

## Produção sustentável de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) com água reutilizada de um sistema Biofloc

Sustainable production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) with reused water from a Biofloc system

Islas-Ojeda Efraín<sup>1ID</sup>, García-Munguía Alberto<sup>1ID</sup>, Chávez-González Leticia<sup>1ID</sup>,  
López-Gutiérrez Mario<sup>1ID</sup>, Hernández-Valdivia Emmanuel<sup>1ID</sup>, García-Munguía  
Carlos<sup>2ID\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940, col. Ciudad Universitaria, CP 20131, Aguascalientes, Aguascalientes. México. <sup>2</sup>Departamento de Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao km 9, CP 36500 Irapuato, Guanajuato, México. [eislas69@gmail.com](mailto:eislas69@gmail.com), [almagamu@hotmail.com](mailto:almagamu@hotmail.com), [Ichavezglz@hotmail.com](mailto:Ichavezglz@hotmail.com), [malopez@correo.uaa.mx](mailto:malopez@correo.uaa.mx), [ehdzv@yahoo.com.mx](mailto:ehdzv@yahoo.com.mx), [cagamu@hotmail.com](mailto:cagamu@hotmail.com)

### RESUMO

No México, a produção de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) é realizada em apenas 35 unidades de produção animal, e melhorias na comercialização são necessárias para aumentar a demanda. Diante destes desafios, estão surgindo opções tecnológicas inovadoras como o Biofloc, que melhoram a eficiência da produção em favor da sustentabilidade ambiental, econômica e social. Assim, este estudo mediu o efeito do uso de água reutilizada dum sistema de cultura de tilápia Biofloc (*Oreochromis niloticus*) na produção intensiva de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*). Com um material biológico de 4.000 organismos (*Lithobates catesbeianus*), os tratamentos foram avaliados: T1 (água potável), T2 (30% água de reuso Biofloc), T3 (60% água de reuso Biofloc) e T4 (90% água de reuso Biofloc); foram medidas as variáveis Ganho de Peso (GP), Taxa de Crescimento Específico (TCE), Porcentagem de Sobrevivência (%S), Taxa de Sobrevivência (TS) e Conversão de Alimentar (CA). Os resultados foram analisados no SPSS Statistic versão 27.0.0 com um teste de esfericidade da ANOVA e Mauchly. Observando que a produção intensiva de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) com água reutilizada de um sistema Biofloc de cultura de tilápia (*Oreochromis niloticus*) é viável.

**Palavras-chave:** produção, sustentabilidade, Biofloc, *Lithobates catesbeianus*.

### ABSTRACT

In Mexico, bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) production is carried out in only 35 animal production units, and improvements in its commercialization are necessary to increase demand. Faced with these challenges, innovative technological options such as Biofloc are emerging, which improve production efficiency in favor of environmental, economic and social sustainability. Thus, this study measured the effect of using reused water from a Biofloc system for tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in the intensive production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*). With a biological material of 4,000 organisms (*Lithobates catesbeianus*), treatments were evaluated: T1 (drinking water), T2 (30% Biofloc reuse water), T3(60% Biofloc reuse water) and T4 (90% Biofloc reuse water); the variables Weight Gain (WG), Specific Growth Rate (SGR), Survival Percentage (%S), Survival Rate (SR) and Feed Conversion (FC) were measured. The results were analyzed in SPSS Statistic version 27.0.0 with an ANOVA and Mauchly's test of sphericity. The results showed that intensive production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) with reused water from a Biofloc system of tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture is feasible.

**Keywords:** production, sustainability, Biofloc, *Lithobates catesbeianus*.

## INTRODUÇÃO

A produção global de peixe tem aumentado constantemente nas últimas cinco décadas e a oferta de peixe comestível tem aumentado a uma taxa média anual de 3,2%, superando a taxa de crescimento da população global de 1,6%. O consumo internacional per capita aumentou de uma média de 9,9 kg em 1960 para 19,2 kg em 2012 (FAO, 2018). Especificamente no México, durante a última década, o consumo de espécies da aquicultura e da pesca tem aumentado. Atualmente, as principais espécies aquícolas do país são o camarão (150 mil 76 toneladas), a tilápia mojarra (149 mil 54 toneladas), a ostra (45 mil 148 toneladas), a carpa (30 mil 300 toneladas) e a truta (sete mil toneladas) (CONAPESCA, 2018).

Em relação à produção e ao mercado de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*), as estatísticas são escassas. Ainda assim, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2018) informa que, no ano de 1980, estimava-se que 3% do mercado mundial de rãs (todas as espécies) era abastecido pela aquicultura; enquanto a contribuição para o ano de 2002 foi estimada em 15% (levando em conta a taxa de crescimento calculada da indústria). Taiwan, Brasil e México como os principais países produtores de rãs vivas (captura e aquicultura). Algumas estatísticas documentadas colocam os Estados Unidos da América como o maior consumidor de rãs, seguido pela França e Canadá; com três nichos de mercado principais: pernas de rãs, rãs vivas e rãs para necessidades educacionais e científicas (FAO, 2009).

No México, a produção de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*) é liderada pelo Estado do México, seguido por Sinaloa, Nayarit e Jalisco com 35 unidades de produção animal, com uma média de 60 hectares de superfície utilizada (INAPESCA, 2018). Os principais sistemas de produção aquícola utilizados no país são extensivos (cultivo em reservatórios com intervenção humana mínima após o plantio e baixo rendimento), semi-intensivos (cultivo em tanques, currais e corpos d'água) e intensivos (cultivo em sistemas controlados, tanques, gaiolas, canais de fluxo rápido ou sistemas de recirculação e condicionamento de água) (INAPESCA, 2018).

Embora a demanda por rãs vivas para alimentos tenha aumentado, espera-se que as pesquisas sobre nutrição, patologia e reprodução conduzam a melhorias significativas que impulsionarão sua produção. Além do aumento dos preços de mercado, como o comércio e a captura de rãs silvestres são restritos, seu cultivo aumenta; no entanto, melhorias na comercialização devem ser feitas, pois a carne de sapo e suas qualidades estão longe de ser amplamente conhecidas (FAO, 2009).

Diante destes desafios, estão surgindo opções tecnológicas inovadoras que melhoram a eficiência da produção para a sustentabilidade ambiental, econômica e social. Pois embora saibamos que a água doce é um requisito fundamental para a aquicultura, é necessário reconhecer que as reservas são finitas em regiões áridas e a água é escassa, gerando competição entre setores de produção para a distribuição de recursos hídricos (Neto & Ostrensky, 2015). Portanto, o uso de recursos hídricos não convencionais na aquicultura é identificado como um mecanismo potencial para melhorar o rendimento da produção de alimentos, preservando ao mesmo tempo recursos de água doce não renováveis e renováveis (Corner *et al.*, 2020).

Em resposta a este problema, a tecnologia Biofloc surgiu como uma alternativa de reutilização de água em nível industrial, com um impacto positivo sobre o meio ambiente (Mancipe *et al.*, 2019), pois sua aplicação pode ser realizada em sistemas de produção integrada (Bossier & Ekasari, 2017). Na produção de espécies alternativas de aquicultura, a implementação de um sistema Biofloc significa uma redução de mais de 50% da pegada hídrica envolvida na produção; além de criar um efeito positivo na saúde animal (Bossier & Ekasari, 2017).

A implementação de tal tecnologia na área de aquicultura se baseia na criação de um microbioma que reutiliza resíduos orgânicos de peixes e ração não utilizada; criando flóculos de agregados bacterianos suficientemente grandes para serem detectados pelos peixes e alimentados a eles; esses agregados de microbiota geralmente contêm porcentagens de proteína até 27,5 e 7,5% de lipídios (Ekasari *et al.*, 2014). Assim, esses níveis de proteína e energia podem até mesmo ser comparados à qualidade da ração comercial para a produção de peixe.

Considerando que os microorganismos são uma parte essencial dos ecossistemas aquáticos, seu papel na reciclagem de nutrientes é essencial na cadeia trófica dos sistemas. Há décadas eles têm sido usados como prebióticos e imunoestimulantes, para controle de doenças, assim como melhoradores da qualidade da água em tanques de produção aquícola (Martínez *et al.*, 2017). Os sistemas baseados em microorganismos representam uma das estratégias mais viáveis para alcançar a aquicultura sustentável, pois esses sistemas são baseados na promoção da proliferação microbiana; esperando que eles utilizem, reciclem e transformem o excesso de nutrientes das fezes, organismos mortos, alimentos não consumidos e vários metabólitos em biomassa; além de deslocar organismos patogênicos nos sistemas de produção (Martínez *et al.*, 2015; Huerta *et al.*, 2019).

Além de levar em conta que a aplicação de um sistema Biofloc na produção aquícola atinge um processo de nitrificação, isto acontece através da fonte de carboidratos que é adicionada aos tanques, pois permite que bactérias e microorganismos convertam

resíduos orgânicos de fezes e ração desperdiçada; diminuindo a quantidade de amônia, melhorando a qualidade da água e permitindo que ela seja praticamente eterna nos tanques(Wei *et al.*, 2016).

Portanto, o objetivo deste estudo foi medir o efeito do uso da água reutilizada de um sistema de cultura de tilápia Biofloc (*Oreochromis niloticus*) na produção intensiva de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*), como um uso alternativo para áreas áridas e semi-áridas do México.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Área de estudo:** o estudo foi realizado no Centro de Reprodução, Pesquisa e Transferência de Tecnologia rãs-touro "El Chaveño" em acordo com a Universidade Autônoma de Aguascalientes; localizada em Jesús María, Aguascalientes, México; com temperatura média anual de 17°C, pluviosidade média anual de 531 mm e localizada a 1.880 m s.n.m. (INEGI, 2021).

**Material biológico:** um total de 4.000 rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*), com um peso inicial médio de 49,8 gramas/organismo, distribuídos em 40 canetas com um sistema semi- inundado com um volume efetivo de 400 L, foram utilizados.

**Projeto experimental:** o experimento foi estabelecido sob um projeto completamente aleatório de 4 tratamentos com 10 réplicas, obtendo um total de 40 unidades experimentais. Cada unidade experimental consistia de 100 rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*).

**Tratamentos avaliados: os tratamentos avaliados foram os seguintes:** T1: sistema de cultura com 100% de reposição semanal de água potável e limpeza de fundo. T2: sistema de cultura com 30% de água de reuso de uma tilápia (*Oreochromis niloticus*) Sistema Biofloc e 70% de água potável, sem reposição de água e com a adição de açúcar não refinado como fonte de carbono em uma proporção C:N de 15:1. T3: sistema de cultura com 60% de água de reuso de uma tilápia (*Oreochromis niloticus*) Sistema Biofloc e 40% de água potável, sem troca de água e com adição de açúcar não refinado como fonte de carbono a uma razão C:N de 15:1. T4: sistema de cultura com 90% de água de reuso de uma tilápia (*Oreochromis niloticus*) Sistema Biofloc e 10% de água potável, sem troca de água e com adição de açúcar não refinado como fonte de carbono a uma razão C:N de 15:1.

**Sistema de produção:** O sistema de produção utilizado no estudo foi um sistema semi-insuflado com superfícies de confinamento uniformes de 8 m<sup>2</sup>, a capacidade alagável de cada tanque era de 0,4 m<sup>3</sup>, com uma área seca de 0,4 m<sup>2</sup> com alimentação na área seca do piso. Com lâmpadas de luz distribuídas na unidade de produção aquícola para manter um fotoperíodo de 14 horas de luz (10 horas de escuridão), com uma temperatura entre 28 - 42 °C num ciclo de 24 horas e uma temperatura constante da água entre 26-28 °C.

A umidade ambiente é mantida em 95-98% utilizando aspersores de água. O período de estudo foi de 15 semanas, de agosto a novembro de 2020.

**Dietas e alimentação:** foi utilizada uma dieta isoproteica e isocalórica (Rincón *et al.*, 2012), baseada em ração comercial para truta (*Salmo trutta*) e bagre (*Ictalurus punctatus*) marca Nutripec Purina® com 40% de proteína bruta e 9% de gordura para o estágio de desenvolvimento. A quantidade de ração foi alimentada uma vez por dia (SENASICA, 2016) e foi calculada com base na biomassa a uma taxa de alimentação de 6% mantida durante o período experimental e ajustada 20 dias após o início da experiência para 3% da biomassa. Para a determinação do ganho de peso, o peso total das rãs foi registrado no início da experiência e semanalmente com uma balança digital com sensibilidade de 0,1g (303D, DESEGO, México).

**Parâmetros zootécnicos avaliados:** as variáveis avaliadas foram: Ganho de peso (GP) com a fórmula  $GP = PF - PI$ , onde PF é Peso Final e PI é Peso Inicial. A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada com a fórmula  $TCE (\%) = \frac{(\ln(Pf) - \ln(Pi))}{t} \times 100$ ; onde: Pf e Pi são o peso final e o peso inicial, t é o tempo e Ln é o logaritmo natural dos pesos. A porcentagem de sobrevivência (%S) ao final do período foi calculada com a fórmula  $\%S = \frac{\text{Número de organismos finais}}{\text{Número de organismos iniciais}} \times 100$ . Taxa de sobrevivência (TS) e conversão alimentar (CA) obtida da relação entre o alimento consumido e a biomassa ao final do período experimental (Gutiérrez *et al.*, 2016).

**Qualidade da água:** durante o estudo, a qualidade da água permaneceu dentro dos parâmetros estabelecidos para as rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*) em produção intensiva (SENASICA, 2016). Os parâmetros físico-químicos avaliados semanalmente foram: temperatura (T °C), condutividade (µs), pH e amônia (mg/l); sendo tomados com multi-sondas (556 MPS, YSI, EUA). Enquanto a dureza (mg/l CaCO<sub>3</sub>) e a alcalinidade (mg/l CaCO<sub>3</sub>) foram tomadas com um kit de teste (FF-1A, HACH, Alemanha), como descrito por Plazas & Paz, (2019).

**Flóculos bacterianos:** para o estabelecimento de flóculos bacterianos em cultura de tilápia (*Oreochromis niloticus*), o lixiviado da californiana (*Eisenia foetida*) foi inoculado com 3 L de lixiviado para cada 10m<sup>3</sup> de água em tanques de 1L/10m<sup>3</sup> de bactérias nitrificantes para peixes da marca PondPerfect 4in. Para o estabelecimento do Biofloc, foi utilizado açúcar não refinado à taxa de 0,02 g/L para garantir uma fonte C e 5 mg/L de cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl) como fonte N; além de 2 g/L de sal marinho e 50 g/L de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) para garantir uma fonte inicial de alcalinidade para as bactérias de acordo com a metodologia de Luo *et al.*, (2014). O açúcar não refinado continuou a ser adicionado a cada dois dias de acordo com o volume do Biofloc medido nos cones Imhoff.

**Análise estatística:** foi utilizada a versão estatística IBM SPSS 27.0.0. Em cada experimento, a hipótese "Biofloc water reuse affects the productive parameters of rãs-

touro (*Lithobates catesbeiana*); foi avaliada por meio de uma análise de variância (ANOVA) com um nível de confiança de 95% (Ducoing, 2019), aplicando um teste de esfericidade de Mauchly, (1940). Quando esta hipótese nula foi rejeitada, foi usado um Greenhouse-Geisser ou Huynh-Feldt test of fit (Bardera, 2019). Quando foram encontrados efeitos gerais significativos, testes de efeitos simples foram seguidos por testes post hoc. Análises pós-hoc foram realizadas usando o teste de Tukey para analisar diferenças entre tratamentos com diferentes percentuais de água reutilizada de um sistema Biofloc e água potável, usando comparações em pares de Bonferroni para testar diferenças entre os comportamentos analisados (Bardera, 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média dos parâmetros médios de qualidade da água registrados durante o estudo foram: temperatura 20 °C, condutividade 0,4µs, pH 7,2, amônia 1,19 mg/l, dureza 46 mg/l CaCO<sub>3</sub> e alcalinidade 40 mg/l CaCO<sub>3</sub>.

Com relação às variáveis do estudo, os resultados mostram diferença estatística de médias entre tratamentos; entretanto, o teste de esfericidade de Mauchly é rejeitado por não mostrar significância. Devido à violação da esfericidade, foram aplicadas correções Greenhouse-Geisser ou Huynh-Feldt; o que mostra significância entre tratamentos nas variáveis peso da biomassa, peso médio e conversão alimentar. Por sua vez, no teste post hoc, a diferença entre os tratamentos sob o teste Bonferroni mostrou diferenças significativas para o uso do Biofloc 30, 60, e 90% nas variáveis peso da biomassa, ingestão e conversão alimentar, respectivamente.

O desempenho do ganho de peso (GP) (tabela 1) mostrou-se estatisticamente melhor nos tratamentos baseados em águas residuais de um sistema Biofloc; no entanto, isto pode estar relacionado à maior mortalidade observada em T1 (água potável). A estimativa do peso médio das médias marginais não mostra diferenças significativas, sugerindo que o peso médio das rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*) não é alterado pelo uso de diferentes porcentagens de Biofloc na água, pois as taxas de crescimento e ganho de peso são estimadas como semelhantes nos tratamentos.

O efeito no consumo de ração (tabela 2) é significativamente maior nos tratamentos Biofloc, em comparação com os organismos que receberam apenas água potável; estes resultados estão correlacionados com aqueles obtidos na conversão alimentar (tabela 3), onde um melhor efeito é observado nos tratamentos de águas residuais Biofloc. As estimativas médias marginais de ingestão de ração mostram diferenças significativas em T3 (60% Biofloc) e T4 (90% Biofloc), mostrando uma relação com o maior ganho de peso observado.

**Tabela 1. Efeito dos diferentes tratamentos sobre o ganho de peso (GP)**

Variáveis	Diferenças entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%		
			Limite Inferior	Limite superior	
Ganho de peso	T1 (água potável) 30% Biofloc	-2.2900*	.08809	-2.5965	-1.9836
	T1 (água potável) 60% Biofloc	-2.6011*	.08809	-2.9076	-2.2947
	T1 (água potável) 90% Biofloc	-2.3919*	.08809	-2.6984	-2.0855
	T2 (30% Biofloc) Água potável	2.2900*	.08809	1.9836	2.5965
	T2 (30% Biofloc) 60% Biofloc	-.3111*	.08809	-.6176	-.0047
	T2 (30% Biofloc) 90% Biofloc	-.1019	.08809	-.4084	.2046
	T3 (60% Biofloc) Água potável	2.6011*	.08809	2.2947	2.9076
	T3 (60% Biofloc) 30% Biofloc	.3111*	.08809	.0047	.6176
	T3 (60% Biofloc) 90% Biofloc	.2092	.08809	-.0973	.5157
	T4 (90% Biofloc) Água potável	2.3919*	.08809	2.0855	2.6984
	T4 (90% Biofloc) 30% Biofloc	.1019	.08809	-.2046	.4084
	T4 (90% Biofloc) 60% Biofloc	-.2092	.08809	-.5157	.0973

De acordo com as médias observadas, Erro Quadrático Médio (Erro) = .002.

\* As diferenças entre as médias mostram um nível de significância de 0,05.

**Tabela 2. Efeito dos tratamentos sobre o consumo alimentar**

Variáveis	Diferenças entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%		
			Limite Inferior	Limite superior	
Consumo alimentar	T1 (água potável) 30% Biofloc	-524.6222*	44.71786	-680.1903	-369.0542
	T1 (água potável) 60% Biofloc	-642.3333*	44.71786	-797.9014	-486.7653
	T1 (água potável) 90% Biofloc	-627.7778*	44.71786	-783.3458	-472.2097
	T2 (30% Biofloc) Água potável	524.6222*	44.71786	369.0542	680.1903
	T2 (30% Biofloc) 60% Biofloc	-117.7111	44.71786	-273.2792	37.8569
	T2 (30% Biofloc) 90% Biofloc	-103.1556	44.71786	-258.7236	52.4125
	T3 (60% Biofloc) Água potável	642.3333*	44.71786	486.7653	797.9014
	T3 (60% Biofloc) 30% Biofloc	117.7111	44.71786	-37.8569	273.2792
	T3 (60% Biofloc) 90% Biofloc	14.5556	44.71786	-141.0125	170.1236
	T4 (90% Biofloc) Água potável	627.7778*	44.71786	472.2097	783.3458
	T4 (90% Biofloc) 30% Biofloc	103.1556	44.71786	-52.4125	258.7236
	T4 (90% Biofloc) 60% Biofloc	-14.5556	44.71786	-170.1236	141.0125

De acordo com as médias observadas, Erro Quadrático Médio (Erro) = .002.

\* As diferenças entre as médias mostram um nível de significância de 0,05.

Com relação à conversão alimentar, observa-se (tabela 3 e figura 1) que os organismos de T1 (água potável) apresentam uma conversão alimentar menor que os de T4 (90% Biofloc) durante as primeiras semanas do estudo; entretanto, após a semana 8 as conversões são igualizadas, terminando sem diferenças significativas até a semana 15 do estudo. É importante ressaltar que a partir da semana 4, o consumo de ração começa

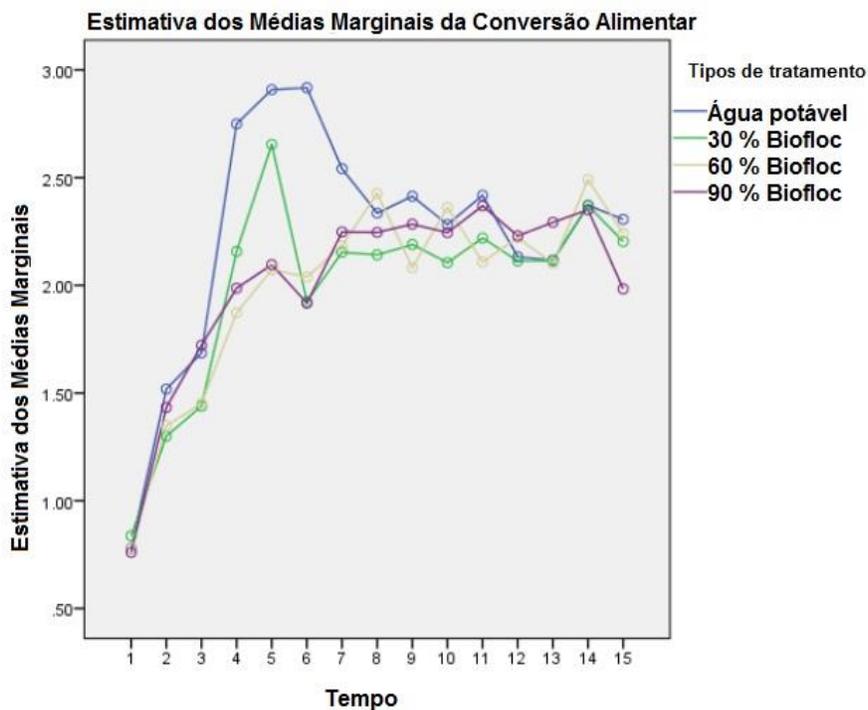
a ser maior em T2 (30% Biofloc), T3 (60% Biofloc) e T4 (90% Biofloc); este é o efeito da menor mortalidade e do maior número de indivíduos sobreviventes e melhor assimilação de nutrientes.

**Tabela 3. Efeito dos tratamentos na taxa de conversão alimentar**

Variáveis	Diferenças entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%			
			Limite Inferior	Limite superior		
Conversão alimentar	T1 (água potável)	30% Biofloc	.2369*	.03918	.1006	.3732
		60% Biofloc	.2462*	.03918	.1099	.3825
		90% Biofloc	.2208*	.03918	.0845	.3571
	T2 (30% Biofloc)	Água potável	-.2369*	.03918	-.3732	-.1006
		60% Biofloc	.0093	.03918	-.1270	.1456
		90% Biofloc	-.0161	.03918	-.1524	.1202
	T3 (60% Biofloc)	Água potável	-.2462*	.03918	-.3825	-.1099
		30% Biofloc	-.0093	.03918	-.1456	.1270
		90% Biofloc	-.0253	.03918	-.1616	.1110
	T4 (90% Biofloc)	Água potável	-.2208*	.03918	-.3571	-.0845
		30% Biofloc	.0161	.03918	-.1202	.1524
		60% Biofloc	.0253	.03918	-.1110	.1616

De acordo com as médias observadas, Erro Quadrático Médio (Erro) = .002.

\* As diferenças entre as médias mostram um nível de significância de 0,05.



**Figura 1. Desempenho da conversão alimentar por tratamento**

Vários estudos têm demonstrado uma dieta mais eficiente e assimilação de nutrientes em sistemas onde o Biofloc é utilizado (fig. 1). [Da Silva et al. \(2013\)](#), descobrem que a aplicação da tecnologia Biofloc na cultura intensiva de camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) melhora significativamente a eficiência da utilização de N e P em até 70 e 66%, respectivamente, em relação aos sistemas convencionais de cultura intensiva com troca regular de água. Autores como [Mercante et al., \(2014\)](#) descreveram que altos níveis de fósforo e nitrogênio na água dos tanques de produção intensiva de rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*) diminuem os parâmetros de qualidade da água e interferem na produtividade; esses mesmos efeitos foram encontrados no uso do Biofloc na cultura da tilápia (*Oreochromis niloticus*) ([Schweitzer et al., 2013](#); [Widanarni et al., 2012](#)).

A Tabela 4 mostra uma diferença significativa entre os médias na taxa de crescimento específico em T2 (30% Biofloc) com relação ao T1 (água potável); o mesmo efeito é observado em T3 (60% Biofloc). Com relação ao efeito dos tratamentos sobre a taxa de sobrevivência (Tabela 5), a diferença entre as médias das variáveis T1 (água potável), em comparação com os organismos dos outros tratamentos, pode ser observada.

**Tabela 4. Efeito dos tratamentos na taxa de crescimento específico**

Variáveis		Diferenças entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%		
				Limite Inferior	Limite superior	
Taxa de crescimento específico por tratamento	T1 (água potável)	30% Biofloc	-.1850*	.02100	-.2581	-.1120
		60% Biofloc	-.2048*	.02100	-.2778	-.1318
		90% Biofloc	-.1940*	.02100	-.2670	-.1210
	T2 (30% Biofloc)	Água potável	.1850*	.02100	.1120	.2581
		60% Biofloc	-.0198	.02100	-.0928	.0533
		90% Biofloc	-.0090	.02100	-.0820	.0641
	T3 (60% Biofloc)	Água potável	.2048*	.02100	.1318	.2778
		30% Biofloc	.0198	.02100	-.0533	.0928
		90% Biofloc	.0108	.02100	-.0622	.0838
	T4 (90% Biofloc)	Água potável	.1940*	.02100	.1210	.2670
		30% Biofloc	.0090	.02100	-.0641	.0820
			60% Biofloc	-.0108	.02100	-.0838

De acordo com as médias observadas, Erro Quadrático Médio (Erro) = .002.

\* As diferenças entre as médias mostram um nível de significância de 0,05.

A taxa de crescimento específico dos organismos em T2 (30% Biofloc), T3 (60% Biofloc) e T4 (90% Biofloc) é maior do que nos organismos que receberam água potável, sugerindo que a diversidade microbiana na água tem um efeito benéfico no crescimento e desenvolvimento desta espécie em condições de produção intensiva; este efeito coincide com os resultados observados na taxa de sobrevivência deste estudo. Estes resultados sugerem que é viável o uso da água da cultura intensiva de tilápia

(*Oreochromis niloticus*) para reutilização na produção intensiva de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*), pois a qualidade microbiana existente no meio beneficia as interações com microorganismos patogênicos, reduzindo a mortalidade em rãs que recebem água reutilizada em diferentes proporções como acontece em outras espécies aquícolas (Vinatea *et al.*, 2018).

**Tabela 5. Efeito dos tratamentos na taxa de sobrevivência**

Variáveis		Diferenças entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%		
				Limite Inferior	Limite superior	
Taxa de sobrevivência	T1 (água potável)	30% Biofloc	-11.3333	3.80058	-24.5551	1.8884
		60% Biofloc	-13.6667*	3.80058	-26.8884	-.4449
		90% Biofloc	-12.0000	3.80058	-25.2218	1.2218
	T2 (30% Biofloc)	Água potável	11.3333	3.80058	-1.8884	24.5551
		60% Biofloc	-2.3333	3.80058	-15.5551	10.8884
		90% Biofloc	-.6667	3.80058	-13.8884	12.5551
	T3 (60% Biofloc)	Água potável	13.6667*	3.80058	.4449	26.8884
		30% Biofloc	2.3333	3.80058	-10.8884	15.5551
		90% Biofloc	1.6667	3.80058	-11.5551	14.8884
	T4 (90% Biofloc)	Água potável	12.0000	3.80058	-1.2218	25.2218
		30% Biofloc	.6667	3.80058	-12.5551	13.8884
		60% Biofloc	-1.6667	3.80058	-14.8884	11.5551

De acordo com as médias observadas, Erro Quadrático Médio (Erro) = .002.

\* As diferenças entre as médias mostram um nível de significância de 0,05.

A sobrevivência foi semelhante entre os tratamentos avaliados, com o T3 (60% Biofloc) mostrando a melhor taxa de sobrevivência. Os resultados sugerem que a grande diversidade de organismos presentes na água reutilizada de um sistema Biofloc, exercem uma competição com microorganismos patogênicos potenciais que atacam as rãs; este efeito foi observado em culturas aquícolas que utilizam um sistema Biofloc (Martinez *et al.*, 2016; Ekasari *et al.*, 2014). Sugerindo que este efeito cria competição de organismos patogênicos potenciais, reduzindo sua proliferação nos tanques experimentais, bem como no trato digestivo dos peixes (Manduca *et al.*, 2021).

Estudos publicados mostram que a microbiota indígena da pele e do trato gastrointestinal pode ser afetada por muitos fatores, tais como interações microbianas, fluxos de água, criação de animais, técnicas e desinfecção, que poderiam alterar o equilíbrio dos ecossistemas microbianos. Estes aspectos, juntamente com o estresse causado pela superlotação, podem superar as barreiras imunológicas, causando o ataque de microorganismos microbianos, levando a surtos de doenças infecciosas (Mauel *et al.*, 2002); o fornecimento de rãs-touro (*Lithobates catesbeiana*) com um ambiente microbiano rico em microorganismos benéficos melhora o desempenho em sistemas de produção intensiva. Diferentes cepas de bactérias Gram (+), bem como Gram (-) ácido

lático isoladas de culturas de peixes foram comprovadamente utilizadas para o controle de bactérias causadoras de doenças em rãs, tais como *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus epidermidis* (Pasteris et al., 2009).

Além disso, Mayorga et al., (2015), descobriram que o Biofloc era a principal fonte alimentar consumida preferencialmente pela tilápia (*Oreochromis niloticus*) versus a ração balanceada. Portanto, é importante destacar que no México, dada a disponibilidade de ração (Engorda Extruído, com 20 e 25% de proteína bruta El Pedregal e Los Belenes), elas podem ser utilizadas na cultura Biofloc para minimizar o impacto do custo da ração e aproveitar a preferência da tilápia (*Oreochromis niloticus*) pelo biofloc; e assim reduzir os custos de produção continuam a ser preponderantes.

Há uma realidade científica que indica o alto conteúdo nutricional dos bioflocs (Ekasari & Maryam, 2012), um aspecto que parece não se aplicar no México, já que a maioria deles utiliza rações balanceadas com altos níveis de proteína de 45/32/25 respectivamente. Quando a ração poderia ser eliminada a 32% e utilizada a 25% para favorecer o consumo de flocos microbianos, que são preferidos pela tilápia. Finalmente, Martínez et al., (2017), argumentam que a evidência global apóia a hipótese de que o uso de microorganismos como fonte de alimentação direta na aquicultura revolucionará a indústria, fechando a lacuna em direção à sustentabilidade.

## CONCLUSÃO

A produção intensiva de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*) com água reutilizada dum sistema Biofloc para cultura de tilápia (*Oreochromis niloticus*) é viável, pois as variáveis avaliadas, ganho de peso, taxa de crescimento específico e sobrevivência; bem como a conversão alimentar em rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*), mostrou uma diferença estatística positiva em relação à produção aquícola com reposição de água potável; sendo uma opção para o uso eficiente dos recursos hídricos em áreas áridas e semi-áridas do México.

## LITERATURA CITADA

BARDERA G, Owen MA, Pountney D, Alexander ME, Sloman KA. 2019. The effect of short-term feed-deprivation and moult status on feeding behaviour of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*. 511:1-10. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734222>

BOSSIER P, Ekasari J. 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microbial Biotechnology*. 10(5):1012–1016. ISSN: 1989-8436. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>

CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca). 2018. *Produce acuacultura mexicana más de 400 mil toneladas de pescados y mariscos*. Pp.5. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/produce-acuacultura-mexicana-mas-de-400-mil-toneladas-de-pescados-y-mariscos-172466>

CORNER R, Fersoy H, Crespi V. 2020. *Integrated agri-aquaculture in desert and arid lands-Learning from case studies from Algeria, Egypt and Oman*. Cairo. Editorial FAO. Pp.158. ISBN: 978-92-5-132405-9.

DA SILVA KR, Wasielesky W, Abreu PC. 2013. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 44(1):30-41. ISSN:1749-7345. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>

DUCOING WM. 2019. *Estadística para veterinarios y zootecnistas*. Ciudad de México, México. Editorial Newton. Pp. 548. ISBN: 978-607-969-193-6.

EKASARI J, Hanif AM, Surawidjaja EH, Nuryati S, De Schryver P, Bossier P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed Biofloc grown on different carbon sources. *Fish & Shellfish Immunology*. 41(2):332–339. ISSN:1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.004>

EKASARI J, Maryam S. 2012. Evaluation of Biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *HAYATI Journal of Biosciences*. 19(2):73-80. ISSN: 1978-3019. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2009. *Rana catesbeiana*. Pp.14. [http://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es\\_americanbullfrog.htm](http://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_americanbullfrog.htm)

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018*. Roma, Italia. Pp. 250. ISBN 978-92-5-130688-8.

GUTIÉRREZ RL, Ruales D, Montoya CC, Inés O, Betancur GE. 2016. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista de Salud Animal*. 38(2):112-119. ISSN: 2224-4700. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2016000200007&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2016000200007&script=sci_abstract&tlng=es)

HUERTA RJ, Martínez PM, Miranda BA, Nieves SM, Rivas VM, Martínez CL. 2019. Addition of commercial probiotic in a Biofloc shrimp farm of *Litopenaeus vannamei* during the nursery phase: Effect on bacterial diversity using massive sequencing 16S rRNA. *Aquaculture*. 502(15):391–399. ISSN:0044-8486.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.055>

INAPESCA (Instituto Nacional de Pesca). 2018. *Acuacultura comercial, Rana toro*. México. Pp. 9. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-rana-toro>

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2021. *Climatología*. <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/>

LUO G., Gao Q, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 422:1-7. ISSN:0044-8486.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

MANCIPE LE, Velez JI, García KA, Hernández LC. 2019. Los sistemas Biofloc: una estrategia eficiente en la producción acuícola. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14(1):70-99. ISSN:1900-9607. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.14.1.6>

MANDUCA LG, Silva MA, da Alvarenga ÉR, de Alves GF, de OFN, Teixeira E, Fernandes AF, Silva MA, Turra EM. 2021. Effects of different stocking densities on Nile tilapia performance and profitability of a Biofloc system with a minimum water exchange. *Aquaculture*. 530(15):1-12. ISSN:0044-8486.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735814>

MARTÍNEZ CL, Emerenciano M, Miranda BA, Martínez PM. 2015. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: An updated review. *Aquaculture*. 7(2):131-148. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1111/raq.12058>

MARTÍNEZ CL, Martínez PM, Emerenciano MG, Miranda BA, Gollas GT. 2016. From microbes to fish the next revolution in food production. *Biotechnol*. 37(3):287-295. ISSN: 1549-7801. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144043>

MARTÍNEZ CL, Martínez PM, Emerenciano MG, Miranda BA, Gollas GT. 2017. From microbes to fish the next revolution in food production. *Critical Reviews in Biotechnology*. 37(3):287-295. ISSN: 0738-8551. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144043>

MAUCHLY JW. 1940. Significance test for sphericity of a normal n-variate distribution. *The Annals of Mathematical Statistics*. 11(2):204-209. ISSN: 0003-4851. <https://www.jstor.org/stable/2235878>

MAUEL MJ, Miller DL, Frazier KS, Hines ME. 2002. Bacterial pathogens isolated from cultured bullfrogs (*Rana castesbeiana*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 14(5):431–433. ISSN: 1943-4936. <https://doi.org/10.1177/104063870201400515>

MAYORGA EI, Hurtado SC, Morales JP. 2015. Determinación del Índice de Importancia Relativa en *Oreochromis ssp* cultivadas con Biofloc y alimento balanceado. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*. (14):62-71. ISSN: 2477-8982. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6087623>

MERCANTE CT, Vaz SA, Moraes M, de A B, Pereira JS, Lombardi JV. 2014. Sistema de criação de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*): Qualidade da água e mudanças ambientais. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 26(1):9-17. ISSN:2179-975X. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000100003>

NETO RM, Ostrensky A. 2015. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) reared in cages in tropical climate conditions. *Aquaculture*. 46(6):1309-1322. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1111/are.12280>

PASTERIS S, Roig BG, Otero M, Bühler M, Nader MM. 2009. Beneficial properties of lactic acid bacteria isolated from a *Rana catesbeiana* hatchery. *Aquaculture*. 40(14):1605-1615. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02261.x>

PLAZAS PL, Paz RN. 2019. Diseño e implementación de un sistema de monitoreo de parámetros de calidad de agua en cultivo de tilapia en una granja piscícola del departamento del Cauca. *Publicaciones e Investigación*. 13(2):11-22. ISSN: 2539-4088. <https://doi.org/10.22490/25394088.3255>

QUERO CAR. 2013. *Gramíneas introducidas: Importancia e impacto en ecosistemas ganaderos*. Texcoco, México: Editorial Biblioteca Básica de Agricultura. Pp. 345. ISBN: 978 -607-715-106-7

RINCÓN DD, Velásquez HA, Dávila MJ, Semprun AM, Morales ED, Hernández JL. 2012. Niveles de sustitución de harina de pescado por harina de *Arthrospira* (=Spirulina) máxima, en dietas experimentales para alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 25(3):430-437. ISSN: 0120-0690. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295024923011>

SCHVEITZER R, Arantes R, Costódio PF, do Espírito SC, Arana LV, Seiffert WQ, Andreatta ER. 2013. Effect of different Biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*. 56:59–70. ISSN:0144-8609. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2016. *Manual de buenas prácticas de producción acuícola de rana toro*. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/buenas-practicas-de-produccion-acuicola-de-rana-de-toro>

VINATEA L, Malpartida J, Carbó R, Andree KB, Gisbert E, Estévez A. 2018. A comparison of recirculation aquaculture systems versus Biofloc technology culture system for on-growing of fry of Tinca tinca (*Cyprinidae*) and fry of grey Mugil cephalus (*Mugilidae*). *Aquaculture*. 482(1):155–161. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.041>

WEI YF, Liao SA, Wang A. 2016. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of Bioflocs. *Aquaculture*. 465(1):88-93. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>

WIDANARNI EJ, Maryam SI. 2012. Evaluation of Biofloc Technology Application on Water Quality and Production Performance of Red Tilapia *Oreochromis sp.* Cultured at Different Stocking Densities. *HAYATI Journal of Biosciences*. 19(2):73-80. ISSN:1978-3019. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>