

CLARISSA VILELA FIGUEIREDO DA SILVA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DO MICROCRUSTÁCEO *Daphnia similis*
(CRUSTACEA, CLADOCERA) CULTIVADO COM A INOCULAÇÃO DA
MICROALGA *Chlorella vulgaris* (BEYERINCK, 1890) EM ÁGUA DO CULTIVO DE
TILÁPIA DO NILO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

RECIFE,

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DO MICROCRUSTÁCEO *Daphnia similis*
(CRUSTACEA, CLADOCERA) CULTIVADO COM A INOCULAÇÃO DA
MICROALGA *Chlorella vulgaris* (BEYERINCK, 1890) EM ÁGUA DO CULTIVO DE
TILÁPIA DO NILO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof.(a) Dr.(a) Alfredo Olivera Gálvez
Orientador

Prof.(a) Dr.(a) Suzianny Maria Bezerra
Cabral da Silva
Coorientador

Recife,
07/2017

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos
Avaliação da biomassa do microcrustáceo *Daphnia similis*
(Crustacea, Cladocera) cultivado com a inoculação da
microalga *Chlorella vulgaris* (Beyerinck, 1890) em água
do cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos.

Nº folhas: 68 fls.

Orientador: Alfredo Olivera Gálvez
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura). Departamento de Pesca e Aquicultura.
Inclui bibliografia

CDD N°:

1. zooplâncton

2. bioflocos

I. Alfredo Olivera Gálvez

II. Avaliação da biomassa do microcrustáceo *Daphnia similis*
(Crustacea, Cladocera) cultivado com a inoculação da microalga *Chlorella*
vulgaris (Beyerinck, 1890) em água do cultivo de tilápia do Nilo em sistema de
bioflocos.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DO MICROCRUSTÁCEO *Daphnia similis*
(CRUSTACEA, CLADOCERA) CULTIVADO COM A INOCULAÇÃO DA
MICROALGA *Chlorella vulgaris* (BEYERINCK, 1890) EM ÁGUA DO CULTIVO DE
TILÁPIA DO NILO EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos

Dissertação julgada adequada para obtenção do
título de mestre em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura. Defendida e aprovada em
21/07/2017 pela seguinte Banca Examinadora.



Prof(a). Dr(a). ALFREDO OLIVERA GÁLVEZ - Orientador

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

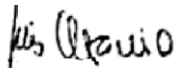
[Universidade Federal Rural de Pernambuco - Sede]



Prof(a). Dr(a). JULIANA FERREIRA DOS SANTOS - Titular

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

[Universidade Federal Rural de Pernambuco – Campus Serra Talhada]



Prof(a). Dr(a). LUÍS OTÁVIO DA SILVA BRITO - Titular

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

[Universidade Federal Rural de Pernambuco - Sede]

Prof(a). Dr(a). ROBERTA BORDA SOARES - Suplente

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

[Universidade Federal Rural de Pernambuco - Sede]

Prof(a). Dr(a). EUDES DE SOUZA CORREIA - Suplente

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

[Universidade Federal Rural de Pernambuco - Sede]

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me ajudado e me dado forças para continuar e finalizar mais uma etapa na minha vida profissional.

À FACEPE pela bolsa concedida.

Também não menos importante, à minha família, esposo e pais pela compreensão e por ter estado ao meu lado sempre, em especial ao meu pai que sempre me ajudou com os problemas logísticos dos meus experimentos.

À família LAPAVI e LAMARSU principalmente aos estagiários que sempre estiveram a postos para a resolução de problemas e oferta de ajuda.

Aos meus orientadores (Alfredo Olivera Gálvez e Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva) pela ajuda e conselhos oferecidos para obter sempre bons resultados.

Ao engenheiro de pesca Djaci pela concessão de tilápias da base de pesca.

Ao prof. Luís Otávio Brito pelas orientações sempre bem passadas e que esteve sempre disposto a ajudar.

A Marcele Trajano Araújo pela ajuda e compreensão sempre que necessitei de favores logísticos.

Ao professor Eudes Correia pela ajuda, mostrando-se sempre solícito no fornecimento de ração.

A todos aqui mencionados e aqueles que por ventura esqueci, ficam aqui os meus agradecimentos.

.

Resumo

Amplamente aplicados na aquicultura como alimento vivo para larvas e juvenis de peixes e crustáceos devido ao elevado valor nutricional, os microcrustáceos do gênero *Daphnia* são comumente encontrados em ambientes com alto teor de matéria orgânica, microalgas, bactérias e fungos, condições estas similares as encontradas no sistema de bioflocos. Neste sentido, o reuso da água do biofoco para a produção de *Daphnia* torna-se uma opção de sistema aquícola ambientalmente amigável. Esta pesquisa objetivou avaliar o cultivo de *Daphnia similis* utilizando água proveniente do cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos. O experimento foi conduzido no Laboratório de Produção de Alimento Vivo – LAPAVI –UFRPE, durante 30 dias, apresentando três tratamentos: DACC - cultivo de *D. similis* em água clara com inoculação da microalga *Chlorella vulgaris*.; DB- cultivo de *D. similis* em água de bioflocos de cultivo de tilápia do Nilo sem inoculação de *C. vulgaris* e DBC- cultivo de *D. similis* em água de bioflocos de cultivo de tilápia do Nilo com inoculação da microalga *C. vulgaris* foram dispostos inteiramente ao acaso com cinco réplicas cada em tanques de 20L (42 x 17 x 29 cm) com 12 L de volume e com densidade de estocagem de 9 org.L⁻¹. A água do cultivo da tilápia do Nilo em sistema de bioflocos com relação carboidrato:nitrogênio de 12:1, 45 dias de cultivo, densidade de 40 ind.m⁻³ e peso médio de 30,57 ± 10,04 g, foi coletada e distribuída nas unidades experimentais. Foram avaliadas as variáveis de qualidade de água e de crescimento do microcrustáceo. As variáveis pH, temperatura e sólidos dissolvidos totais (SDT) demonstraram, através da correlação de Spearman, correlação positiva significativa (p<0,05) com as flutuações nas densidades de *D. similis*, sendo a temperatura a que obteve a correlação mais elevada (r = 0,59). Diferenças estatísticas (p<0,05) foram encontradas para as variáveis taxa de crescimento específico (TCE), tempo de duplicação (TD), densidade média máxima atingida (DMX) e rendimento (R) entre os tratamentos, no qual o DBC atingiu um R de 1065,8 ± 313,3 org.L⁻¹.dia⁻¹ e uma DMX 800% superior ao DACC. Assim, o uso da água de cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos no cultivo de *Daphnia similis* apresentou uma alternativa promissora para a produção de alimento vivo na aquicultura.

Palavras-chave: BFT; *Oreochromis niloticus*, alimento vivo; cladócero; *Chlorella vulgaris*

Abstract

Applied widely in the aquaculture as live food to both fish and crustacean on larvae and juvenis stages because the high nutritional values, the microcrustacean from *Daphnia* genus are mainstream found out in environments with high content of organic matter, microalgae, bacteria and fungi, and that conditions are similar with that found in biofloc system. In this regard, the biofloc water reuse to *Daphnia* production becomes an option to environmentally friendly aquaculture system. This research aimed assesses the *Daphnia similis* culture using wastewater from tilapia farming in biofloc system. The experiment was carried out at Laboratório de Produção de Alimento Vivo – LAPAVI –UFRPE, during 30 days, with three treatments DCCW – *D. similis* culture in clear water with the addition of *C. vulgaris*; DCBW – *D. similis* culture in biofloc water from Nile tilapia farming without *C. vulgaris* adding; and DCBWC - *D. similis* culture in biofloc water from Nile tilapia farming with *C. vulgaris* adding were conducted entirely at random with five replicates each using 20L tanks (42 x 17 x 29 cm), with 12 L of useful volume and stocking density of 9 org.L⁻¹. The culture water from Nile tilapia farming in biofloc system had a carbohydrate:nitrogen ratio of 12:1, 45 day of culture, stoking density of 40 fish.m⁻³ and mean weight of 30.57 ± 10.04 g, was collected and shared on the experimental units. It were evaluated both water quality and growth variables from the microcrustacean. The water quality variables pH, temperature and total dissolved solids (TDS) showed significant positive correlation (P<0.05) with the densities changes of *D. similis* by Spearman correlation, in that the temperature obtained the highest correlation (r = 0.59). Statistic differences (P<0.05) were found to specific growth rate (SGR), duplication time (DT), maximum mean density (MXD) and yield (Y) among the treatments, in that DBC achieved a Y of 1,065.8 ± 313.3 org.L⁻¹.day⁻¹ and a DMX 800% higher than DACC treatment. Thus, the use of water from Nile tilapia farming in biofloc system in *Daphnia similis* culture showed a promising alternative to live food production in the aquaculture.

Keywords: BFT, ; *Oreochromis niloticus*, live food, cladoceran, *Chlorella vulgaris*.

Lista de figuras

Figura 1. Quantidades de nitrogênio amoniacal total (NAT) (A), nitrito (B), nitrato (C), ortofosfato (D) e sólidos suspensos totais (SST) (E) no cultivo de *D. similis*. Quantidades presentes nos tratamentos nas fases inicial (dia 0 ■), intermediária (dia 15 ■) e final (dia 30 ■) de cultivo. Letras diferentes em cada tratamento indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) através do teste de comparação de médias de Tukey entre as fases do cultivo.54

Figura 2 Curvas de crescimento de *D. similis* representada nos diferentes tratamentos (DACC, DB e DBC) ao longo dos 30 dias de cultivo.....56

Lista de tabelas

Tabela 1 Média $\pm$ desvio padrão (DP) (mínimo – máximo) atingidos pelas variáveis de qualidade de água observados no cultivo de *D. similis* utilizando água proveniente do cultivo da tilápia do Nilo em sistema de bioflocos.....53

Tabela 2. Correlação de Spearman entre as variáveis de qualidade de água e densidade de organismos atingida no cultivo de *D. similis* em água do cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos. Valores de r (p-valor).....55

Tabela 3 Média $\pm$ desvio padrão (DP) das variáveis de crescimento de cada tratamento encontradas no cultivo de *D. similis* em água de cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos.57

Sumário

Dedicatória.....	v
Agradecimentos	vi
Abstract.....	viii
Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	x
1- Introdução.....	12
2 - Revisão de literatura.....	15
2.1 Sistema de bioflocos	15
2.2 Diferentes formas do reuso do biofloco.....	17
2.3 Daphnia.....	18
3- Referências bibliográficas	23
4- Artigo científico	31
5- Normas da Revista Aquaculture Research	58

1- Introdução

A aquicultura em sistemas de bioflocos tem apresentado resultados de produção positivos tanto no cultivo de camarões (*Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*, *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Macrobrachium rosenbergii*) (EMERECIANO et al., 2012; ESPARZA-LEAL et al., 2016; KHATOON et al., 2016; XU et al., 2016; HUANG et al., 2017; MIAO et al., 2017) como no cultivo de peixes (*Oreochromis niloticus*, *Ictalurus punctatus*, *Clarias gariepinus*, *Labeo rohita*) (GREEN et al., 2014; AHMAD et al., 2016; DAY et al., 2016; EKASARI et al., 2016).

Seguindo esta mesma tendência, o cultivo de tilápia (*O. niloticus*) em sistema de bioflocos tem demonstrado bons resultados em termos de crescimento e sobrevivência destes organismos. PÉREZ-FUENTES et al. (2016) relataram que a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) apresentou sobrevivência e biomassa final de aproximadamente 95% e 18 kg.m⁻³ respectivamente em sistema de bioflocos adotando uma relação C:N de 10:1. Similarmente, ZHANG et al. (2016) atingiram densidades de 37,93 kg.m⁻³ e sobrevivência de 82,78% em 120 dias de cultivo em sistema de bioflocos utilizando poli-β-hidroxibutírico como fonte de carbono.

Apesar dos excelentes resultados produtivos dos organismos cultivados, a problemática atual do efluente da aquicultura proveniente de sistemas de bioflocos é devido à carga de nutrientes com altas concentrações de fósforo e nitrato. Assim, torna imperativo a condução de pesquisas que visem a reutilização e/ou biorremediação destes efluentes. Neste sentido, alguns trabalhos relatam o uso do efluente de bioflocos na produção de biomassa algal, na complementação da dieta dos organismos cultivados e em sistemas de aquaponia (NETO et al., 2015; KHATOON et al., 2016; ABREU et al., 2016; MAGNOTTI et al., 2016 a, b; PINHO et al., 2017).

Dentro desta conjuntura, o reuso da água proveniente de cultivos em sistema de bioflocos para a produção de alimento vivo (zooplâncton) torna-se uma opção sustentável, tendo o microcrustáceo *Daphnia* como um forte candidato.

Espécies do gênero *Daphnia* são abundantes em ambientes detentores de alta concentração de matéria orgânica (detritos), onde há a proliferação de bactérias, leveduras e microalgas, pois utilizam estes componentes como alimento (TORRENTERA e TACON, 1989; BARRERA et al., 2003). Os efluentes aquícolas em sistema de cultivo bioflocos “Biofloc Technology (BFT)” destacam-se por possuir estas características e ter flocos constituídos principalmente por bactérias, microalgas, fezes, restos de organismos mortos, protozoários, cianobactérias, pequenos metazoários e formas larvais de invertebrados, entre outros (WASIELESKY et al., 2006; BALLESTER et al., 2010). Além disso, os bioflocos são ricos em nutrientes, como: vitaminas e proteínas, apresentando atratividade para o animal cultivado (SILVA et al. 2013), podendo assim ser fonte de alimento também para as *Daphnia*.

Conhecido como “pulga d’água”, esse cladóceros é muito utilizado como opção de alimento vivo na aquicultura, principalmente na piscicultura. Sua biomassa é ofertada às larvas de peixes e crustáceos, bem como indivíduos jovens e adultos, sendo extremamente atrativa devido a sua motilidade e composição nutricional (OCAMPO et al., 2010). Segundo BARRERA et al. (2003), *Daphnia* sp. possui, em matéria seca, um elevado valor protéico (50%) e valores de ácidos graxos da ordem de 20-27%.

Em termos de perfil de aminoácidos, este microcrustáceo apresenta: arginina (10,26%), cistina (1,17%), histidina (2,69%), metionina (3,45%), triptofano (3,62%) e tirosina (4,27%) (TORRENTERA e TACON, 1989) os quais são importantes para o desenvolvimento dos organismos aquáticos. Além disso, atua no aumento da resistência a agentes patógenos. CHIU et al. (2015) identificou maior resistência em larvas do barramundi (*Lates calcarifer*) a

Aeromonas hydrophila quando alimentadas com farinha de *D. similis*, o que pode ser explicada pelas elevadas quantidades de quitosana que as *Daphnia* possuem, como é o caso da *D. longispina* a qual apresenta uma variação de 75-76% de quitosana (KAYA et al., 2014).

Dentre as microalgas ofertadas na dieta de cladóceros, a clorofícea *Chlorella vulgaris*, espécie de água doce, é a mais comum por ser abundante em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) e constitui-se como uma ótima opção de alimento para *Daphnia* sp., pois aumenta sua resposta imune e proporciona melhoria no seu crescimento, consequentemente uma melhor eficiência produtiva (ALVA-MARTÍNEZ et al., 2004; OTERO et al., 2013).

Dentro deste contexto, este estudo objetivou avaliar o cultivo de *D. similis* utilizando efluente proveniente do cultivo de tilápia em sistema de bioflocos com a adição de *Chlorella vulgaris* na dieta.

2 - Revisão de literatura

2.1 Sistema de bioflocos

O sistema de bioflocos tem tido grande repercussão no cenário aquícola nacional e mundial. Em ambos os setores da carcinicultura e piscicultura esta nova metodologia de cultivo tem expressado bons resultados produtivos. O sistema de cultivo bioflocos “Biofloc Technology (BFT)” baseia-se em flocos constituídos principalmente por bactérias, microalgas, fezes, exoesqueletos, restos de organismos mortos, protozoários, cianobactérias, pequenos metazoários e formas larvais de invertebrados, entre outros (WASIELESKY et al., 2006; BALLESTER et al., 2010), os quais, são formados pela manipulação de diferentes relações carbono e nitrogênio no sistema, variando de 10 a 20:1, para camarões e peixes cultivados (AVNIMELECH, 2009; KRUMMENAUER et al., 2012; PÉREZ-FUENTES et al., 2016). Além disso, este sistema permite a mínima ou zero troca de água durante o cultivo, o que diminui os gastos com água além da alta produção em pequenas áreas (EMERENCIANO et al., 2017).

Com relação à carcinicultura em bioflocos, EMERENCIANO et al. (2012) compararam o cultivo em bioflocos, com e sem a adição de ração, com o cultivo tradicional em água clara, com adição de ração, na fase berçário e obtiveram como resultados maiores valores de peso final, biomassa final e ganho de peso mesmo no tratamento que utilizaram bioflocos, inferindo que o seu uso pode ser eficiente na substituição de ração e alcance de alta performance animal.

A hipótese do biofloco servir de alimento para os organismos cultivados também foi testada por KATOON et al. (2016), os quais utilizaram a matéria seca do biofloco como substituinte da ração comercial (25, 50, 75 e 100%) na criação de pós-larvas de *L.vannamei* e constatou que as pós-larvas alimentadas com 50% biofloco e 50% ração atingiram maior taxa

de crescimento específico e sobrevivência do que aquelas alimentadas apenas com ração comercial.

Além disso, o biofloco também tem sua atuação não apenas nutricional, mas também na melhoria da resposta imune a agentes patógenos. MIAO et al. (2017) desafiaram com *Aeromonas hydrophila* o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* cultivados em sistema BFT, mantidos em diferentes relações de carbono e nitrogênio (10 e 20:1), acrescido ou não de probióticos, e como resultados observaram maior resistência, aumento na área de absorção e na microbiota intestinal nos camarões cultivados em bioflocos mais probiótico comparado com os criados em água clara e probiótico. Esta ação de controle de patógenos também foi observado em cultivos integrados em sistema de bioflocos, como relatado por BRITO et al. (2016). Neste trabalho, *L.vannamei* cultivados em sistema de bioflocos juntamente com a macroalga *Gracilaria birdiae* atingiram maior crescimento, rendimento e proteína bruta, sendo observado também uma redução na concentração de *Vibrio*.

Em paralelo, na piscicultura, em particular na produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), o uso do bioflocos resultou em sobrevivência e biomassa final de aproximadamente 95% e 18 kg.m⁻³, respectivamente em uma relação C:N de 10:1 (PÉREZ-FUENTES et al., 2016). DAY et al. (2016) também obtiveram resultados interessantes quando compararam o crescimento de três diferentes espécies de tilápia (*O. niloticus*, *O. mossambicus* e *O. andersonii*) em biofloco, tendo como a mais indicada para o cultivo em BFT a *O. niloticus* devido às melhores taxas de crescimento específico ($0,693 \pm 0,018$ g.dia⁻¹) e menor valor da taxa de conversão alimentar $1,01 \pm 0,05$.

AHMAD et al. (2016) observaram também melhor resposta imunológica em indivíduos de *Labeo rohita* cultivados em sistema de bioflocos tendo como fonte de carbono a tapioca durante 60 dias e posteriormente desafiados com *A. hydrophila*.

2.2 Diferentes formas do reuso do biofloco

A preocupação com o destino final do efluente de cultivos aquícolas em sistema de bioflocos já é algo atual devido a grande carga de nutrientes, principalmente nitrato e o fósforo. Assim, pesquisas recentes já relatam o uso do efluente de bioflocos na produção de biomassa algal, na complementação da dieta de organismos cultivados e em sistemas de aquaponia (NETO et al., 2015; KHATOON et al., 2016; ABREU et al., 2016; MAGNOTTI et al., 2016 a, b; PINHO et al., 2017).

MAGNOTTI et al. (2016, b) utilizaram o efluente do cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos para a produção de biomassa microalgal (*Chaetoceros muelleri*, *Nannochloropsis oculata* e *Tetraselmis chuii*) e posterior oferta dessa biomassa produzida para a alimentação de *Artemia franciscana*. Além da produção da biomassa, relataram também a redução do nitrato variando de 87 a 85% para as microalgas *T. chuii* e *N. oculata*, respectivamente. Similarmente, ABREU et al. (2016) utilizando o resíduo sólido de biofloco como substituinte do meio de cultura da microalga *Navicula* sp. obtiveram resultados similares ao cultivo apenas com o meio de cultura Conway utilizado tradicionalmente no cultivo dessa espécie.

NETO et al. (2015) avaliaram a digestibilidade da farinha de biofloco, proveniente de cultivos de peixe e camarão, como suplemento alimentar à ração de *Litopenaeus vannamei* e observaram que houve promoção do crescimento dos animais que foram alimentados com adição de farinha de biofloco proveniente de cultivo de camarão. Resultados semelhantes foram encontrados por KHATOON et al. (2016).

Outra importante forma de agregar renda, tratar e/ou reaproveitar os efluentes da aquicultura em sistema de bioflocos é através da aquaponia. Três variedades de alface *Lactuca sativa* foram cultivadas em aquaponia utilizando efluente de cultivo de tilápia em BFT e foi

constatado que a aquaponia utilizando efluente de bioflocos proporcionou melhor crescimento dos alfaces do que o sistema de aquaponia tradicional em água clara (PINHO et al., 2017). Assim, pesquisas que visem a aplicabilidade do uso do efluente da aquicultura em sistema de bioflocos são de grande valia não só para o produtor na agregação de renda mas também para o meio ambiente.

2.3 *Daphnia*

O zooplâncton realiza um importante papel de ligamento entre as cadeias tróficas de diversos nichos ecológicos. Nos viveiros de aquicultura sua importância é de extrema relevância como alimento natural modificando a comunidade até o organismo de maior nível trófico até a produtividade de camarão ($\text{kg.ha}^{-1}.\text{ciclo}^{-1}$) dos cultivos (ABU HENA e HISHAMUDDIN, 2014). Dentre os grupos zooplantônicos em corpos hídricos de água doce se destacam os cladóceros, principalmente os dafinídeos, devido sua posição como um dos principais consumidores primários (CARPENTER et al., 1987).

O gênero *Daphnia* é formado por microcrustáceos pertencentes à classe Cladocera, conhecidos popularmente como “pulgas d’água”. Esse nome não é apenas relacionado ao seu tamanho, mas também ao seu movimento saltitante na água (HOFF e SNELL, 2004). São abundantes em ambientes detentores de alta concentração de matéria orgânica (detritos), onde há a proliferação de bactérias, leveduras e microalgas, pois utilizam estes componentes como alimento (TORRENTERA e TACON, 1989; BARRERA et al. 2003).

O ciclo de vida de *Daphnia* pode ser assexuado (ciclo partenogenético) ou sexuado, dependendo das condições ambientais. Assim, sob condições favoráveis (oferta de alimento, temperatura, pH, fotoperíodo entre outras variáveis) a população de *Daphnia* assume reprodução assexuada por partenogênese, ou seja, populações todas fêmeas; porém sob

condições desfavoráveis, a população assume a reprodução sexuada com formação de indivíduos machos (EBERT, 2005).

Na aquicultura, os dafinídeos, como são conhecidos as espécies do gênero *Daphnia*, são importantes fontes de alimento vivo, porém, podem também ser aplicadas na realização de testes toxicológicos (crônicos e agudos) e tratamentos de efluentes.

Como alimento vivo, espécies do gênero *Daphnia* têm sido ofertadas principalmente para diferentes espécies de peixes na fase larval ou até mesmo na fase juvenil (FEREIDOUNI et al., 2013; CUEVAS-URIBE e MIMS, 2014; CHIU et al., 2015; LJUBOBRATOVIC et al., 2016).

Uma função importante da oferta do zooplâncton como alimento vivo é justamente a possibilidade de enriquecimento destes organismos e a transferência das propriedades lipídicas, vitamínicas e proteicas para os organismos cultivados por meio de via oral, ou seja, pela ingestão, uma vez que são organismos filtradores. FEREIDOUNI et al. (2013) enriqueceram *D. magna* com óleo de canola e as ofertaram às larvas de peixe *Rutilus frisii kutum*. Eles concluíram que as larvas que receberam as *D. magna* enriquecidas obtiveram melhor taxa de crescimento específico e sobrevivência em relação aquelas que receberam *D. magna* não enriquecidas. Semelhantemente, FALLAHI et al. (2011) alimentando larvas de *Rutilus frisii kutum* com *D. magna* enriquecida com diferentes dosagens de vitaminas do complexo B obtiveram melhor taxa de crescimento específico e ganho de peso corporal em relação as não enriquecidas.

Além da vantagem de enriquecimento, a oferta de *Daphnia* como alimento vivo também pode trazer benefícios quanto à resposta imunológica e resistência a doenças dos organismos cultivados. Isso foi observado por CHIU et al. (2015) ao ministrarem farinha de *D. similis* (5% e 10% da ração formulada) para barramundi (*Lates calcarifer*) (~0,2g) durante

42 dias, seguido de desafio com *Aeromonas hydrophila*. Neste trabalho, concluíram que os peixes alimentados a 5% de *D. similis* na dieta obtiveram maior porcentagem de sobrevivência e resposta imune à *Aeromonas hydrophila* do que aquelas não alimentadas com *D. similis*.

Para se produzir *Daphnia*, é preciso primeiramente saber que alguns fatores são influenciadores para a aquisição de uma maior ou menor biomassa, seja por diferentes opções de dietas de microalgas e leveduras para adquirir um melhor desempenho reprodutivo no cultivo, ou pela manipulação de variáveis ambientais como temperatura, pH, fotoperíodo e compostos nitrogenados e fosfatados (DEMOTT et al., 2001; OCAMPO et al., 2010; OTERO et al., 2013; MENG et al., 2014, SIKORA et al., 2014; PARAY e AL-SADOON 2016).

Observando o efeito da dieta no cultivo de *Daphnia*, as opções mais frequentes são as algas verdes, cianobactérias e leveduras. OTERO et al. (2013) cultivando os cladóceros *Diaphanosoma* sp. e *Alona* sp. em sistema tradicional conseguiram densidades máximas de $550 \pm 500 \text{ org.L}^{-1}$ e $383 \pm 200 \text{ org.L}^{-1}$, respectivamente, combinando a dieta de microalga *Chlorella vulgaris* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Assim como OCAMPO et al. (2010) que obtiveram densidades máximas de $820 \pm 9,57 \text{ org.L}^{-1}$ no cultivo de *D. magna* alimentada com levedura e farelos de soja e aveia com máximos taxa de crescimento específico (TCE), tempo de duplicação (TD) e rendimento (R) de $0,258 \pm 0,001 \text{ .dia}^{-1}$, $2,69 \pm 0,01 \text{ dia}$ e $70 \text{ org.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente.

ALCÁNTARA-AZUARA et al. (2014) cultivando *D. pulex* sob diferentes dietas de microalgas verdes *Sphaerocystis* sp., *C. vulgaris* e *Haematococcus pluvialis* obtiveram, respectivamente, densidades de $1309 \pm 24 \text{ org.L}^{-1}$, $1395 \pm 24 \text{ org.L}^{-1}$ e $1933 \pm 60 \text{ org.L}^{-1}$. Já FU et al. (2017) obtiveram melhor taxa de crescimento em *D. magna* com o mix da

cianobactéria *Oscillatoria* sp. e a microalga verde *Scenedesmus obliquus* como dieta alimentar.

As *Daphnia* também atuam sobre comunidades bacterianas bem como de alguma forma são dependentes delas. Determinadas bactérias atuam simbioticamente no aumento da taxa reprodutiva de espécies de *Daphnia* como as pertencentes ao grupo *Proteobacteria* provavelmente também atuando na nutrição desses cladóceros (QI et al., 2009; PEERAKIETKHAJORN et al., 2015, 2016).

Além disso, as variáveis como temperatura, fotoperíodo e o fósforo presente na água regulam as flutuações de *Daphnia* bem como tem efeito sobre a eclosão de ovos de resistência nesses organismos. PAES et al. (2016) observaram que a ausência de luz mais a exposição a altas temperaturas (32°C) possuem negativa influência sobre a eclosão de ovos de resistência de *Daphnia* spp. Já MENG et al. (2014) relataram que as altas concentrações de fósforo aumenta as densidades populacionais e o comprimento do corpo e, diminui o tempo de maturação de *D. similoides*, porém concentrações menores que 1 mg.L⁻¹ induzem a formação de efípios (machos) no cultivo.

Quanto às metodologias de cultivo, os melhores resultados reportados estão relacionados à utilização de esterco de aves no cultivo. Altas concentrações de *D. carinata* (4660 ± 523 org.L⁻¹) foram atingidas ao nono dia de cultivo decaindo nos demais dias, em um total de 21 dias de produção utilizando esterco de galinha (PARAY e AL-SADOON, 2016). Resultados ainda mais impressionantes foram observados no cultivo de *D. magna* usando diferentes fontes de esterco animal (galinha, bode e codorna) fermentadas por bactérias probióticas (*Lactobacillus casei* e *Saccharomyces cerevisiae*) onde as melhores densidades foram observadas com a utilização de esterco de galinha (2111788,9 org.L⁻¹) (HERAWATI et al., 2017).

Em termos de ensaios de toxicidade, as espécies do gênero são amplamente utilizadas. Muitos dos ensaios são realizados para a indústria farmacêutica, para fins de determinação de toxicidade de determinadas drogas, bem como para a investigação ecológica do grau de ação de contaminantes orgânicos e inorgânicos sobre a comunidade aquática.

DING et al. (2017) utilizaram a *D. magna* para determinar os efeitos bioquímico e fisiológico do antidepressivo fluoxetina e constataram que os indivíduos de *D. magna* podem acumular essa droga bem como produzir perturbações bioquímicas e fisiológicas. Já CUNHA et al. (2016) também utilizando *Daphnia* observaram a reação de contraceptivos sobre esses indivíduos e relataram que ocorre a redução no número de neonatos por fêmea.

Já no ponto de vista ecológico, vários trabalhos relatam a ação de contaminantes sobre a comunidade do cladócero *Daphnia* ampliando assim para a comunidade zooplancônica (PUERARI et al., 2016; SANCHÍS et al., 2016; SANCHO et al., 2016; SENGUPTA et al., 2016). WOLF et al. (2017) detectaram que a radiação de ondas curtas e as concentrações de carbono dissolvido na água possuem grande efeito na expressão genômica da biota pelágica utilizando entre os testes, a *D. magna* como representante do zooplâncton. Já DÍAZ-GARDUÑO et al. (2017) observaram que entre os contaminantes industriais, hospitalares e domésticos, os relacionados a tonalidades, fragrâncias e antibióticos foram os mais persistentes e danosos contra as espécies de *Daphnia*.

Em relação ao efeito biorremediador de efluentes, poucos trabalhos são relacionados à produção de *Daphnia*. DEMOTT (1982) relata que a *Daphnia* é capaz de filtrar partículas que variam de 0,5 a 40 µm de tamanho. PAU et al. (2013) testaram o papel de *Daphnia* como biorremediador em tratamento terciário de efluentes e verificaram que a redução de 2,5 a 39% dos sólidos foi relacionado à população de *Daphnia* no sistema de tratamento quando as densidades chegaram a uma concentração que variou de 5 a 100 ind.L⁻¹.

3- Referências bibliográficas

ABREU, J. L.; BRITO, L. O.; MORAES, L. B. S.; SILVA, D. L. B.; BARBOSA, S. M. S, GÁLVEZ, A. O. Utilização do resíduo sólido de cultivo de camarão em sistema de bioflocos para produção da microalga *Navicula* sp. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.42, n. 4, p. 780-790, 2016.

ABU HENA, M. K. e HISHAMUDDIN, O. Food selection preference of different ages and sizes of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius, in tropical aquaculture ponds in Malaysia. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 22, p. 6153-6159, 2012.

AHMAD, I. H.; VERMA, A. K.; RANI, A. M. B.; RATHORE, G.; SAHARAN, N.; GORA, A. H. Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc system using different carbon sources. **Aquaculture**, v. 457, p. 61-67, 2016.

ALCÁNTARA-AZUARA, A. K.; CONTRERAS-RODRÍGUEZ, A. I.; REYES-ARROYO, N.E.; CASTRO-MEJÍA, J.; CASTAÑEDA-TRINIDAD, H.; CASTRO MEJÍA, G.; OCAMPO-CERVANTES, J. A. Comparación de la densidad poblacional 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**, v. 1, n. 5, p. 18-25, 2014.

ALVA-MARTÍNEZ A; SARMA S.S.S.; NANDINI S. Population growth *Daphnia pulex* (Cladocera) on mixed diet (*Microcystis aeruginosa* with *Chlorella* or *Scenedesmus*). **Crustaceana**, v.77, p.973-988, 2004.

AVNIMELECH Y. **Biofloc Technology – A Practical Guide Book**. The world Aquaculture Society, Baton Rouge, 2009.

BALLESTER, L.C.; ABREU, P.C; CAVALLI, R.O; EMERENCIANO, M; ABREU, L.; WASIELESKY, W. J. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. **Aquaculture Nutrition**, v.16, n. 2, p.163–172, 2010.

BARRERA, T. C.; ANDRADE, R. L.; CASTRO, G.; MEJÍA; MEJÍA, J. C.; SÁNCHEZ, A. M. Alimento vivo em la acuicultura. **ContactoS**, v 48, p. 27-33, 2003.

BRITO, L. O; CHAGAS, A. M.; SILVA, E. P.; SOARES, R. B.; SEVERI, W.; GÁLVEZ, A.O. Water quality, *Vibrio* density and growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with red seaweed *Gracilaria birdiae* (Greville). **Aquaculture Research**, v.47, p. 940-950, 2016.

CARPENTER, S. R.; KITCHELL, J. F.; HODGSON, J.R.; COCHRAN, P.A.; ELSER, J.J., ELSER, M.M.; LODGE, D.M.; KRETCHMER, D.; HE, X.; VON ENDE, C.N. Regulation of lake primary productivity by food web structure. **Ecology**, v. 68, n. 6, p. 1863-1876, 1987.

CHIU, S. T.; SHIU, Y.L.; WU, T. M.; LIN, Y.S.; LIU, C. H. Improvement in non-specific immunity and disease resistance of barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), by diets containing *Daphnia similis* meal. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 44, p. 172-179, 2015.

CUEVAS-URIBE, R. e MIMS, S. Investigation in reuse of decommissioned wastewater facility and reclaimed water for culturing paddlefish fingerlings. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.45, n. 3, p. 322-332, 2014.

CUNHA, L.C.; SILVA, S.M.C.; BILA, D.M.; OLIVEIRA, J.L.M.; SARCINELLI, P.N.; LARENTIS, A.L. Regulation of the synthetic estrogen 17 α -ethinylestradiol in water bodies in Europe, the United States, and Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 32, n. 3, p. 1-12, 2016.

DAY, S. B.; SALIE, K.; STANDER, H. B. A growth comparison among three commercial tilapia species in a biofloc system. **Aquaculture International**, v. 24, p. 1309-1322, 2016.

DEMOTT, W. R. Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina*. **Limnology and Oceanography**, v. 27, n. 3, p. 518-527, 1982.

DEMOTT, W. R.; GULATI, R.D.; VAN DONK, E.; Effects of dietary phosphorus deficiency on the abundance, phosphorus balance, and growth of *Daphnia cucullata* in three hypereutrophic Dutch lakes. **Limnology and Oceanography**., v. 46, n. 8, p. 1871-1880, 2001.

DÍAZ-GARDUÑO, B.; PINTADO-HERRERA, M.G.; BIEL-MAESO, M.; RUEDA-MÁRQUEZ, J. J.; LARA-MARTÍN, P.A.; PERELES, J. A.; MANZANO, M. A.; GARRIDO-

PÉREZ, C.; MARTÍN-DÍAZ, M. L. Environmental risk assessment of effluents as a whole emerging contaminant: Efficiency of alternative tertiary treatments for wastewater depuration. **Water Research**, v.119, p. 136-149, 2017.

DING, J.; ZOU, H.; LIU, Q.; ZHANG, S.; RAZANAJATOVO, R. M. Bioconcentration of the antidepressant fluoxetine and its effects on the physiological and biochemical status in *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.142, p. 102-109, 2017.

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

EKASARI, J.; SUPRAYUDI, M. A.; WIYOTO, W.; HAZANAH, R. F.; LENGGARA, G. S.; SULISTIANI, R.; ALKAHFI, M.; ZAIRIN JR, M. Biofloc technology application in African catfish fingerling production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. **Aquaculture**, v. 464, p. 349-356, 2016.

EMERENCIANO, M. G. C.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MIRANDA-BAEZA, A. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture, Water Quality, Prof. Hlanganani Tutu (Ed.), **InTech**, DOI: 10.5772/66416. p. 91-109, 2017.

EMERENCIANO, M.; BALLESTER, E. L. C.; CAVALLI, R.; WASIELESKY, W. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). **Aquaculture Research**, v. 43, p.447-457, 2012.

ESPARZA – LEAL, H. M.; XAVIER, J. A. A.; WASIELESKY JR, W. Performance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared in indoor nursery tanks under biofloc conditions at different salinities and zero-water exchange. **Aquaculture International**, v. 24, p. 1435-1447, 2016.

FALLAHI, M.; AZARI TAKAMI, G.; VOSSOUGH, G. H.; MASHINCHIAN, A.; MEHDIPOUR, N. Effects of *Daphnia magna* fed with B group vitamins-enriched *Chlorella* sp. and *Scenedesmus obliquus* on the growth rate of *Rutilus frisii kutum* fry. **International Journal Environmental Research**, v.5, n. 3, p. 763-768, 2011.

FEREIDOUNI, A.E.; FATHI, N.; KHALES, M.K. Enrichment of *Daphnia magna* with Canola Oil and its Effects on the Growth, Survival and Stress Resistance of the Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*) Larvae. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 13, p. 119-126, 2013.

FU, H.; XU, J.; XIAO, E.; HE, F.; XU, P.; ZHOU, Q.; WU, Z. Application of dual stable isotopes in investigating the utilization of two wild dominant filamentous algae as food sources for *Daphnia magna*. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 32, n.1, p. 339-351, 2017.

GREEN, B.W.; SCHRADER, K.K.; PERSCHBACHER, P.W. Effect of stocking biomass on solids, phytoplankton communities, common off-flavors, and production parameters in a channel catfish biofloc technology production system. **Aquaculture Research**, v.45, p.1442-1458, 2014.

HERAWATI, V. E.; NUGROHO, R.A.P.; HUTABARAT, J. Nutritional value content, biomass production and growth performance of *Daphnia magna* cultured with different animal wastes resulted from probiotic bacteria fermentation. **IOP Conference Ser Earth Environmental Science**, v. 55, p.1-10, 2017.

HOFF, F.H. E SNELL, T.W. **Plankton culture manual**. Florida Aqua Farms, Inc., 6th Ed.DC, Florida, USA, 2004. 181 p.

HUANG, J.; YANG, Q.; MA, Z.; ZHOU, F.; YANG, L.; DENG, J.; JIANG, S. Effects of adding sucrose on *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) growth performance and water quality in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 2316-2327, 2017.

KAYA, M.; CAKMAK, Y.S.; BARAN, T.; ASAN-OZUSAGLAM, M.; MENTES, A.; TOZAK, K. O. New chitin, chitosan, and O-carboxymethyl chitosan sources from resting eggs of *Daphnia longispina* (Crustacea); with physicochemical characterization, and antimicrobial and antioxidant activities. **Biotechnol Bioproc Eng**, v.19, p.58-69, 2014

KHATOON, H.; BENERJEE, S.; YUAN, T.G.; HARIS, N.; IKHWANUDDIN, M.; AMBAK, M.A.; ENDUT, A. Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 304-309, 2016.

KRUMMENAUER, D.; SEIFERT JR., C. A.; POERSCH, L. H.; FOES, G. K.; LARA, G. R.; WASIELESKY JR., W. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise de reutilização da água. **Atlântica**, v. 34, n. 2, p. 103-111, 2012.

LJUBOBRATOVIC, U.; KUCSKA, B.; SÁNDOR, Z.; PETRI, A.; RÓNYAI, A. Effects of stocking density, feeding technique and vitamin C supplementation on the habituation on dry feed of pikeperch (*Sander lucioperca*) pond reared juveniles. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**. v. 15, n. 4, p. 1337-1347, 2016.

MAGNOTTI, C.; LOPES, R.; DERNER, R.; VINATEA, L. Using residual water from a marine shrimp farming BFT system. part I: nutrient removal and marine microalgae biomass production. **Aquaculture Research**, v.47, p. 2435-2443, 2016.

MAGNOTTI, C.; LOPES, R.; DERNER, R.; VINATEA, L. Using residual water from a marine shrimp farming BFT system. Part II: *Artemia franciscana* biomass production fed microalgae grown in reused BFT water. **Aquaculture Research**, v. 47, p. 2716-2722, 2016.

MENG, M.; DENG, D.; ZHANG, X.; GE, Q.; ZHANG, K. The influence of phosphorus concentration on the population dynamics and resting egg formation of two cladocerans. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 29, n. 3, p. 387-396, 2014.

MIAO, S.; ZHU, J.; ZHAO, C.; SUN, L.; ZHANG, X.; CHEN, G. Effects of C/N ratio control combined with probiotics on the immune response, disease resistance, intestinal microbiota and morphology of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Aquaculture**, v. 476, p. 125-133, 2017.

NETO, H. S.; SANTAELLA, S. T.; NUNES, A. J. P. Bioavailability of crude protein and lipid from biofloc meals produced in an activated sludge system for white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 8, p. 269-275, 2015.

OCAMPO, L. E.; BOTERO, M. C.; RESTREPO, L. F. Evaluación del crecimiento de um cultivo de *Daphnia magna* alimentado com *Saccharomyces cerevisiae* y um enriquecimento com avena soya. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. v. 23, p. 75-78, 2010.

OTERO, A. P.; MUÑOZ, M.P.; MEDINA-ROBLES, V.; CRUZ-CASALLAS, P. Efecto del alimento sobre variables productivas de dos espécies de Cladóceros bajo condiciones de laboratorio. **Revista MVZ Córdoba**, v.18, p. 3642-3647, 2013.

PAES, T.A.S.V.; RIETZLER, A.C.; PUJONI, D.G.F.; MAIA-BARBOSA, P.M. High temperatures and absence of light affect the hatching of resting eggs of *Daphnia* in the tropics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n.1, p. 179-186, 2016.

PARAY, B. A. e AL-SADOON, M.K. Utilization of organic manure for culture of cladocerans, *Daphnia carinata*, *Ceriodaphnia carinata* e copepod, *Thermocyclops decipiens* under laboratory conditions. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 45, n. 3, p. 399-404, 2016.

PAU, C.; SERRA, T.; COLOMER, J.; CASAMITJANA, X.; SALA, L.; KAMPE, R. Filtering capacity of *Daphnia magna* on sludge particles in treated wastewater. **Water Research**, v. 47, p. 181-186, 2013.

PEERAKIETKHAJORN, S.; TSUKUDA, K.; KATO, Y.; MATSUURA, T.; WATANABE, H. Symbiotic bacteria contribute to increasing the population size of a freshwater crustacean, *Daphnia magna*. **Environmental Microbiology Reports**, v. 7, n.2, p. 364-372, 2015.

PEERAKIETKHAJORN, S.; KATO, Y.; KASALICKY, V.; MATSUURA, T.; WATANABE, H. Betaproteobacteria *Limnohabitans* strains increase fecundity in the crustacean *Daphnia magna*: symbiotic relationship between major bacterioplankton and zooplankton in freshwater ecosystem. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 8, p. 2366 – 2374, 2016.

PÉREZ-FUENTES, J.A.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; FOGEL, I. C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. **Aquaculture**, v. 452, p. 247-251, 2016.

PINHO, S. M.; MOLINARI, D.; MELLO, G.L.; FITZSIMMONS, K. M.; EMERENCIANO, M.G.C. Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties. **Ecological Engineering**, v. 103, p. 146-153, 2017.

PUERARI, R.C.; COSTA, C.H.; VICENTINI, D. S.; FUZINATTO, C.F.; MELEGARI, S.P.; SCHMIDT, E. C.; BOUZON, Z. L.; MATIAS, W. G. Synthesis, characterization and toxicological evaluation of Cr₂O₃ nanoparticles using *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 36-43, 2016.

QI, W.; NONG, G.; PRESTON, J.F.; BEN-AMI, F.; EBERT, D. Comparative metagenomics of *Daphnia* symbionts. **BMC Genomics**, v. 10, p.1-21, 2009.

SANCHÍS, J.; OLMOS, M.; VINCENT, P.; FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. New Insights on the Influence of Organic Co-Contaminants on the Aquatic Toxicology of Carbon Nanomaterials. **Environmental Science & Technology**, v.50, p. 961-969, 2016.

SANCHO, E.; VILLARROEL, M. J.; FERRANDO, M.D. Assessment of chronic effects of tebuconazole on survival, reproduction and growth of *Daphnia magna* after different exposure times. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 124, p. 10-17, 2016.

SENGUPTA, N.; GERARD, P.D.; BALDWIN, W.S. Perturbations in polar lipids, starvation survival and reproduction following exposure to unsaturated fatty acids or environmental toxicants in *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 144, p. 2302-2311, 2016.

SIKORA, A. B.; DAWIDOWICZ, P.; ELERT, E. *Daphnia* fed algal food grown at elevated temperature have reduced fitness. **Journal of Limnology**, v. 73, n. 3, p. 421-427, 2014.

SILVA, A. F.; LARA, G. R.; BALLESTER, E. C.; KRUMENNAUER, D.; ABREU, P. C.; WASIELESKY JR, W. Efeito das altas densidades de estocagem no crescimento e sobrevivência de *Litopenaeus vannamei* na fase final de engorda, cultivados em sistema de bioflocos (BFT). **Ciência animal brasileira**, v.14, n.3, p. 279-287, 2013.

TORRENTERA, L. E TACON, A. **La producción de alimento vivo y su importância em acuicultura: Uma diagnosis**. FAO – Italia. 1989.

WASIELESKY, W.J.; EMERECIANO, M.; BALLESTER, E. L. C.; SOARES, R.; CAVALLI, R. O.; ABREU, P. C. Flocos microbianos: O cultivo com troca zero de água. **Panorama da Aquicultura**, v. 96. p. 14-31, 2006.

WOLF, R.; ANDERSEN, T.; HESSEN, D.O.; HYLLAND, K. The influence of dissolved organic carbon and ultraviolet radiation on the genomic integrity of *Daphnia magna*. **Functional Ecology**, v. 31, p. 848-855, 2017.

XU, W.J.; MORRIS, T.C.; SAMOCHA, T.M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. **Aquaculture**, v. 453, p. 169-175, 2016.

ZHANG, N.; LUO, G.; TAN, H.; LIU, W.; HOU, Z. Growth, digestive enzyme activity and welfare of tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc-based system with poly- β -hydroxybutyric as a carbon source. **Aquaculture**, v. 464, p. 710-717, 2016.

4- Artigo científico

Artigo científico a ser encaminhado à Revista Aquaculture
Research

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as
estabelecidas pela referida revista (em anexo).

**CRESCIMENTO DE *Daphnia similis* Claus, 1876 (Crustacea, Cladocera) ATRAVÉS
DO REUSO DA ÁGUA DO CULTIVO DE TILÁPIA DO NILO EM SISTEMA DE
BIOFLOCOS**

Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos^{1*}, Renata da Silva Farias¹, Willian Severi¹,
Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva¹ & Alfredo Olivera Gálvez¹

¹Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE,
Dois irmãos, Recife, Pernambuco, Brazil.

Correspondence: Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos, Departamento de Pesca e
Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Dois irmãos, Recife, CEP:
52171-900, Pernambuco, Brazil. E-mail: clarissavilela19@gmail.com

RESUMO

Esta pesquisa objetivou avaliar o crescimento de *Daphnia similis* utilizando água proveniente do cultivo de tilápia em sistema de bioflocos com relação carboidrato:nitrogênio de 12:1. Durante 30 dias, três tratamentos: cultivo da *D. similis* em água clara com adição de *Chlorella vulgaris* (DACC) e cultivo de *D. similis* utilizando a água do bioflocos com e sem adição de *C. vulgaris* (DBC e DB, respectivamente) foram dispostos inteiramente ao acaso com cinco réplicas cada em tanques de 20L e com densidade de estocagem de 9 org.L⁻¹. Variáveis físico-químicas e de crescimento: taxa de crescimento específico (TCE), tempo de duplicação (TD), densidade média máxima (DMX), dia de máxima densidade (DMD) e rendimento (R) foram analisadas. Os valores de temperatura demonstraram correlação positiva significativa ($p < 0,05$) com as flutuações nas densidades de *D. similis* nos tratamentos DACC e DB. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram encontradas para as variáveis TCE, TD, DMX e R entre os tratamentos, no qual o DBC atingiu um R de $1065,8 \pm 313,3$ org.L⁻¹.dia⁻¹ e uma DMX 800% superior ao DACC. Assim, o uso da água de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos para o crescimento de *D. similis* apresentou uma alternativa promissora na produção de alimento vivo na aquicultura.

Palavras-chave: BFT, *Oreochromis niloticus*, alimento vivo, *Chlorella vulgaris*, cladócero.

***Daphnia similis* Claus, 1876 (Crustacea, Cladocera) GROWTH BY WATER REUSE
FROM NILE TILAPIA FARMING IN BIOFLOC SYSTEM**

ABSTRACT

This research aimed assesses the *Daphnia similis* growth using wastewater from tilapia farming in biofloc system with carbohydrate:nitrogen ratio of 12:1. During 30 days, three treatments: *D. similis* culture in clear water with the addition of *Chlorella vulgaris* (DACC) and *D. similis* culture using the biofloc water with and without *C. vulgaris* addition (DBC and DB, respectively) were conducted entirely at random with five replicates each using 20L tanks and stocking density of 9 org.L⁻¹. Both physical-chemical and growth variables as specific growth rate (SGR), duplication time (DT), maximum mean density (MXD) and yield (Y) were analyzed. Temperature values showed significant positive correlation ($P<0.05$) with the densities changes of *D. similis* at DACC and DB. Statistic differences ($P<0.05$) were found to SGR, DT, MXD and Y among the treatments, in that DBC achieved a Y of $1,065.8 \pm 313.3$ org.L⁻¹.day⁻¹ and a MXD 800% higher than DACC treatment. Thus, the reuse of water from tilapia farming in biofloc system in *Daphnia similis* culture showed a promising alternative to live food production in the aquaculture.

Keywords: BFT, *Oreochromis niloticus* , live food, *Chlorella vulgaris*, cladoceran.

INTRODUÇÃO

A aquicultura em sistemas de bioflocos tem apresentado resultados de produção positivos tanto no cultivo de camarões (*Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*, *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Macrobrachium rosenbergii*) (Emerenciano, Ballester, Cavalli & Wasielesky 2012; Esparza-Leal, Xavier & Wasielesky Jr 2016; Khatoon *et al.* 2016; Xu, Morris & Samocha 2016; Huang *et al.* 2017; Miao *et al.* 2017) como no cultivo de peixes (*Oreochromis niloticus*, *Ictalurus punctatus*, *Clarias gariepinus*, *Labeo rohita*) (Green, Schrader & Perschbacher 2014; Ahmad *et al.* 2016; Day, Salie & Stander 2016; Ekasari *et al.* 2016).

Seguindo esta mesma tendência, o cultivo de tilápia (*O. niloticus*) em sistema de bioflocos tem demonstrado bons resultados em termos de crescimento e sobrevivência destes organismos. Segundo Pérez-Fuentes, Hernández-Vergara, Pérez-Rostro & Fogel (2016) pode-se atingir produtividade de 18 kg.m⁻³ de tilápia com elevada sobrevivência (95%) em sistemas de bioflocos adotando uma relação C:N de 10:1. Esta produtividade pode ser ainda mais ampliada (37,93 kg.m⁻³) quando utiliza-se o poli-β-hidroxibutírico como fonte de carbono orgânico (Zhang, Luo, Tan, Liu & Hou 2016).

Apesar dos excelentes resultados produtivos dos organismos cultivados, a problemática atual do efluente da aquicultura proveniente em sistemas de bioflocos é devido à carga de nutrientes com altas concentrações de fósforo e nitrato. Assim, torna-se imperativo a condução de pesquisas que visem a reutilização e/ou biorremediação desses efluentes. Trabalhos já relatam o uso do efluente de bioflocos na produção de biomassa algal, na complementação da dieta dos organismos cultivados e em sistemas de aquaponia (Sabry Neto, Santaella & Nunes 2015; De Abreu *et al.* 2016; Khatoon *et al.* 2016; Magnotti, Lopes, Derner & Vinatea 2015 a, b; Pinho, Molinari, Mello, Fizesimmons & Emerenciano 2017).

Dentro desta conjuntura, o reuso da água proveniente de cultivos em sistema de bioflocos para a produção de alimento vivo (zooplâncton) torna-se uma opção sustentável, tendo o microcrustáceo *Daphnia* como um forte candidato. Conhecido como “pulga d’água”, esse cladóceros é muito utilizado como opção de alimento vivo na aquicultura, principalmente na piscicultura de água doce. Sua biomassa é ofertada às larvas de peixes e crustáceos, bem como indivíduos jovens e adultos, sendo extremamente atrativa devido a sua motilidade e composição nutricional (Ocampo, Botero & Restrepo 2010). Segundo Barrera, De Lara

Andrade, Mejía, Castro Mejía & Malpica Sánchez (2003), *Daphnia* sp., em matéria seca, possui um elevado valor proteico (50%) e valores de ácidos graxos da ordem de 20-27%.

Em termos de perfil de aminoácidos, este microcrustáceo apresenta: arginina (10,26%), cistina (1,17%), histidina (2,69%), metionina (3,45%), triptofano (3,62%) e tirosina (4,27%) (Torretera & Tacon 1989) os quais são importantes para o desenvolvimento dos organismos aquáticos. Além disso, atua no aumento da resistência a agentes patógenos. Chiu, Shiu, Wu, Lin & Liu (2015) identificou maior resistência em larvas de *Lates calcarifer* a *Aeromonas hydrophila* quando alimentadas com farinha de *Daphnia similis* (50 e 100 g.kg⁻¹) o que pode ser explicada pelas elevadas quantidades de quitosana que elas possuem, como é o caso da *D. longispina* a qual apresenta uma variação de 75-76% de quitosana (Kaya *et al.* 2014).

Espécies do gênero *Daphnia* são abundantes em ambientes detentores de alta concentração de matéria orgânica (detritos), onde há a proliferação de bactérias, leveduras e microalgas, pois utilizam estes componentes como alimento (Torretera & Tacon 1989; Barrera *et al.* 2003). O sistema de cultivo em bioflocos “Biofloc Technology (BFT)” destaca-se por possuir estas características e ter flocos constituídos principalmente por bactérias, microalgas, fezes, restos de organismos mortos, protozoários, cianobactérias filamentosas, pequenos metazoários, dinoflagelados e formas larvais de invertebrados (Wasielesky *et al.* 2006; Ballester *et al.* 2010). Além disso, os bioflocos são ricos em nutrientes, como: vitaminas e proteínas, apresentando atratividade para o animal cultivado (Silva *et al.* 2013), podendo assim ser fonte de alimento também para as *Daphnia*.

Dentre as microalgas ofertadas na dieta de cladóceros, a clorofícea *Chlorella vulgaris* espécie de água doce, é a mais comum por ser abundante em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) e constitui-se como uma ótima opção de alimento para *Daphnia* sp., pois proporciona melhoria no seu crescimento, consequentemente uma melhor eficiência produtiva (Alva-Martínez, Sarma & Nandini 2004; Otero, Muñoz, Medina-Robles & Cruz-Casallas 2013). Dentro deste contexto, este estudo objetivou avaliar o cultivo de *Daphnia similis* utilizando efluente proveniente do cultivo de tilápia em sistema de bioflocos com a adição de *Chlorella vulgaris* na dieta.

METODOLOGIA

Delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Produção de Alimento Vivo – LAPAVI, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Pernambuco, Brasil. Três tratamentos foram dispostos de forma inteiramente casualizada, com cinco repetições cada, perfazendo um total de 15 unidades experimentais. Os tratamentos foram: DACC - cultivo de *Daphnia similis* em água clara com inoculação da microalga *Chlorella vulgaris*.; DB- cultivo de *D. similis* em água de bioflocos de cultivo de tilápia sem inoculação de *C. vulgaris* e DBC- cultivo de *D. similis* em água de bioflocos de cultivo de tilápia com inoculação da microalga *C. vulgaris*. A relação carboidrato:nitrogênio não foi mantida ao longo do cultivo da *D. similis*.

Condições experimentais

Durante 30 dias o microcrustáceo *D. similis* foi cultivado em caixas plásticas transparentes retangulares de aproximadamente 20 L (42 x 17 x 29 cm) com 12 L de volume útil sob aeração constante, com duas pedras porosas em cada caixa. As unidades experimentais DBC e DB tiveram sua salinidade ajustada para 2 g.L⁻¹, enquanto que a DACC (cultivo tradicional) não tiveram ajuste de salinidade, sendo cultivadas em água doce e realizada trocas de água semanais de 50% do volume. A salinidade de 2 g.L⁻¹ foi estabelecida a partir de trabalhos prévios realizados no laboratório e que ainda não foram publicados. Organismos adultos (~1 mm de tamanho) foram estocados a uma densidade de 9 org.L⁻¹ (Buratini & Aragão 2012), perfazendo 108 ind.caixa⁻¹, os quais foram provenientes do cultivo estoque do Laboratório de Produção de Alimento Vivo (LAPAVI), e foram submetidos a um fotoperíodo natural 12C: 12E, com intensidade luminosa de aproximadamente 1600 lux (lâmpadas led de 10 W).

Os organismos foram contados a cada três dias a partir do método volumétrico, com auxílio de um foco de luz, retirando-se amostras homogeneizadas de 2 L de cada unidade experimental, onde densidades menores que 250 indivíduos foram contados um a um e maiores que 250 indivíduos foram contados com auxílio de pipeta de 10 mL (Manso 2007). A cada dois dias a microalga *C. vulgaris* foi ofertada em todas as unidades experimentais (DACC e DBC) a uma densidade de 1x10⁵ cél.mL⁻¹.*Daphnia*⁻¹, adaptado de Buratini & Aragão (2012).

Utilização do biofloco

A água proveniente do cultivo da tilápia (*O. niloticus*) em sistema de biofloco, após 45 dias de cultivo, C:N 12:1, densidade de 40 ind.m⁻³, peso médio de 30,57 ± 10,04 g, apresentou as seguintes características: temperatura 25,66 °C, pH 7,55, sólidos sedimentáveis 8 mL.L⁻¹, alcalinidade 115 mg CaCO₃.L⁻¹, salinidade 2 g.L⁻¹, oxigênio dissolvido 6,45 mg.L⁻¹, nitrito 1,13 mg.L⁻¹, nitrato 0,181 mg.L⁻¹, nitrogênio amoniacal 0,197 mg.L⁻¹, ortofosfato 2,10 mg.L⁻¹ e sólidos suspensos totais 27,7 mg.L⁻¹. Esta água foi utilizada na sua forma bruta, sem nenhum tratamento prévio. Nos tratamentos DB e DBC o volume de biofloco utilizado foi de 2,5 L. caixa⁻¹, sendo o restante do volume complementado com água doce clara tratada previamente com cloro (2 mL.L⁻¹) e aerada. Desta forma, 25 litros de água proveniente do cultivo da tilápia em sistema de bioflocos foram distribuídos nas unidades experimentais, ajustando-se a alcalinidade para aproximadamente 50 mg CaCO₃.L⁻¹, faixa ideal para espécie (ABNT, 2016).

Cultivo estoque do microcrustáceo

A cepa de *D. similis* foi cedida gentilmente pelo Laboratório de Limnologia (LALIMNO/UFRPE). O cultivo estoque de *D. similis* foi realizado no LAPAVI em tubos (30 mL) e béqueres de um e dois litros, em sistema semi-contínuo, sendo repicadas duas vezes por semana e alimentadas com a microalga *C. vulgaris* a cada dois dias *ad libitum*, com intensidade luminosa de aproximadamente 2.000 lux e fotoperíodo 12C:12E. Todos os béqueres foram submetidos à aeração. A água de cultivo foi decolorada e aerada, apresentando pH de 7,2 - 7,8, temperatura de 25 - 27 °C, alcalinidade variando de 35 - 50 mg de CaCO₃.L⁻¹ e salinidade de 0,1 - 1,0 g. L⁻¹ sendo adicionada água bruta de cultivo de tilápia em bioflocos na proporção de 3% do volume a ser cultivado mais vitaminas do complexo B cianocobalamina e biotina a 0,2 mg.L⁻¹.

Cultivo da microalga

A microalga *C. vulgaris* foi cultivada em meio de cultura Provasoli (1 mL.L⁻¹) (Provasoli, 1968) com adição de vitaminas cianocobalamina, tiamina e biotina (0,2 mL.L⁻¹) em volumes de 500 mL e posteriormente repicados para volumes maiores (2 L) em sistema semi-contínuo, fotoperíodo integral e intensidade luminosa de aproximadamente 2.000 lux.

Qualidade de água

O oxigênio dissolvido, a salinidade, o pH, os sólidos dissolvidos totais (SDT) e a temperatura foram monitorados (modelo YSI 100, Yellow Springs, OH, EUA) uma vez por dia (às 10:00 horas) e alcalinidade ($\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$) uma vez por semana (APHA, 2005). O nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), sólidos suspensos totais (SST) e ortofosfato (PO_4^{-3}) foram monitorados a cada quinze dias (0, 15º e 30º dia), ou seja, nas fases inicial, intermediária e final do cultivo seguindo os métodos descritos por Koroleff (1976); Golterman, Clymo & Ohnstad (1978); Mackereth, Heron & Talling (1978), and APHA (2005) respectivamente.

Variáveis de crescimento analisadas

Durante os experimentos foram verificadas as seguintes variáveis de crescimento: taxa de crescimento específico (TCE); tempo de duplicação (TD); rendimento (R), densidade média máxima (DMX), dia de máxima densidade (DMD) conforme Otero *et al.* (2013). TCE, TD e R foram calculados até o dia de máxima densidade celular.

Análise estatística

Através do programa R (R Core Team 2015; Gross & Ligges 2015; Wickham 2016) realizou-se o teste de normalidade de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) ($p < 0,05$), homogeneidade de Bartlett ($p < 0,05$), ANOVA, Kruskal-Wallis e posthoc de Dunn ($p < 0,05$) para as variáveis de qualidade de água e de crescimento. Havendo a presença de outliers nas variáveis analisadas, optou-se que eles fossem removidos para atingir uma maior precisão. Atingindo a normalidade, aplicou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$) a fim de analisar diferenças entre os tratamentos. Além disso, os dados de crescimento foram correlacionados com os dados de qualidade de água seguindo o método de Spearman, sendo previamente logaritimizados ($\log(x+1)$).

RESULTADOS

Variáveis de qualidade de água

Os valores médios relativos à temperatura, alcalinidade, nitrito (NO_2), nitrogênio amoniacal total (NAT) e sólidos suspensos totais (SST) não obtiveram diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Já os valores médios de pH, oxigênio dissolvido (OD), salinidade, sólidos dissolvidos totais (SDT), ortofosfato (PO_4^{-3}) e nitrato (NO_3)

apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Os valores relativos às variáveis de qualidade de água estão resumidos na Tabela 1.

Em contrapartida, analisando os tratamentos nas fases inicial (dia 0), intermediária (15º dia) e final do cultivo (30º dia) observaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) para as variáveis NO_2 , NO_3 , NAT, PO_4^{3-} e SST (Figura 1). As concentrações de nitrato e fósforo se mantiveram elevadas nos tratamentos DB e DBC desde o início até o final do cultivo.

Quanto a análise de correlação de Spearman, as variáveis pH, temperatura e sólidos totais dissolvidos (TDS) obtiveram correlação positiva com a variação da densidade populacional de *D. similis*, com valores de r iguais a 0,38 ($p = 0,003$), 0,59 ($p < 0,001$) e 0,31 ($p = 0,015$), respectivamente (Tabela 2).

Inserir Tabela 1

Inserir Figura 1

Inserir Tabela 2

Variáveis de crescimento do cultivo de D. similis

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) quanto as variáveis de crescimento densidade (org.L^{-1}), taxa de crescimento específico (TCE), tempo de duplicação (TD) e rendimento (R). O tratamento DBC destacou-se dos demais em relação a todas as variáveis de crescimento analisadas, obtendo densidade máxima média de $1.066,80 \pm 313,30 \text{ org.L}^{-1}$, TCE de $3,23 \pm 2,0 \text{ dia}^{-1}$, TD de $0,123 \pm 0,07 \text{ dia}$ e R de $1.065,8 \pm 313,3 \text{ org.dia}^{-1}$ (Tabela 3). Quanto ao dia de máxima densidade, os tratamentos DACC e DBC foram semelhantes, tendo o dia 9 de cultivo como o dia de máxima densidade. Já o DB obteve o dia 6 como o dia de máxima densidade (Figura 2).

Após o dia de máxima densidade todos os tratamentos obtiveram redução na densidade populacional de *D. similis*, tendo, porém, um incremento nos últimos seis dias de cultivo nos tratamentos DB e DBC (Figura 2). Em paralelo, nos últimos dez dias foi detectado a presença de uma espécie de cianobactéria *Pseudanabaena* sp. nos tratamentos DB e DBC.

Inserir Figura 2.

Inserir Tabela 3.

DISCUSSÃO

A utilização da água proveniente do cultivo de tilápia *O. niloticus* em sistema de bioflocos como inóculo para o cultivo de *D. similis* foi considerada o principal fator para as diferenças encontradas entre os tratamentos no que tange a qualidade de água. Variáveis como o pH e OD tendem a diminuir em água de bioflocos (DB e DBC), em comparação a água clara (DACC), devido a demanda elevada por oxigênio através da oxidação da matéria orgânica, principalmente pela ação das bactérias e dos flocos presentes no sistema (Avnimelech 2009). Porém, isso não afetou o crescimento do cladóceros, estando os valores dentro da faixa ideal de cultivo da espécie (Hoff & Snell 2004). Ainda segundo estes mesmos autores, a *Daphnia* consegue sobreviver em ambientes pobres em oxigênio devido sua capacidade de produção de hemoglobina, a qual aumenta a habilidade de sequestro do oxigênio dissolvido na água.

Em paralelo, a água de bioflocos apresenta como características elevadas concentrações de sólidos suspensos, nitrato e ortofosfato que se acumulam ao longo do cultivo (Ahmad *et al.* 2017; Emerenciano *et al.* 2017). Assim, a utilização da água do cultivo da tilápia em sistema de bioflocos proporcionou tais diferenças entre os tratamentos (Tabela 1).

A salinidade adotada de 2 g.L⁻¹ apresenta uma importante função de balanço iônico no sistema, baseado em trabalhos anteriores ainda não publicados os quais avaliaram a influência da salinidade no crescimento de *D. similis* em água proveniente de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos. Além dessa importante função, a salinidade usada resultou no impedimento da formação de muco nas paredes dos tanques, responsável pela aderência dos neonatos de *D. similis*. Este fato foi observado em estudos anteriores em água doce e no tratamento DACC mesmo com a troca de água realizada semanalmente.

Ainda com relação à água proveniente do bioflocos do cultivo de tilápia em sistema de bioflocos, Hoff & Snell (2004) relatam que diferentes concentrações de ortofosfato estimulam a reprodução de *Daphnia*, onde variações de 1 a 7 mg.L⁻¹ foram documentadas como estimulantes na reprodução de *D. pulex* e *D. magna*. Neste sentido, os tratamentos DB (1,17 ± 0,077 mg PO₄⁻³.L⁻¹) e DBC (1,188 ± 0,092 mg PO₄⁻³.L⁻¹) possuíam condições ideais para o estímulo reprodutivo, porém sobressaindo-se o DBC já que possuía a microalga *C. vulgaris* como alimento e fonte de ácidos graxos.

Outro fator a ser considerado na água é a concentração de nitrato dentro do sistema. Segundo Emerenciano *et al.* (2017) as concentrações de nitrato em sistema de bioflocos variam de 0,5-20 mg.L⁻¹, estando o presente trabalho dentro deste intervalo. Elevadas

concentrações de nitrato, superiores a 250 mg.L^{-1} , causam redução na densidade de *D. magna* com aumento na taxa de mortalidade, enquanto que de concentrações menores que 40 mg.L^{-1} as quais estimulam o crescimento (Maceda-Veiga *et al.* 2015).

Com relação às concentrações dos nutrientes, principalmente o nitrato e ortofosfato, em todos os tratamentos não foi observado nenhuma tendência significativa na diminuição desses níveis quando se compara as fases inicial e final do cultivo de *D. similis*, principalmente no DBC. Este fato pode está associado à entrada da microalga no sistema juntamente com meio de cultura, ofertada em sua forma líquida. No entanto, foi verificado que o tratamento DBC foi o único que não apresentou incremento de nitrogênio amoniacal na água durante as fases inicial, intermediária e final do cultivo, estando aparentemente estável (Figura 1). Possivelmente esse fato pode ser justificado pela presença da microalga no sistema, a qual auxiliou no processo de ciclagem desses compostos nitrogenados.

Analisando as correlações encontradas, ficou claro a influência das variáveis pH, SDT e temperatura sobre o crescimento de *D. similis*, todas apresentando correlações positivas com a variável densidade (org.L^{-1}). De acordo com Gama-Flores *et al.* (2015) há um aumento na taxa reprodutiva do cladóceros *Moina macrocopa* quando exposta a temperaturas de 25°C , com redução de sua densidade a 30°C .

Em termos de densidade, o tratamento com a utilização do biofloco acrescido com a microalga *C. vulgaris* (DBC) foi considerado o que apresentou os melhores resultados, atingindo diferenças estatísticas, de densidades de *D. similis* (Tabela 3, Figura 2), sendo uma alternativa mais vantajosa para o cultivo deste cladóceros. Otero *et al.* (2013) cultivando os cladóceros *Diaphanosoma* sp. e *Alona* sp. em sistema tradicional conseguiram densidades máximas de $550 \pm 500 \text{ org.L}^{-1}$ e $383 \pm 200 \text{ org.L}^{-1}$, respectivamente, combinando a dieta de microalga *C. vulgaris* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Da mesma forma, Ocampo *et al.* (2010) que obteve densidades máximas de $820 \pm 9,57 \text{ org.L}^{-1}$ no cultivo de *D. magna* alimentada com levedura e farelos de soja e aveia. Além dos resultados de densidade, melhores TCE, TD e R foram obtidas neste estudo, superando outros trabalhos realizados com *Daphnia* ou cladóceros como em Ocampo *et al.* (2010) nos quais obtiveram máximos TCE, TD e R de $0,258 \pm 0,001 \text{ .dia}^{-1}$, $2,69 \pm 0,01 \text{ dia}$ e $70 \text{ org.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente (Tabela 3).

Por outro lado, pesquisas que testaram meios de cultivo de *Daphnia* utilizando diferentes fontes de esterco animal atingiram resultados bem expressivos. Altas concentrações de *D. carinata* ($4660 \pm 523 \text{ org.L}^{-1}$) foram atingidas ao nono dia de cultivo, semelhante a este

estudo, decaindo nos demais dias, em um total de 21 dias de produção utilizando esterco de galinha (Paray & Al-Sadoon 2016). Semelhantemente, Herawati, Nugroho, Pinandoyo & Hutabarat (2017).no cultivo de *D. magna* com diferentes fontes de esterco animal (galinha, bode e codorna) fermentadas por bactérias probióticas (*Lactobacillus casei* e *S. cerevisiae*) atingiram densidades máximas também com a utilização de esterco de galinha (2.111.788,9 org.L⁻¹).

No que diz respeito ao tratamento em que se teve apenas o biofloco como alimento (DB), apesar de não ter se diferenciado do controle, o crescimento da *D. similis* foi inferior ao DBC (Tabela 3). Isso pode está relacionado não só pela ausência da microalga, mas também ao tamanho ideal do biofloco que seja possível a filtração e ingestão por estes cladóceros, já que estes organismos são capazes de filtrar partículas que variam de 1 a 50 µm de diâmetro (Ebert 2005). Azim e Little (2008) encontraram variação no tamanho do biofloco de 50 a 200 µm durante 84 dias de cultivo de *O. niloticus*. Segundo Ekasari *et al.* (2014) o conteúdo nutricional varia de acordo com o tamanho do biofloco, onde aqueles >100 µm apresentam valores mais elevados de proteínas (27,8%) e de lipídeos (7,5%), enquanto aqueles <48 µm possuem maiores concentrações de aminoácidos.

Com relação à escolha da microalga, a clorofícea *C. vulgaris* é frequentemente ofertada a cladóceros como dieta devido sua composição nutricional, principalmente ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), constituindo-se, portanto, uma ótima opção de alimento para *Daphnia* sp. Alcántara-Azuara *et al.* (2014) cultivando *D. pulex* sob diferentes dietas de microalgas verdes (Chlorophyta) *Sphaerocystis* sp., *C. vulgaris* e *Haematococcus pluvialis* obtiveram resultados similares a este estudo quando alimentadas com *C. vulgaris* (1395 ± 24 org.L⁻¹), porém atingiram valores superiores quando alimentadas com *Haematococcus pluvialis* (1933 ± 60 org.L⁻¹).

Analisando os dias de cultivo, o dia de máxima densidade ao 9º dia apresenta uma vantagem para a produção de *D. similis* utilizando água oriunda de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos, pois o retorno torna-se mais rápido para o produtor, já que o tempo de retirada da produção é curto. Em outros trabalhos de cultivo de *Daphnia* em água clara, os dias de máxima densidade variaram de 24º ao 28º dia de cultivo (Alcántara-Azuara *et al.* 2014; Otero *et al.*, 2013). A forte característica da presença de bactérias no biofloco pode ter contribuído para o rápido crescimento, já que determinadas bactérias atuam simbioticamente no aumento da taxa reprodutiva de espécies de *Daphnia*, como é o caso das pertencentes ao

grupo *Proteobacteria* (Qi, Nong, Preston, Bem-Ami & Ebert 2009; Peerakietkhajorn, Tsukuda, Kato, Matsuura & Watanabe 2015).

No entanto, o decréscimo da densidade após o 9º (DACC e DBC) e 6º dias (DB) pode está relacionada ao estresse relativo ao aumento populacional no sistema. O aumento na densidade de *Daphnia* tem influências sobre a taxa de fecundidade e sobrevivência dos organismos, sendo mais sensível para os organismos adultos em relação aos jovens, limitando o crescimento por atingir possivelmente a capacidade de suporte do sistema (Gliwicz, Maszczyk & Uszko 2012; Adotey, Banks, Flores & LeBlanc 2015) . Porém, nos últimos dez dias de cultivo os tratamentos DB e DBC obtiveram um incremento populacional, possivelmente devido à presença da cianobactéria *Pseudanabaena* sp. nesses tanques.

Cianobactérias são comumente relatadas em trabalhos relativos à microbiota em sistemas de bioflocos, sendo suas concentrações variadas de acordo com o tipo do biofloco (Lezema-Cervantes & Paniagua-Michel 2010; Green *et al.* 2014; Wei, Liao & Wang 2016; Emerenciano *et al.* 2017). Provavelmente ela foi oriunda do inóculo da água de bioflocos introduzido no início do cultivo, estabelecendo-se aproximadamente 20 dias após. Segundo Olvera-Ramírez, Centeno-Ramos & Martínez-Jerónimo (2010) *D. magna* quando expostas a células livres de cianobactéria *P. tenuis* não sofreram qualquer inibição, mudança comportamental ou efeito tóxico. Já Fu *et al.* (2017) obtiveram melhor taxa de crescimento em *D. magna* com o mix da cianobactéria *Oscillatoria* sp. e a microalga verde *Scenedesmus obliquus* como dieta alimentar. Isso leva ao questionamento de que possivelmente uma dieta baseada em alga verde juntamente com uma cianobactéria (do próprio biofloco) poderia potencializar ainda mais o cultivo de *D. similis*.

Assim, a utilização da água proveniente de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos propicia uma alternativa ao uso desse resíduo, proporcionando um destino produtivo para o setor aquícola no que diz respeito à produção de alimento vivo de forma sustentável. Assim, o que antes seria rejeitado, passa a ter uma função para a produção de biomassa que poderá ser utilizada na alimentação posterior de larvas de peixes, crustáceos, entre outros. Isto é de extrema relevância quando se questiona o destino final da água do cultivo em sistema de bioflocos. Trabalhos já relatam o uso da água de bioflocos na produção de biomassa algal, na complementação da dieta de organismos cultivados e em sistemas de aquaponia (Sabry Neto *et al.* 2015; Khatoon *et al.* 2016; De Abreu *et al.* 2016; Magnotti *et al.* 2015 a, b ; Pinho *et al.* 2017). Assim, pesquisas que visem à aplicabilidade do uso do efluente da aquicultura em

sistema de bioflocos são de grande valia não só para o produtor na agregação de renda, mas também para o meio ambiente.

Deste modo, o uso da água de cultivo de tilápia em sistema de bioflocos como inóculo combinado com a oferta da microalga *C. vulgaris* apresenta uma alternativa promissora para a produção de *D. similis* como alimento vivo para aquicultura, tendo um crescimento 800% superior do que em água clara. No entanto, futuras pesquisas relacionadas ao efeito de novas dietas microalgais na produção de *D. similis* em água de cultivo tilápia em sistema de bioflocos, bem como o conteúdo de ácidos graxos e o efeito da inserção da biomassa produzida de *D. similis* na dieta de larvas de peixe e crustáceos devem ser consideradas para melhores esclarecimentos quanto à viabilidade desta atividade para o setor aquícola.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos órgãos de fomento à pesquisa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Ciência no Estado de Pernambuco (FACEPE) pelas bolsas cedidas aos autores deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) (2016) *Aquatic ecotoxicology – Acute toxicity – Test with Daphnia spp. (Cladocera, Crustacea)* (ABNT NBR 12713:2016) Retrieved from <http://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=355914>
- De Abreu, J., Brito, L.O., De Moraes, L. B. S., Silva, D. L. B., Barbosa, S. M. D., Gálvez, A. O. (2016). Utilization of solid residue from shrimp culture biofloc system for microalgae *Navicula* sp production. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(4), 780-790. doi: 10.20950/1678-2305.2016v42n4p780
- Adoteye, K., Banks, H. T., Cross, K., Eytcheson, S., Flores, K. B., LeBlanc, G. A., Stokely, S. (2015). Statistical validation of structured population models for *Daphnia magna*. *Mathematical Biosciences*, 266, 73–84. doi:10.1016/j.mbs.2015.06.003
- Ahmad, H. I., Verma, A. K., Babitha Rani, A. M., Rathore, G., Saharan, N., & Gora, A. H. (2016). Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against

- 403 *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. *Aquaculture*,
404 457, 61–67. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.02.011
- 405 Alcántara-Azuara, A. K., Contreras-Rodríguez, A. I., Reyes-Arroyo, N.E.; Castro-Mejía, J.,
406 Castañeda-Trinidad, H., Castro Mejía, G., Ocampo-Cervantes, J. A. (2014)
407 Comparación de la densidad poblacional de *Daphnia pulex* Müller, 1785 en cultivos de
408 laboratorio alimentadas con tres microalgas verdes unicelulares (*Sphaerocystis* sp.,
409 *Chlorella vulgaris* y *Haematococcus pluvialis*). *Revista Digital del Departamento*, 1(5),
410 18-25.
- 411 Alva-Martínez, A., Sarma, & Nandini. (2004). Population Growth of *Daphnia pulex*
412 (Cladocera) on a Mixed Diet (*Microcystis aeruginosa* with *Chlorella* or *Scenedesmus*).
413 *Crustaceana*, 77(8), 973–988. doi:10.1163/1568540042781720
- 414 APHA (American Public Health Association) (2005) *Standard Methods for the Examination*
415 *of Water and Wastewater* Washington DC: American Public Health Association, USA.
- 416 Avnimelech Y. (2009) *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. The world Aquaculture
417 Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- 418 Azim, M. E., & Little, D. C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water
419 quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis*
420 *niloticus*). *Aquaculture*, 283(1-4), 29–35. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.06.036
- 421 Ballester, E. L. C., Abreu, P. C., Cavalli, R. O., Emerenciano, M., De Abreu, L., &
422 Wasielesky Jr, W. (2010). Effect of practical diets with different protein levels on the
423 performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange
424 suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 163–172. doi:
425 10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x
- 426 Barrera, T. C., De Lara Andrade, R., Mejía; C. G., Castro Mejía, J., Malpica Sánchez, A.
427 (2003). Alimento vivo en la acuicultura. *ContactoS*, 48, 27-33.
- 428 Buratini, S. V. & Aragão, M. A. (2012). Food supplement in *Daphnia similis* and
429 *Ceriodaphnia dubia* cultures: effects of yeast and feed digestion. *Journal of the*
430 *Brazilian Society of Ecotoxicology*, 7(1), 21-26. doi: 10.5132/jbse.2012.01.004

- 431 Chiu, S.-T., Shiu, Y.-L., Wu, T.-M., Lin, Y.-S., & Liu, C.-H. (2015). Improvement in non-
432 specific immunity and disease resistance of barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), by
433 diets containing *Daphnia similis* meal. *Fish & Shellfish Immunology*, 44(1), 172–179.
434 doi:10.1016/j.fsi.2015.02.002
- 435 Day, S. B., Salie, K., & Stander, H. B. (2016). A growth comparison among three commercial
436 tilapia species in a biofloc system. *Aquaculture International*, 24(5), 1309–1322.
437 doi:10.1007/s10499-016-9986-z
- 438 Ebert, D. *Ecology, epidemiology and evolution of parasitism in Daphnia*. (2005) Bethesda
439 (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology
440 Information. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2036/>
- 441 Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S. H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E. H., Bossier, P., & De
442 Schryver, P. (2014). The size of biofloc determines the nutritional composition and the
443 nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, 426-427, 105–111.
444 doi:10.1016/j.aquaculture.2014.01.023
- 445 Ekasari, J., Suprayudi, M. A., Wiyoto, W., Hazanah, R. F., Lenggara, G. S., Sulistiani, R.,
446 Zairin, M. (2016). Biofloc technology application in African catfish fingerling
447 production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality
448 of eggs and larvae. *Aquaculture*, 464, 349–356. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.07.013
- 449 Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Cavalli, R. O., & Wasielesky, W. (2011). Biofloc
450 technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for
451 pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*,
452 43(3), 447–457. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02848.x
- 453 Emerenciano, M. G. C., Martínez-Córdova, L. R., Martínez-Porchas, M., & Miranda-Baeza,
454 A. (2017). Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in
455 Aquaculture. *Water Quality*. doi:10.5772/66416
- 456 Esparza-Leal, H. M., Amaral Xavier, J. A., & Wasielesky, W. (2016). Performance of
457 *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared in indoor nursery tanks under biofloc
458 conditions at different salinities and zero-water exchange. *Aquaculture International*,
459 24(5), 1435–1447. doi:10.1007/s10499-016-0001-5

- 460 Fu, H., Xu, J., Xiao, E., He, F., Xu, P., Zhou, Q., & Wu, Z. (2017). Application of dual stable
461 isotopes in investigating the utilization of two wild dominant filamentous algae as food
462 sources for *Daphnia magna*. *Journal of Freshwater Ecology*, 32(1), 339–351.
463 doi:10.1080/02705060.2017.1298537
- 464 Gama-Flores, J. L., Huidobro-Salas, M. E., Sarma, S. S. S., Nandini, S., Zepeda-Mejia, R., &
465 Gulati, R. D. (2015). Temperature and age affect the life history characteristics and fatty
466 acid profiles of *Moina macrocopa* (Cladocera). *Journal of Thermal Biology*, 53, 135–
467 142. doi:10.1016/j.jtherbio.2015.10.005
- 468 Gliwicz, Z. M., Maszczyk, P., & Uszko, W. (2012). Enhanced growth at low population
469 density in *Daphnia*: the absence of crowding effects or relief from visual predation?
470 *Freshwater Biology*, 57(6), 1166–1179. doi:10.1111/j.1365-2427.2012.02783.x
- 471 Golterman, H. L., Clymo, R. S. & Ohnstad, M. A. M. (1978). *Methods for physical and*
472 *chemical analysis of fresh waters*. Oxford : Blackwell Scientific.
- 473 Green, B. W., Schrader, K. K., & Perschbacher, P. W. (2012). Effect of stocking biomass on
474 solids, phytoplankton communities, common off-flavors, and production parameters in a
475 channel catfish biofloc technology production system. *Aquaculture Research*, 45(9),
476 1442–1458. doi:10.1111/are.12096
- 477 Gross, J. & Ligges, U. (2015). *Nortest: Tests for Normality*. R package version 1.0-4. [online]
478 Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=nortest>
- 479 Herawati, V. E., Nugroho, R. A., Pinandoyo, & Hutabarat, J. (2017). Nutritional value
480 content, biomass production and growth performance of *Daphnia magna* cultured with
481 different animal wastes resulted from probiotic bacteria fermentation. *IOP Conference*
482 *Series: Earth and Environmental Science*, 55, 012004. doi:10.1088/1755-
483 1315/55/1/012004
- 484 Hoff, F.H. & Snell, T.W. (2004). *Plankton culture manual*. Horida Aqua Farms, Inc., 6th Ed.,
485 Florida, USA.
- 486 Huang, J., Yang, Q., Ma, Z., Zhou, F., Yang, L., Deng, J., & Jiang, S. (2016). Effects of
487 adding sucrose on *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) growth performance and water

- 488 quality in a biofloc system. *Aquaculture Research*, 48(5), 2316–2327.
489 doi:10.1111/are.13067
- 490 Kaya, M., Cakmak, Y. S., Baran, T., Asan-Ozusaglam, M., Menten, A., & Tozak, K. O.
491 (2014). New chitin, chitosan, and O-carboxymethyl chitosan sources from resting eggs
492 of *Daphnia longispina* (Crustacea); with physicochemical characterization, and
493 antimicrobial and antioxidant activities. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*,
494 19(1), 58–69. doi:10.1007/s12257-013-0488-9
- 495 Khatoon, H., Banerjee, S., Guan Yuan, G. T., Haris, N., Ikhwanuddin, M., Ambak, M. A., &
496 Endut, A. (2016). Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae. *International*
497 *Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 304–309. doi:10.1016/j.ibiod.2016.04.006
- 498 Koroleff, F. (1976) Determination of nutrients. In: Grasshoff, K. (Eds.), *Methods of Seawater*
499 *Analysis* (pp. 117–187).
- 500 Lezama-Cervantes, C., & Paniagua-Michel, J. (2010). Effects of constructed microbial mats
501 on water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* post-larvae. *Aquacultural*
502 *Engineering*, 42(2), 75–81. doi:10.1016/j.aquaeng.2009.12.002
- 503 Maceda-Veiga, A., Webster, G., Canals, O., Salvadó, H., Weightman, A. J., & Cable, J.
504 (2015). Chronic effects of temperature and nitrate pollution on *Daphnia magna*: Is this
505 cladoceran suitable for widespread use as a tertiary treatment? *Water Research*, 83,
506 141–152. doi:10.1016/j.watres.2015.06.036
- 507 Mackereth, F. J. H., Heron, J. & Talling, J. F. (1978) *Water Analysis: Some Revised Methods*
508 *for Limnologists*. London: Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- 509 Magnotti, C., Lopes, R., Derner, R., & Vinatea, L. (2015a). Using residual water from a
510 marine shrimp farming BFT system. part I: nutrient removal and marine microalgae
511 biomass production. *Aquaculture Research*, 47(8), 2435–2443. doi:10.1111/are.12691
- 512 Magnotti, C., Lopes, R., Derner, R., & Vinatea, L. (2015b). Using residual water from a
513 marine shrimp farming BFT system. Part II: *Artemia franciscana* biomass production
514 fed microalgae grown in reused BFT water. *Aquaculture Research*, 47(9), 2716–2722.
515 doi:10.1111/are.12720

- 516 Manso, P. R. J. (2007) *Produção em cativeiro de larvas de camarão marinho Litopenaeus*
 517 *vannamei: influência do campo magnético sobre a metamorfose e sobrevivência larval.*
 518 (Master's thesis. Programa de pós-graduação em engenharia de produção, UFSC, Santa
 519 Catarina, Brazil). Retrieved from:
 520 <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/90206>
- 521 Miao, S., Zhu, J., Zhao, C., Sun, L., Zhang, X., & Chen, G. (2017). Effects of C/N ratio
 522 control combined with probiotics on the immune response, disease resistance, intestinal
 523 microbiota and morphology of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*).
 524 *Aquaculture*, 476, 125–133. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.04.027
- 525 Sabry Neto, H., Santaella, S. T., & Nunes, A. J. P. (2015). Bioavailability of crude protein and
 526 lipid from biofloc meals produced in an activated sludge system for white shrimp,
 527 *Litopenaeus vannamei*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44(8), 269–275.
 528 doi:10.1590/s1806-92902015000800001
- 529 Ocampo, L. E., Botero, M. C. & Restrepo, L. F. (2010) Evaluación del crecimiento de um
 530 cultivo de *Daphnia magna* alimentado com *Saccharomyces cerevisiae* y um
 531 enriquecimento com avena soya. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23, 75-78.
 532 Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295023458009>
- 533 Olvera-Ramírez, R., Centeno-Ramos, C. & Martínez-Jerónimo, F. (2010) Toxic effects of
 534 *Pseudanabaena tenuis* (Cyanobacteria) on the cladocerans *Daphnia magna* and
 535 *Ceriodaphnia dubia*. *Hidrobiológica*, 20(3), 203-212. Retrieved from
 536 <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v20n3/v20n3a2.pdf>
- 537 Otero, A. P., Muñoz, M. P., Medina-Robles, V. & Cruz-Casallas, P. (2013) Efecto del
 538 alimento sobre variables productivas de dos especies de Cladóceros bajo condiciones de
 539 laboratorio. *Revista MVZ Córdoba*, 18, 3642-3647. Retrieved from
 540 <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v18s1/v18supla07.pdf>
- 541 Paray, B. A. & Al-Sadoon, M. K. (2016) Utilization of organic manure for culture of
 542 cladocerans, *Daphnia carinata*, *Ceriodaphnia carinata* e copepod, *Thermocyclops*
 543 *decipiens* under laboratory conditions. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 45(3),
 544 399-404. Retrieved from

- 545 [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/35039/1/IJMS%2045%283%29%20399-](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/35039/1/IJMS%2045%283%29%20399-404.pdf)
546 404.pdf
- 547 Peerakietkhajorn, S., Tsukada, K., Kato, Y., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2015). Symbiotic
548 bacteria contribute to increasing the population size of a freshwater crustacean, *Daphnia*
549 *magna*. *Environmental Microbiology Reports*, 7(2), 364–372. doi:10.1111/1758-
550 2229.12260
- 551 Pérez-Fuentes, J. A., Hernández-Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., & Fogel, I. (2016). C:N
552 ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*
553 raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture*, 452, 247–251.
554 doi:10.1016/j.aquaculture.2015.11.010
- 555 Pinho, S. M., Molinari, D., de Mello, G. L., Fitzsimmons, K. M., & Coelho Emerenciano, M.
556 G. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics
557 production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, 103, 146–153.
558 doi:10.1016/j.ecoleng.2017.03.009
- 559 Provasoli, L. (1968) Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe, A.
560 & Hattori, A., (Eds.), *Cultures and Collections of Algae* (pp.63-75).
- 561 Qi, W., Nong, G., Preston, J. F., Ben-Ami, F., & Ebert, D. (2009). Comparative
562 metagenomics of *Daphnia* symbionts. *BMC Genomics*, 10(1), 172. doi:10.1186/1471-
563 2164-10-172
- 564 R Core Team (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation
565 for Statistical Computing, Vienna, Austria. [online] Retrieved from [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
566 [project.org/](https://www.R-project.org/)
- 567 Silva, A. F., Lara, G. R., Ballester, E. C., Krumennauer, D., Abreu, P. C. & Wasielesky Jr, W.
568 (2013) Effect of high stocking densities on growth and survival of *Litopenaeus vannamei*
569 in final growout phase, reared in biofloc technology (BFT) system. *Ciência Animal*
570 *Brasileira*, 14(3), 279-287. Retrieved from
571 http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912013000300002

- 572 Torrentera, L. & Tacon, A. (1989) *La producción de alimento vivo y su importância en*
573 *acuicultura: Uma diagnosis*. FAO – Italia.
- 574 Wasielesky, W.J., Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Soares, R., Cavalli, R. O. & Abreu, P.
575 C. (2006) Flocos microbianos: O cultivo com troca zero de água. *Panorama da*
576 *Aquicultura*, 96, 14-31.
- 577 Wei, Y., Liao, S.-A., & Wang, A. (2016). The effect of different carbon sources on the
578 nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*,
579 465, 88–93. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.08.040
- 580 Wickham, H. (2016) *Readxl: Read Excel Files*. R package version 0.1.1. [online] Retrieved
581 from <https://CRAN.R-project.org/package=readxl>
- 582 Xu, W.-J., Morris, T. C., & Samocha, T. M. (2016). Effects of C/N ratio on biofloc
583 development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a
584 biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture*, 453,
585 169–175. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.11.021
- 586 Zhang, N., Luo, G., Tan, H., Liu, W., & Hou, Z. (2016). Growth, digestive enzyme activity
587 and welfare of tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc-based system with
588 poly- β -hydroxybutyric as a carbon source. *Aquaculture*, 464, 710–717.
589 doi:10.1016/j.aquaculture.2016.08.013

Tabela 1 Média $\pm$ desvio padrão (DP) (mínimo – máximo) atingidos pelas variáveis de qualidade de água observados no cultivo de *D. similis* utilizando água proveniente do cultivo da tilápia do Nilo em sistema de bioflocos.

Variáveis	DACC (média $\pm$ DP; mínimo – máximo)	DB (média $\pm$ DP; mínimo – máximo)	DBC (média $\pm$ DP; mínimo – máximo)
pH [†]	8,06 $\pm$ 0,40 ^a (6,76 – 8,94)	7,57 $\pm$ 0,36 ^b (6,22 – 8,29)	7,55 $\pm$ 0,38 ^b (6,16 – 8,35)
Temperatura (°C) [†]	26,05 $\pm$ 0,68 (24,67 – 26,98)	26,02 $\pm$ 0,67 (24,64 – 26,97)	26,06 $\pm$ 0,68 (24,59 – 27,00)
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹) [†]	5,35 $\pm$ 0,47 ^a (4,13 – 8,79)	5,44 $\pm$ 0,42 ^a (3,88 – 6,64)	5,27 $\pm$ 0,68 ^b (4,11 – 6,12)
Salinidade (g.L ⁻¹) [†]	0,13 $\pm$ 0,03 ^a (0,06 – 0,42)	2,10 $\pm$ 0,12 ^b (1,66 – 2,27)	1,99 $\pm$ 0,11 ^b (1,38 – 2,11)
SDT (mg.L ⁻¹) [†]	0,0002 $\pm$ 1.10 ⁻⁴ ^a (0,0001 – 0,0003)	0,0026 $\pm$ 3.10 ⁻⁴ ^b (0,0009 – 0,0028)	0,0024 $\pm$ 3.10 ⁻⁴ ^b (0,0008 – 0,0026)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹) [†]	32,75 $\pm$ 16,74 (10 – 60)	44 $\pm$ 32,43 (10 – 80)	42,75 $\pm$ 29,71 (10 – 85)
NAT (mg.L ⁻¹) [‡]	0,292 $\pm$ 0,245 ^a (0,035 – 0,762)	0,299 $\pm$ 0,260 ^a (0,071 – 0,878)	0,141 $\pm$ 0,046 ^a (0,073 – 0,237)
NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹) [‡]	0,086 $\pm$ 0,066 ^a (0,025 – 0,267)	0,181 $\pm$ 0,116 ^a (0,034 – 0,368)	0,207 $\pm$ 0,152 ^a (0,020 – 0,488)
NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹) [‡]	0,478 $\pm$ 0,092 ^a (0,331 – 0,679)	1,10 $\pm$ 0,112 ^b (0,919 – 1,214)	1,084 $\pm$ 0,151 ^b (0,806 – 1,264)
PO ₄ ⁻³ (mg.L ⁻¹) [‡]	0,025 $\pm$ 0,047 ^a (0,006 – 0,181)	1,170 $\pm$ 0,077 ^b (1,027 – 1,321)	1,188 $\pm$ 0,092 ^b (1,097 – 1,384)
SST (mg.L ⁻¹) [‡]	7,42 $\pm$ 6,31 (2,20 – 21,60)	26,07 $\pm$ 24,30 (3,20 – 72,00)	20,13 $\pm$ 10,96 (3,20 – 41,40)

[†]Teste Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações de medianas de Dunn (P<0,05).

[‡]Teste de Tukey (P<0,05). Letras diferentes entre as linhas indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os tratamentos.

§ sólidos dissolvidos totais (SDT), nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻), ortofosfato (PO₄⁻³) e sólidos suspensos totais (SST).

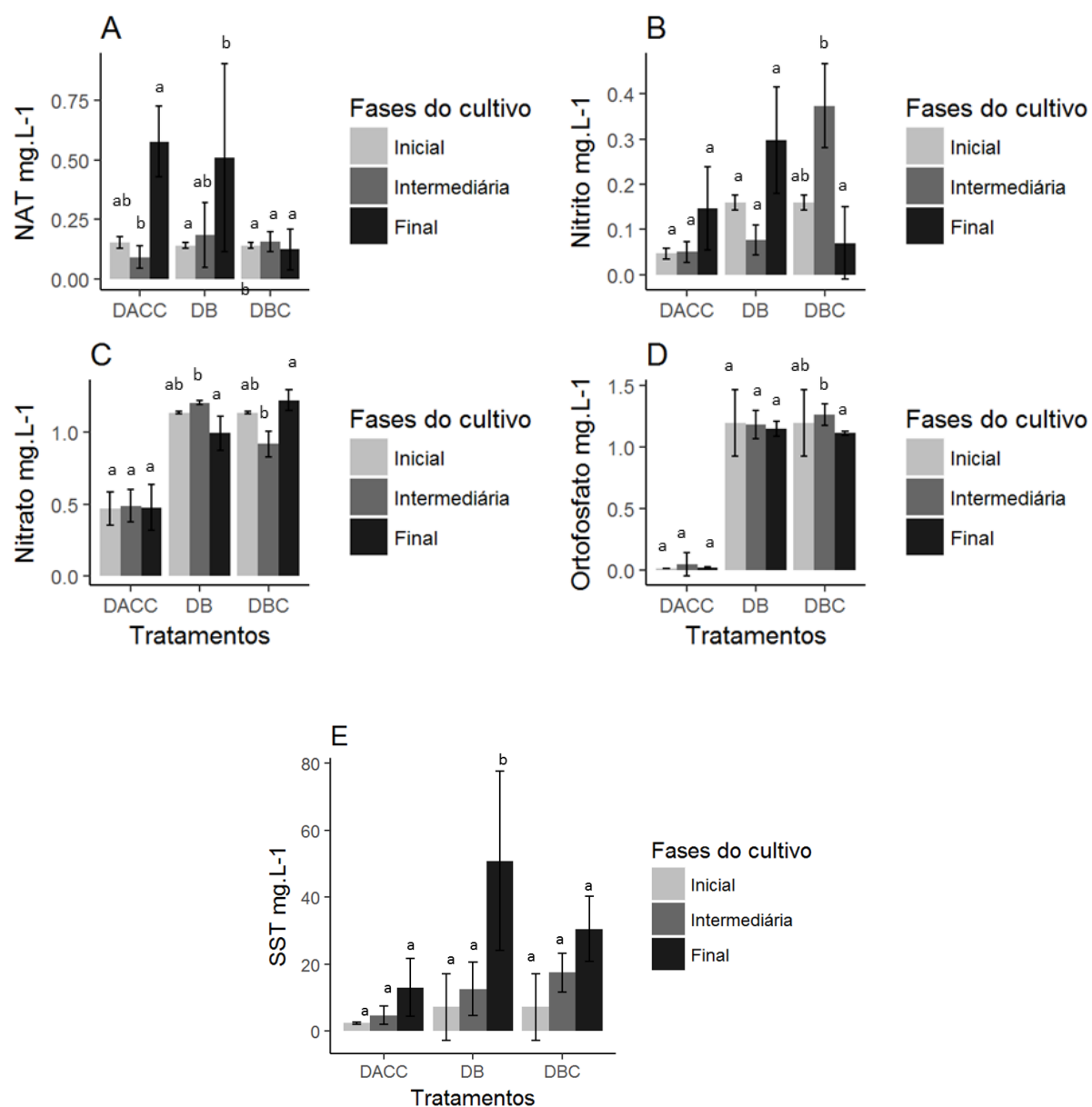


Figura 1. Quantidades de nitrogênio amoniacal total (NAT) (A), nitrito (B), nitrato (C), ortofosfato (D) e sólidos suspensos totais (SST) (E) no cultivo de *D. similis*. Quantidades presentes nos tratamentos nas fases inicial (dia 0 ■), intermediária (dia 15 ■) e final (dia 30 ■) de cultivo. Letras diferentes em cada tratamento indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) através do teste de comparação de médias de Tukey entre as fases do cultivo.

Tabela 2. Correlação de Spearman entre as variáveis de qualidade de água e densidade de organismos atingida no cultivo de *D. similis* em água do cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos. Valores de r (p-valor).

	Densidade (org.L ⁻¹)	pH	Salinidade (g.L ⁻¹)
pH	0,38 (0,003)	-	-
Temperatura (°C)	0,59 (<0,001)	0,56 (<0,001)	-
SDT (mg.L⁻¹)	0,31 (0,015)	-	0,97 (<0,001)
OD (mg.L⁻¹)	-	0,45 (<0,001)	-

† Sólidos dissolvidos totais (SDT); Oxigênio Dissolvido (OD).

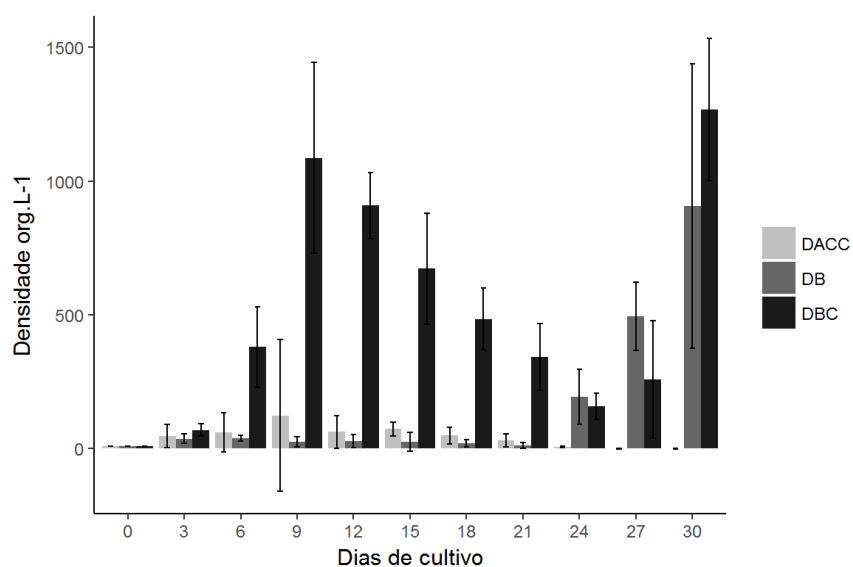


Figura 2 Curvas de crescimento de *D. similis* representada nos diferentes tratamentos (DACC, DB e DBC) ao longo dos 30 dias de cultivo.

Tabela 3 Média $\pm$ desvio padrão (DP) das variáveis de crescimento de cada tratamento encontradas no cultivo de *D. similis* em água de cultivo de tilápia do Nilo em sistema de bioflocos.

Variáveis de Crescimento		DACC (Média $\pm$ DP)	DB (Média $\pm$ DP)	DBC (Média $\pm$ DP)
Densidade máxima (org.L ⁻¹)	média – DMX	123,9 $\pm$ 177,89 ^a	38,55 $\pm$ 6,51 ^a	1086,8 $\pm$ 287,81 ^b
Dia de máxima densidade - DMD (dia)		9 ^o	6 ^o	9 ^o
Taxa de crescimento específico - TCE (%.dia ⁻¹)		1,91 $\pm$ 1,41 ^a	1,69 $\pm$ 1,12 ^a	3,23 $\pm$ 2,0 ^b
Tempo de duplicação - TD (dia)		0,257 $\pm$ 0,26 ^a	0,250 $\pm$ 0,17 ^a	0,123 $\pm$ 0,07 ^b
Rendimento (org.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	- R	99,32 $\pm$ 162,83 ^a	18,56 $\pm$ 10,2 ^a	1065,8 $\pm$ 313,3 ^b

†Letras diferentes entre as linhas indicam diferenças estatísticas no teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações de medianas de Dunn (P<0,05) entre os tratamentos.

5- Normas da Revista Aquaculture Research

Author Guidelines

Sections

1. [Submission](#)
2. [Aims and Scope](#)
3. [Manuscript Categories and Requirements](#)
4. [Preparing Your Submission](#)
5. [Editorial Policies and Ethical Considerations](#)
6. [Author Licensing](#)
7. [Publication Process After Acceptance](#)
8. [Post Publication](#)
9. [Editorial Office Contact Details](#)

1. SUBMISSION

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <http://mc.manuscriptcentral.com/are>.

The submission system will prompt authors to use an ORCID iD (a unique author identifier) to help distinguish their work from that of other researchers. [Click here](#) to find out more.

[Click here](#) for more details on how to use ScholarOne Manuscripts.

For help with submissions, please contact: AREeditorialoffice@wiley.com.

2. AIMS AND SCOPE

International in perspective, *Aquaculture Research* is published 12 times a year and specifically addresses research and reference needs of all working and studying within the many varied areas of aquaculture. The Journal regularly publishes papers on applied or scientific research relevant to freshwater, brackish, and marine aquaculture. It covers all aquatic organisms, floristic and faunistic, related directly or indirectly to human consumption. The journal also includes review articles, short communications and technical papers. Young scientists are particularly encouraged to submit short communications based on their own research.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

Original Articles: Generally original articles are based upon hypothesis-driven research describing a single study or several related studies constituting a single project. Descriptive studies are allowed providing that they include novel information and/or scholarly insight that contributes to advancement of the state of information on a given scientific topic.

Review Articles: Review articles are welcome and should contain not only an up-to-date review of scientific literature but also substantial scholarly interpretation of extant published literature. Compilations of scientific literature without interpretation leading to new insights or recommendations for new research directions will be returned to the author without review.

Short Communications: These should differ from full papers on the basis of scope or completeness, rather than quality of research. They may report significant new data arising from problems with narrow, well defined limits, or important findings that warrant rapid publication before broader studies are complete. Their text should neither exceed 1500 words (approximately six pages of typescript) nor be divided up into conventional sections. An abstract will be required on submission, but this is for informing potential reviewers and will not be part of the Short Communication. When submitting Short Communications, authors should make it clear that their work is to be treated as such.

4. PREPARING THE SUBMISSION

Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

Parts of the Manuscript

Main	Text	File
The text file should be presented in the following order:		
i. A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's best practice SEO tips);		
ii. A short running title of less than 40 characters;		
iii. The full names of the authors;		
iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;		
v. Abstract and keywords;		
vi. Main text;		

- Introduction
 - Materials and Methods
 - Results
 - Discussion
- vii. Acknowledgements;
- viii. References;
- ix. Tables (each table complete with title and footnotes);
- x. Figure legends;
- xi. Appendices (if relevant).

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Authorship

Please refer to the journal's Authorship policy in the [Editorial Policies and Ethical Considerations](#) section for details on author listing eligibility.

Acknowledgements

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the 'Conflict of Interest' section in the [Editorial Policies and Ethical Considerations](#) section below. Submitting authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Abstract

Please provide an abstract of no more than 200 words containing the major keywords.

Keywords

Please provide between 4-6 keywords.

References

References should be prepared according to the Publication Manual of the American Psychological Association (6th edition). This means in-text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). The use of et al is determined by the number of authors and whether it is the first time a reference has been cited in the paper:

- articles with one or two authors include all names in every in-text citation;
- articles with three, four, or five authors include all names in the first in-text citation but are abbreviated to the first author name plus et al. upon subsequent citations;

- articles with six or more authors are abbreviated to the first author name plus et al. for all in-text citations.

The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper. A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the [APA FAQ](#). Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

- **Journal article**
Beers, S. R. , & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159, 483–486. doi:10.1176/appi.ajp.159.3.483
-
- **Book**
Bradley-Johnson, S. (1994). Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.
-
- **Chapter in an Edited Book**
Borstrøm, I., & Elbro, C. (1997). Prevention of dyslexia in kindergarten: Effects of phoneme awareness training with children of dyslexic parents. In C. Hulme & M. Snowling (Eds.), *Dyslexia: Biology, cognition and intervention* (pp. 235–253). London: Whurr.
-
- **Internet Document**
Norton, R. (2006, November 4). How to train a cat to operate a light switch [Video file]. Retrieved from <http://www.youtube.com/watch?v=Vja83KLQXZs>

Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure

Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Figures

It is important that figures are supplied in accepted file formats and meet basic resolution requirements. [Click here](#) for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and

white so that they are legible if printed by a reader in black and white. If an author would prefer to have figures printed in colour in hard copies of the journal, a fee will be charged by the Publisher.

Additional Files

Appendices

Appendices will be published after the references. For submission they should be supplied as separate files but referred to in the text.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. It is hosted online and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc. [Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points

The following points provide general advice on formatting and style.

- **Spelling:** The journal uses British spelling; however, authors may submit using either option, as spelling of accepted papers is converted during the production process.
- **Abbreviations:** In general, terms should not be abbreviated unless they are used repeatedly and the abbreviation is helpful to the reader. Initially, use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. There after use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** Measurements should be given in SI or SI-derived units. Visit the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) website at www.bipm.fr for more information about SI units. The salinity of sea water should be given as gL⁻¹. Use the form gmL⁻¹ not g/ml. Avoid the use of g per 100 g, for example in food composition, use g kg⁻¹. If other units are used, these should be defined on first appearance in terms of SI units, e.g. mmHg.
- **Numbers:** numbers under 10 are spelt out, except for: measurements with a unit (8mmol/l); age (6 weeks old), or lists with other numbers (11 dogs, 9 cats, 4 gerbils).
- **Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name and the name and location of the manufacturer in parentheses.

Resource Identification Initiative

Aquaculture Research is supportive of authors wishing to add Research Resource Identifiers (RRIDs) for critical reagents and tools. More information can be found here: [Resource Identification Initiative](#)

Wiley Author Resources

Manuscript Preparation Tips: Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley's best practice tips on [Writing for Search Engine Optimization](#).

Editing, Translation, and Formatting Support: [Wiley Editing Services](#) can greatly improve the chances of a manuscript being accepted. Offering expert help in English language editing, translation, manuscript formatting, and figure preparation, Wiley Editing Services ensures that the manuscript is ready for submission.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Editorial Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Except where otherwise stated, manuscripts are single-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on confidentiality of the review process is [available here](#).

Data Storage and Documentation

Aquaculture Research encourages data sharing wherever possible, unless this is prevented by ethical, privacy, or confidentiality matters. Authors publishing in the journal are therefore encouraged to make their data, scripts, and other artefacts used to generate the analyses presented in the paper available via a publicly available data repository; however, this is not mandatory. If the study includes original data, at least one author must confirm that he or she had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Animal

Studies

A statement indicating that the protocol and procedures employed were ethically reviewed and approved, as well as the name of the body giving approval, must be included in the Methods section of the manuscript. Authors are encouraged to adhere to animal research reporting standards, for example the [ARRIVE reporting guidelines](#) for reporting study design and statistical analysis; experimental procedures; experimental animals and housing and husbandry. Authors should also state whether experiments were performed in accordance with relevant institutional and national guidelines for the care and use of laboratory animals:

- US authors should cite compliance with the US National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#), the US Public Health Service's [Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals](#), and [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).
- UK authors should conform to UK legislation under the [Animals \(Scientific Procedures\) Act 1986 Amendment Regulations \(SI 2012/3039\)](#).
- European authors outside the UK should conform to [Directive 2010/63/EU](#).

Species Names

Upon its first use in the title, abstract, and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species, and authority with correct use of parentheses; date of species description is not required) in parentheses. For well-known species, however, scientific names may be omitted from article titles. If no common name exists in English, only the scientific name should be used. For further information see American Fisheries Society Special Publication No. 20, *A List of Common and Scientific Names of Fishes from the United States and Canada*.

Conflict of Interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data;
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content;
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Additional Authorship Options: Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. ‘X and Y should be considered joint first author’ or ‘X and Y should be considered joint senior author.’

ORCID

As part of the journal’s commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. [Find more information here.](#)

Publication Ethics

This journal is a member of the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#). Note this journal uses iThenticate’s CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read the Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley’s Publication Ethics Guidelines can be found at authorservices.wiley.com/ethics-guidelines/index.html.

6. AUTHOR LICENSING

If a paper is accepted for publication, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [OnlineOpen](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please [click here](#). (Note that certain funders mandate a particular type of CC license be used; to check this please [click here](#).)

Self-Archiving Definitions and Policies: Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please [click here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: Authors who choose to publish using OnlineOpen will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please [click here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted Article Received in Production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with [Wiley Author Services](#). The author will be asked to sign a publication license at this point.

Proofs

Once the paper is typeset, the author will receive an email notification with the URL to download a PDF typeset page proof, as well as associated forms and full instructions on how to correct and return the file.

Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made during the editorial process – authors should check proofs carefully. Note that proofs should be returned within 48 hours from receipt of first proof.

Publication Charges

Colour figures. Colour figures may be published online free of charge; however, the journal charges for publishing figures in colour in print. If the author supplies colour figures, they will be sent a Colour Work Agreement once the accepted paper moves to the production process. If the Colour Work Agreement is not returned by the specified date, figures will be converted to black and white for print publication.

Early View

The journal offers rapid publication via Wiley's Early View service. [Early View](#) (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Access and Sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

Promoting the Article

To find out how to best promote an article, click [here](#).

Measuring the Impact of an Article

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with [Kudos](#) and [Altmetric](#).

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

AREditorialoffice@wiley.com

Author Guidelines updated July 2017

