principal (PC2) (Figura 3). Maiores valores de TCE, Rendimento e densidade foram encontrados nos tratamentos sem a adição de ração, em contra partida maiores valores de Dureza, TD, Alcalinidade, NO_2 e NAT foram encontrados nos tratamentos com a adição da ração.

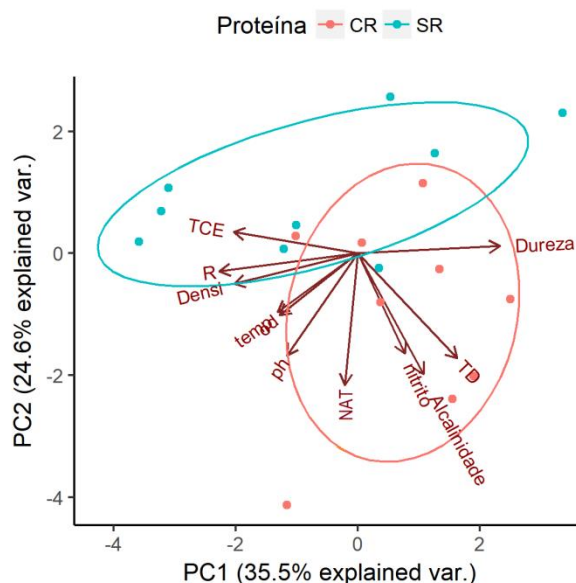


Figura 2. Análise de componentes principais para a resposta das variáveis em relação ao cultivo de *D. magna* cultivada em efluente proveniente do cultivo de tilápia em bioflocos com adição ou não de ração.

4. DISCUSSÃO

A utilização de águas residuais do cultivo de tilápia do Nilo em diferentes relações C:N e a adição de ração influenciaram em alguns dos parâmetros de qualidade de água. Essas alterações foram verificadas pelas diferenças estatísticas relatadas para as variáveis OD e alcalinidade (Tabela 1), propiciadas tanto pelas diferentes relações C:N utilizadas quanto a adição da ração no cultivo, que por sua vez refletiram no desempenho da *D. magna*. O oxigênio dissolvido variou dentro do intervalo ideal para a espécie (Hoff and Snell, 2004), mesmo sendo verificada uma diminuição do mesmo de acordo com o aumento da relação C:N, devido ao maior desenvolvimento de bactérias heterotróficas que competem por espaço, nutrientes e oxigênio, além do aumento da matéria orgânica na unidade de cultivo por conta da maior quantidade de carbono presente no sistema (Luo et al., 2013; Silva et al., 2017).

Da mesma maneira, a alcalinidade manteve-se nos padrões aceitáveis para a espécie (Jin et al., 1991). Os valores mais elevados de alcalinidade foram nos tratamentos onde houve adição de ração e com maiores concentrações de carbono (15R e 20R) (Tabela 1), o que se deve possivelmente a dominância de bactérias heterotróficas, as quais consomem uma menor quantidade de alcalinidade (3.57 g) (Ebeling et al., 2006) quando comparado as bactérias nitrificantes (7.07 g) (Chen et al., 2006; Silva et al., 2017), na produção de biomassa

microbiana para um grama de NAT, já que altas concentrações de carbono diminuem a taxa de nitrificação (Ebeling et al., 2006). Assim, as relações menores que 20:1 podem permitir uma manutenção mais equilibrada dessas duas comunidades microbianas, onde foram encontrados menores valores de alcalinidade.

Quanto às demais variáveis de qualidade de água (temperatura, pH, dureza, NAT e NO_2) apesar de não terem apresentado diferenças significativas também influem sobre o crescimento da *Daphnia*. O pH (Tabela 1) manteve-se na faixa ideal para o cultivo de *Daphnia* em todos os tratamentos, variando de 7.2 a 7.6 (Beatrici, 2004). Da mesma forma para outros cladóceros, como a *Moina micrura*, podendo tolerar um pH de até 9.0 sem afetar significativamente o seu crescimento (Stockmann, 2012). Já com a temperatura Martínez-Jerónimo (2012) cita que temperaturas próximas à 25 °C, permitem maior número médio de ovulações, com início no 6º dia de cultivo, enquanto que à 20 °C reproduzem-se a partir do 8º dia e possuem menor taxa de crescimento. Do mesmo modo, as variações nos valores de NAT e NO_2 , ficaram dentro dos padrões aceitáveis para o cultivo de espécies do gênero, já que esta consegue tolerar níveis de 15 a 20 mg L⁻¹ de amônia total (Hoff and Snell, 2004) e até 2 mg L⁻¹ de nitrito (Xiang et al., 2012). Portanto, temperatura, NAT, NO_2 e pH no presente estudo, não afetaram o crescimento da *D. magna*.

Já os valores médios de dureza da água, no presente estudo, enquadram-se na faixa de 50 a 150 mg CaCO_3 L⁻¹ sendo classificadas como moderadamente dura (Boyd, 2015), contudo o tratamento 20SR alcançou valores máximos de aproximadamente 200 mg CaCO_3 L⁻¹, ou seja uma água dura, o que pode ter influenciado na reprodução da *D. magna*, visto que essa variável possui uma interferência muito grande sobre a fertilidade das fêmeas e a taxa de produção de neonatos, onde valores próximos a 80 mg CaCO_3 L⁻¹ apresentam melhores resultados quando comparados com concentrações de 37 e 169.5 mg CaCO_3 L⁻¹ (Maranho and Nieweglowski, 1995).

A dieta ofertada para a *Daphnia* é também um fator importante para o seu crescimento. Segundo Darmawan (2014) estes são organismos filtradores não seletivos que podem se alimentar de fitoplâncton, bactérias, ciliados e detritos presentes no sistema de bioflocos. Esses agregados microbianos podem atingir níveis de proteína e de lipídios de 38.43% e 3.23%, respectivamente, quando em relação C:N de 11:1 (Azim, 2008), podendo assim ser uma fonte nutricional para os organismos cultivados (Khatoon et al., 2016). Porém, uma dieta formada apenas por bactérias não é nutricionalmente adequada para *Daphnia*, por

ser deficiente em PUFA e esteróis (Taipale et al., 2014), logo, a oferta de microalga também é um fator essencial no cultivo de espécies do gênero, como observado por Campos (2017) ao cultivar *D. similis* em água clara e em efluente BFT, obtendo melhores resultados de crescimento no tratamento com inoculação da microalga *C. vulgaris* e reúso do biofloco.

Assim como a *Chlorella*, outras clorofíceas também são importantes para alimentação de cladóceros, como as utilizadas por Alcántara-Azuara et al. (2014) no cultivo de *D. pulex*, obtendo densidades de $1,309 \pm 24 \text{ ind L}^{-1}$, $1,395 \pm 24 \text{ ind L}^{-1}$ e $1,933 \pm 60 \text{ ind L}^{-1}$, ao ofertar *Sphaerocystis* sp., *C. vulgaris* e *Haematococcus pluvialis*, respectivamente, sendo esses valores de densidade inferiores aos encontrados nos tratamentos com relação de 10 e 15:1 com e sem adição de ração do presente estudo (Tabela 2). Portanto, a adição da *C. vulgaris* no sistema refletiu em bom crescimento de *D. magna*.

Para a suplementação da dieta de cladóceros também pode-se utilizar a ração como fonte de proteína. Sipaúba-Tavares e Bachion (2001) obtiveram na composição bioquímica dos cladóceros *Moina micrura* e *Diaphanosoma birgei* alimentados com *Ankistrodesmus gracillis* e suplementação de ração níveis de proteína próximos a 70%, já os alimentados somente com a microalga foram de 56% para *M. micrura* e 58% para *D. birgei*. Os autores obtiveram também densidades semelhantes para *M. micrura* com valor médio de 3880 ind.L^{-1} para a dieta sem suplementação e 3830 ind.L^{-1} para a dieta com suplementação de ração, atingindo densidade máxima entre o 11º e o 14º dia de cultivo. Já no presente estudo os dias de máxima densidade foram alcançados entre o 12º e 18º dia de cultivo com destaque para o tratamento 10SR, que apresentou também maior densidade, todavia o fator ração não influenciou significativamente as variáveis de crescimento de *D. magna*.

Além da suplementação com ração e adição de microalga, o meio de cultivo (mixotrófico ou autotrófico) também influencia o desempenho da *Daphnia*. Trabalhos que avaliaram a utilização de esterco de galinha para produzir um meio de cultivo mixotrófico, obtiveram densidades médias máximas de $4,660 \pm 523 \text{ ind L}^{-1}$ (Paray and Al-Sadoon 2016) e de $2,111,788.9 \text{ ind L}^{-1}$ (Herawati et al., 2017), este último utilizando o esterco fermentado com bactérias probióticas (*Lactobacillus casei* e *S. cerevisiae*). Assim como Darmawan (2014), ao utilizar água residual do cultivo de catfish africano (*Clarias gariepinus*) para o cultivo de *D. magna*, obteve um DMX de $2,653 \text{ ind L}^{-1}$, valor inferior ao tratamento 10SR deste estudo (Tabela 2). Já outros trabalhos utilizando meios autotróficos para o cultivo de cladóceros atingiram densidades médias máximas de $550 \pm 500 \text{ ind L}^{-1}$ (*Diaphanosoma* sp.)

(Otero et al., 2013) e $820 \pm 9,57 \text{ org.L}^{-1}$ para *D. magna* (Ocampo et al., 2010). Em seu estudo Campos (2017) destacou que o uso do efluente de cultivo de Tilápia do Nilo em sistema de bioflocos combinado a oferta de *Chlorella vulgaris* no cultivo de *Daphnia similis* teve seu crescimento dezesseis vezes superior que quando comparado ao cultivo em água clara. Desta forma é possível observar que meios mixotróficos para o cultivo de *Daphnia* refletem em melhores resultados de crescimento que cultivos autotróficos, fato este que pode estar relacionado a uma maior diversidade de alimento presente no biofloco a disposição destes cladóceros.

Já com relação à PCA houve uma leve separação dos tratamentos e das variáveis respostas avaliadas (Fig. 3) bem como a correlação entre essas variáveis (Tabela 3). As variáveis de qualidade de água dureza, alcalinidade influenciaram significativamente as variáveis de crescimento R, TCE e Densidade de forma negativa e o TD de forma positiva. Além disso, apesar de não haver diferenças significativas para os grupamentos dos tratamentos com e sem adição de ração, estes tiveram seus desempenhos confirmados quanto ao crescimento da *D. magna* e as variáveis que causaram esses resultados, indicando que a não adição de ração pode ter favorecido o crescimento da *D. magna*. O baixo crescimento nos tratamentos com a adição de ração possivelmente foram provocados devido a maiores valores de alcalinidade, dada a importância desta para a reprodução da espécie (Jin et al., 1991; Maranhão and Niewegłowski, 1995), refletindo em maior tempo para dobrar a população, adquirindo assim, elevados valores de TD.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que no presente estudo a adição de ração não promoveu diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis de crescimento. Entretanto, podemos destacar que relações C:N 10:1 do efluente proveniente do cultivo de Tilápia do Nilo em sistema de bioflocos possibilitaram melhores resultados de densidade, taxa de crescimento, tempo de duplicação, rendimento e dia de máxima densidade para a *D. magna*, tendo a variável de alcalinidade como fator principal para se atingir bons resultados produtivos. Novos estudos são necessários para melhor compreensão e otimização do uso de efluentes de cultivo provenientes do sistema de bioflocos na produção de *Daphnia magna*, visto que todos os tratamentos possibilitaram o crescimento da espécie.

6. BIBLIOGRAFIA

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas (2016) Aquatic ecotoxicology – Acute toxicity – Test with *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea) ABNT NBR 12713:2016. Disponível em: <<http://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=355914>> Acesso em: 24 out 2018.

Alcántara-Azuara, A.K.; Contreras-Rodríguez, A.I.; Reyes-Arroyo, N.E.; Castro-Mejía, J.; Castañeda-Trinidad, H.; Ocampo-Cervantes, J.A. 2014. Comparación de la densidad población de *Daphnia pulex* Müller, 1785 en cultivos de laboratorio alimentadas con tres microalgas verdes unicelulares (*Sphaerocystis* sp., *Chlorella vulgaris* y *Haematococcus pluvialis*). Revista Digital del Departamento el Hombre y su Ambiente, 1 (5): 18-25. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/274710395>> Acesso em: 23 out 2018.

APHA American Public Health Association. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington DC.

Avnimelech, Y. 2012. Bioflocs technology- A Practical Guide Book. 2ª ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. 272p.

Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology – A Pratical Guide Book. The world Aquaculture Society. Baton Rouge, LA, USA. 182p.

Azim, M.E. e Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 283: 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>

Beatrici, A. C. 2004. Avaliação da fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) submetidas a diferentes tipos de dietas e meios de cultivo. Rio Grande do Sul, Brasil. (Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, UFRGS). Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/4285/000454731.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> . Acesso em: 22 out. 2018.

Boyd, C.E. 2015. Water quality: An introduction. 2ª ed. Springer, New York. 353p.

Buratini S.V.; Aragão M.A. 2012. Food supplement in *Daphnia similis* and *Ceriodaphnia dubia* cultures: effects of yeast and feed digestion. J Braz Soc Ecotoxicol 7(1):21-26. Disponível em: <<http://siaiap32.univali.br/seer/index.php/eec/article/view/3704>> . Acesso em: 18 out 2018.

Campos, C. V. F. D. S. 2017. Avaliação da biomassa do microcrustáceo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) cultivado com a inoculação da microalga *Chlorella vulgaris* (Beyrinck, 1890) em água do cultivo de tilápia do nilo em sistema de bioflocos. Recife, Brasil. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE). Disponível em: <<http://tede2.ufrpe.br:8080/tede/handle/tede2/7070#preview-link0>>. Acesso em: 10 out. 2018.

Carneiro, M.A.D.A. 2007. Estudo do crescimento, eficiência de biofiltração e cinética de absorção de nutrientes (N-NH, N-NO e P-PO₄³) da macroalga *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRGS). Disponível em: <<http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/handle/123456789/12509>> Acesso em: 10 out. 2018.

Chen, S.; Ling, J.; Blancheton, J. P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. Aquacultural Engineering, Oxford, 34(3): 179-197. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.09.004>

Chiu, S.T.; Shiu, Y.L.; Wu, T.M.; Lin, Y.S.; Liu, C.H. 2015. Improvement in non-specific immunity and disease resistance of barramundi, *Latescalcarifer* (Bloch), by diets containing *Daphnia similis* meal. Fish & Shellfish Immunology, 44(1): 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.02.002>

Darmawan, J. 2014. Pertumbuhan Populasi *Daphnia* sp. Pada Media Budidaya Dengan Penambahan Air Buangan Budidaya Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus* Burchell, 1822)[Population Growth of *Daphnia* sp. in a Culture Media with Waste Water of African Catfish (*Clarias Gariepinus*) Intensif Culture]. Berita Biologi, 13(1). Disponível em: http://ejournal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita_biologi/article/view/654. Acesso em 17 out. 2018.

Day, S.B.; Salie, K.; Stander, H.B. 2016. A growth comparison among three commercial tilapia species in a biofloc system. Aquaculture International, 24: 1309–1322. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-9986-z>

Ebeling J.M.; Timmons M.B.; Bisogni J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257: 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

Ebert, D. 2005. Ecology, epidemiology and evolution of parasitism in *Daphnia*. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. 110 p.

Emerenciano, M.G.C.; Martínez-córdova, L.R.; Martínez-porchas, M.; Miranda-baeza, A. 2017. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture, Water Quality, Prof. Hlanganani Tutu (Ed.), InTech, p. 91-109. <http://dx.doi.org/10.5772/66416>

FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Fereidouni, A. E.; Fathi, N; Khalesi, M. K. 2013. Enrichment of *Daphnia magna* with Canola Oil and its Effects on the Growth, Survival and Stress Resistance of the Caspian Kutum Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(1): 119-126. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_1_15.

Frozza, A., Angheben, A. A., Kugelmeier, C. L., Marzarotto, S. Á., & Ballester, E. L. C..2013. Criação do Camarão de Água-doce *Macrobrachium rosenbergii* na Presença de Flocos Microbianos e Sem Renovação de Água. *BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports*, 2(3esp), 122-125. <http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2013v2n3esp122>

Gross J, Ligges U. 2015. Nortest: Tests for Normality. R package version 1.0-4. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=nortest>> Acesso em: 02 out 2018.

Golterman H.L.; Clymo R.S.; Ohnstad M.A.M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. 2ª ed. Blackwell Scientific, Oxford. 214p.

Herawati, V.E.; Nugroho, R.A.; Pinandoyo; Hutabarat, J. 2017. Nutritional value content, biomass production and growth performance of *Daphnia magna* cultured with different animal wastes resulted from probiotic bacteria fermentation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1): 012004. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.08.001>

Hoff, F.; Snell, T. 2004. Plankton Culture Manual. 6ª ed. Dade City, FL: Florida Aqua Farms. 183p.

Jin, H.; Zhang, Y.; Yang, R. 1991. Toxicity and distribution of copper in an aquatic microcosm under different alkalinity and hardness. Chemosphere, 22(5-6): 577-596. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(91\)90069-P](https://doi.org/10.1016/0045-6535(91)90069-P)

Koroleff, F. 1976. Determination of nutrients. In: Grasshoff K (eds) Methods of seawater analysis, Verlag Chemie, Weinheim, pp.117–187.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 305p.

Lima, E.C.R.; Souza, R.L.; Wambach, X.F.; Silva, U.L.; Correia, E.S. 2015. Cultivo da tilápia do Nilo "*Oreochromis niloticus*" em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 16: 948-957. Disponível em: <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewArticle/3460> Acesso em: 02 set. 2018.

Lourenço, Sergio O. 2006. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. São Carlos: Rima. 606p.

Luo, G. Z.; Avnimelech, Y.; Pan, Y. F.; & Tan, H. X. 2013. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. Aquacultural engineering, 52: 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.09.003>

Luo, G.; Gao, Q.; Wang, C.; Liu, W.; Sun, D.; Li, L.; Tan, H. 2014. Growth, digestive activity, welfare and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture, 422: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

Maranho, L.A.; Nieweglowski, A.M.A. 1995. Influência da dureza da água no estudo da reprodução de *Daphnia magna* (STRAUS, 1820). Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, 5. <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v5i0.39394>

Martínez-Jerónimo, F. 2012. Description of the individual growth of *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) through the von Bertalanffy growth equation. Effect of photoperiod and temperature. Limnology, 13(1), 65-71. <https://doi.org/10.1007/s10201-011-0356-2>

Manso, P.R.J. 2007. Produção em cativeiro de larvas de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*: influência do campo magnético sobre a metamorfose e sobrevivência larval. Santa Catarina, Brazil (Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia de produção, UFSC). Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/90206/247679.pdf?sequence=1>>

Acesso em: 16 set. 2018.

Matosi, A.; MoriokaI, L.R.I.; Sant'AnnaI, E. S.; FrançaII, K. B. 2015. Teores de proteínas e lipídeos de *Chlorella sp.* cultivada em concentrado de dessalinização residual. Ciência Rural, 45(2): 364-370. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20121104>

Ocampo, L.E; Botero, M.C.; Restrepo, L.F. 2010. Evaluación Del crecimiento de un cultivo de *Daphnia magna* alimentado com *Saccharomyces cerevisiae* um enriquecimento com avena soya. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 23(1): 78-85. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10495/8330>> Acesso em: 26 out 2018.

Otero, A. P.; Muñoz, M.P.; Medina-robles, V.; Cruz-casallas, P. 2013. Efecto del alimento sobre variables productivas de dos especies de Cladóceros bajo condiciones de laboratorio. Revista MVZ Córdoba, 18(1): 3642-3647. <https://doi.org/10.21897/rmvz.130>

Paray, B.A.; Al-Sadoon, M.K. 2016. Utilization of organic manure for culture of cladocerans, *Daphnia carinata*, *Ceriodaphnia carnuta* e copepod, *Thermocyclops decipiens* under laboratory conditions. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, 45(3): 399-404. Disponível em:

<<http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/35039/1/IJMS%2045%283%29%20399-404.pdf>> Acesso em 20 set. 2018.

Pau, C.; Serra, T.; Colomer, J.; Casamitjana, X.; Sala, L.; Kampf, R. 2013. Filtering capacity of *Daphnia magna* on sludge particles in treated wastewater. Water Research, 47(1): 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.047>

Piérri, V. (2012). Efeito da alcalinidade sobre o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos.(Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis,(2012)Disponível em:
[https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/100408/311318.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/100408/311318.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
&isAllowed=y. Acesso em 20 jan 2019.

Proença, L.A.; Oliveira, G.F. 2010. Análise de ácido domóico em moluscos cultivados no litoral de Santa Catarina. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 3(1): 27-32. <http://dx.doi.org/10.14210/bjast.v3n1.p27-32>

Provasoli L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe A, Hattori A (ed) *Cultures and collections of algae*, pp.63-75

R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em 26 out. 2018.

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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2006.10.004>

Sipaúba-Tavares, L. H., & Bachion, M. A..2002. Population growth and development of two species of Cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*, in laboratory. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4A), 701-711. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842002000400018>

Stockmann, C. 2012. A Influência do pH e da dureza sobre a inibição do ciclo de vida do microcrustáceo *Moina micrura* (Kurz, 1874) em um tanque de decantação. Santa Catarina, Brazil. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC) Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/94702>> Acesso em: 04 out. 2018.

Silva, U.L.; Falcon, D.R.; Pessôa, M.N.D.C.; Correia, E.D.S. 2017. Carbon sources and C:N ratios on water quality for Nile tilapia farming in biofloc system. *Revista Caatinga*, 30(4): 1017–1027. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252017v30n423rc>.

Souza, C.F.; Bastos, R.G.; Gomes, M.P.D. M.; Pulschen, A.A. 2015. Efficiency of domestic wastewater treatment plant for agricultural reuse. *Revista Ambiente & Água*, 10(3): 587-597. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1549>

Taipale, S.J.; Brett, M.T.; Hahn, M.W.; Martin-Creuzburg, D.; Yeung, S.; Hiltunen, M.; Kankaala, P. 2014. Differing *Daphnia magna* assimilation efficiencies for terrestrial, bacterial, and algal carbon and fatty acids. *Ecology*, 95(2): 563-576. <https://doi.org/10.1890/13-0650.1>

Tibbetts, S.M.; Mann, J.; Dumas, A. 2017. Apparent digestibility of nutrients, energy, essential amino acids and fatty acids of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diets containing whole-cell or cell-ruptured *Chlorella vulgaris* meals at five dietary inclusion levels. *Aquaculture*, 481: 25–39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.018>

Villarruel-lópez, A.; Ascencio, F.; Nuño, K. 2017. Microalgae, a potential natural functional food source – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4). <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0017>

Wambach, X.F. 2013. Influência de diferentes densidades de estocagem no desempenho produtivo de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) cultivada com tecnologia de bioflocos. Recife, Brazil. 78f. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE). Disponível em: <<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/6546>> Acesso em: 02 set. 2018

Wickham, H. 2016. Readxl: Read Excel Files. R package version 0.1.1. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=readxl>> Acesso em: 10 set 2018.

Xiang, F.; Geng, L.; Lü, K.; Zhang, J.; Minter, E.J.; Yang, Z. 2012. Effect of long-term nitrite exposure on the cladoceran *Daphnia obtusa*: survival, moults, and reproduction. *Biochemical systematics and ecology*, 41: 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.12.006>.