

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**EXPRESSÃO DE GENES DE CRESCIMENTO, REPRODUÇÃO E RESPOSTA
IMUNE EM TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM
TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS (BFT)**

LAURA ORTEGA PEREIRA

CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL

2025

LAURA ORTEGA PEREIRA

**EXPRESSÃO DE GENES DE CRESCIMENTO, REPRODUÇÃO E RESPOSTA
IMUNE EM TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM
TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS (BFT)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Bacharela em Zootecnia.

Orientadora: Susana Amaral Teixeira Manso

CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL

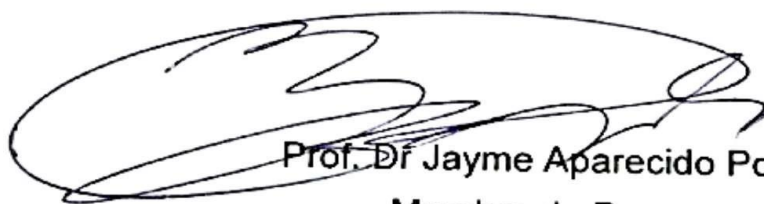
2025

LAURA ORTEGA PEREIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em 29 de julho de
2025, e aprovado pela Banca Examinadora:



Prof. Drª Susana Amaral Teixeira
Presidente



Prof. Dr Jayme Aparecido Povh
Membro da Banca

Gabriella Hippy da Rocha
Mestranda Gabriella Hippy da Rocha
Membro da Banca

Por mim, pelo meu futuro,
e por tudo o que sonho em ser, porque a coragem
de permanecer foi o que me trouxe até aqui —
e é com ela que sigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha decisão consciente de permanecer, a curiosidade por aprender e talvez até uma força do universo que me manteve exatamente onde eu precisava estar, para que algo acontecesse. E hoje, com o coração sereno, eu agradeço ao destino, talvez, por tudo que vivi.

Durante esses anos, eu trabalhei, estudei, fiz amizades, deixei um emprego para focar na faculdade e abracei cada oportunidade que enxerguei como um investimento no meu futuro, tudo isso me moldou como pessoa e profissional. Por muitas vezes, desejei ter mais gente caminhando ao meu lado, mas entendi que o interesse e o propósito de cada um são únicos. E mesmo sozinha em alguns momentos, eu soube aproveitar cada espaço de aprendizado que a universidade me proporcionou, confiando que tudo isso, de alguma forma, um dia retornaria para mim, em forma de caráter, oportunidades ou sabedoria.

Agradeço profundamente à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), que me acolheu e, por razões autoexplicativas, se tornou minha segunda casa. Aqui encontrei paz, caminhos e direções.

À minha professora e orientadora, Susana, minha eterna gratidão. Obrigada por me aceitar, por sua entrega ao ensino e por, sem perceber, me lembrar por que escolhi continuar. Suas palavras e ações me inspiram, e seu exemplo me faz sentir a paixão pela pesquisa. Obrigada por acreditar em mim dentro da zootecnia.

Aos meus pais, agradeço pela educação e apoio, que fizeram de mim uma criança curiosa. Hoje, colho os frutos das oportunidades que recebo porque um dia vocês me ensinaram os primeiros passos.

Às minhas amigas, Beatriz, Gabrielle e Larissa, obrigada por serem rede de apoio, por curarem dores que nem causaram, por estarem presentes mesmo quando eu não sabia como pedir ajuda. Vocês me salvaram muitas vezes, e eu nunca vou esquecer isso.

À minha colega de graduação e amiga, Lais Roque, agradeço pelo companheirismo, leveza e parceria ao longo desses cinco anos de caminhada. Sua presença tornou o percurso mais leve, divertido e significativo.

Ao PET Zootecnia, agradeço não apenas pela bolsa, mas pelas responsabilidades que me fizeram crescer academicamente e profissionalmente, pelas amizades e por tudo que compartilhamos. Carrego cada atividade no coração.

Ao GEMAB, obrigada pela oportunidade de aprofundar meus conhecimentos. O grupo pode ser pequeno, ainda, mas possui um potencial imenso, com professores que fazem a diferença. Na genética, só os fortes permanecem, e me orgulho disso.

Ao GEO, minha gratidão pela vivência prática, pelas soluções construídas em equipe, pelas idas ao campo e pelos frutos que colhi: participar do ZOOTECH, ser premiada no INTERAGRO e na Mostra FAMEZ. Essas conquistas são nossas. Obrigada pelas amizades e experiências inesquecíveis.

Aos membros da banca, meu respeito e gratidão. Ao professor Jayme, por me apresentar à genética durante a graduação e por todo o aprendizado compartilhado. À mestranda Gabriella da Rocha, minha dupla de laboratório, colega de PET, “(co)orientadora” e amiga, obrigada pela paciência, pelas trocas e por caminhar comigo. Te ver vencer me inspira, Gabi!

Ao LABVIR, minha gratidão por abrirem espaço para a realização das análises, pelas conversas, o bom convívio e pela leveza de um ambiente onde o conhecimento circula com naturalidade.

Por fim, agradeço a tudo que me trouxe até aqui. Eu ainda não sei exatamente o que me espera, mas sei que o que é meu, virá até mim, no tempo certo. Não há pressa.

“Depois do medo, vem o mundo”
— **Clarice Lispector**

RESUMO

A tecnologia de bioflocos (BFT) tem se destacado como alternativa sustentável na piscicultura, por reduzir a necessidade de renovação de água e fornecer nutrientes de alta qualidade por meio da atividade microbiana. No entanto, faltam informações quanto ao efeito desse ambiente com ecossistema complexo quanto a expressão de genes relacionados ao desempenho produtivo e reprodutivo e ao aspecto imune. Portanto o objetivo neste estudo foi avaliar a expressão de genes relacionados ao crescimento, como o gene fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (*IGF-1*), reprodução como o folículo estimulante (FSH), luteinizante (*LH*) e seus receptores (*LH*, *FSH*, *LHR*, *FSHR*, *VTG*) e resposta imune, lisozima tipo C, interleucina-1, interleucina-8, receptor 1 do fator de necrose tumoral e linfotóxina alfa (*LYS*, *IL-1 β* , *IL-8*, *TNF- β* e *LT*) em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas em sistema BFT, em comparação com sistema convencional de troca parcial de água (TPA). As unidades experimentais foram tanques de polietileno com capacidade total de 1.000 L e volume útil de 800 L (n=10), sob dois diferentes sistemas de cultivo: TPA (n = 5) e o BFT (n = 5). O total de dois peixes por aquário (n=10), sendo um macho e uma fêmea, foram abatidos para coleta dos tecidos: fígado, rim, baço, testículo, hipófise e ovário. Ao final do período experimental, as amostras biológicas foram coletadas, armazenadas e posteriormente, foram realizadas as análises moleculares. A análise de expressão gênica por RT-qPCR demonstrou que o sistema BFT promoveu aumento significativo na expressão dos genes *LH*, *FSHR* e *VTG* em fêmeas, sugerindo maior estímulo à maturação ovariana. O gene *IGF-1 β* apresentou maior expressão em machos, indicando maior potencial efeito anabólico. No sistema imunológico, apenas o gene *LYS* foi significativamente mais expresso nas fêmeas do BFT, indicando possível ativação da resposta imune inata. Os demais genes imunológicos não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados indicam que a BFT exerce influência positiva na modulação molecular de processos fisiológicos essenciais, com efeitos distintos entre os sexos, reforçando seu potencial como ferramenta para aprimoramento da produção de tilápia em sistemas sustentáveis.

Palavras-chave: cultivo heterotrófico; sustentabilidade aquícola; sistemas aquícolas; marcadores moleculares; sistema imune.

ABSTRACT

Biofloc technology (BFT) has emerged as a sustainable alternative in fish farming, reducing the need for water renewal and providing high-quality nutrients through microbial activity. However, information is lacking regarding the effect of this complex ecosystem on the expression of genes related to productive and reproductive performance and the immune system. Therefore, the objective of this study was to evaluate the expression of genes related to growth, such as insulin-like growth factor 1 (IGF-1), reproduction such as follicle-stimulating (FSH), luteinizing (LH) and their receptors (LH, FSH, LHR, FSHR, VTG) and immune response, lysozyme type C, interleukin-1, interleukin-8, tumor necrosis factor receptor 1 and lymphotoxin alpha (LYS, IL-1 β , IL-8, TNF- β and LT) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) kept in a BFT system, compared to a conventional partial water exchange (TPA) system. The experimental units were polyethylene tanks with a total capacity of 1,000 L and a useful volume of 800 L (n = 10), under two different culture systems: TPA (n = 5) and BFT (n = 5). A total of two fish per aquarium (n=10), one male and one female, were slaughtered for tissue collection: liver, kidney, spleen, testis, pituitary gland, and ovary. At the end of the experimental period, biological samples were collected, stored, and molecular analyses were performed. Gene expression analysis by RT-qPCR demonstrated that the BFT system significantly increased the expression of the LH, FSHR, and VTG genes in females, suggesting greater stimulation of ovarian maturation. The IGF-1 β gene showed greater expression in males, indicating a greater potential anabolic effect. In the immune system, only the LYS gene was significantly more expressed in BFT females, indicating possible activation of the innate immune response. The other immune genes showed no significant differences between treatments. The results indicate that BFT exerts a positive influence on the molecular modulation of essential physiological processes, with distinct effects between sexes, reinforcing its potential as a tool for improving tilapia production in sustainable systems.

Keywords: heterotrophic cultivation; aquaculture sustainability; aquaculture systems; molecular markers; immune system.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1. <i>A tilápia-do-Nilo e seu papel na aquicultura</i>	11
1.2. <i>Tecnologia de Bioflocos (BFT)</i>	12
1.3. <i>Efeitos fisiológicos e moleculares do BFT em tilápia</i>	13
2. INTRODUÇÃO.....	16
3. METODOLOGIA.....	17
2.1 <i>Local do Experimento</i>	17
2.2 <i>Procedência e manejo inicial dos animais</i>	17
2.3 <i>Formação e manutenção das unidades experimentais</i>	17
2.4 <i>Alimentação</i>	18
2.5 <i>Análise da expressão gênica</i>	18
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO.....	20
6. CONCLUSÃO.....	22
7. REFERÊNCIAS	23

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. A Tilápia-do-Nilo e seu papel na aquicultura

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), espécie de origem africana pertencente à família Cichlidae, consolidou-se globalmente como uma das principais espécies de peixes cultivados.

A produção mundial de tilápia foi estimada em cerca de 7 milhões de toneladas em 2024, conforme projeções da FAO. Para 2025, as expectativas indicam um possível aumento de até 5%, o que elevaria o volume global para aproximadamente 7,3 milhões de toneladas (FAO, 2024). O Brasil está entre os quatro maiores produtores mundiais de tilápia-do-Nilo: China (32%), Indonésia (22%), Egito (15%) e Brasil (7%). Em 2024, a produção nacional de tilápia-do-Nilo alcançou 662.230 toneladas, o que representa um aumento de 14,36% em comparação ao ano anterior, cuja produção foi de 579.080 toneladas (PEIXEBR, 2025). Esse crescimento consolidou a espécie como a mais cultivada no país, correspondendo a 68,36% da produção total de peixes de cultivo no Brasil (Peixe BR, 2025).

O aumento das exportações brasileiras de tilápia, especialmente na forma de filés frescos e peixes inteiros congelados, tem sido o principal motor da expansão da piscicultura nacional no mercado internacional. Em 2024, a espécie respondeu por 94% de todo o volume exportado pela piscicultura brasileira, evidenciando sua dominância no setor. No comparativo com o ano anterior, houve um crescimento expressivo: 138% em receita e 92% em volume exportado.

O avanço da piscicultura no Brasil e no mundo está diretamente associado ao desenvolvimento de programas de melhoramento genético voltados à tilápia-do-Nilo, os quais têm promovido ganhos expressivos em características de crescimento, conversão alimentar e resistência a doenças (Dey et al., 2000; Khaw et al., 2008; Santos et al., 2011; Kunita et al., 2013; Reis Neto et al., 2014). Diferentemente de muitas espécies nativas de peixes brasileiros, em sua maioria reofílicas, que dependem de estímulos ambientais externos, como variações de fluxo e temperatura para desencadear a reprodução, a tilápia apresenta facilidade reprodutiva em sistema de cultivo, maturidade sexual precoce, alta fecundidade e capacidade de desova natural em sistemas controlados (Vega-Villasante et al., 2009; El-Sayed., 2016). Essas características inerentes à fisiologia reprodutiva da espécie, fazem da tilápia-do-Nilo uma espécie de sucesso nos sistemas produtivos e nos programas de melhoramento genético.

Em 2022, a produção aquícola mundial ultrapassou a pesca em volume de produção de animais aquáticos (FAO, 2022). Tal crescimento, no entanto, acarreta pressões sobre os recursos naturais, como o uso intensivo da água e a geração de efluentes ricos em matéria orgânica e nutrientes. Dessa forma, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de proporcionar alternativas de cultivo na piscicultura que mitiguem os impactos da atividade no meio ambiente, tornando-a mais sustentável (Nguyen et al., 2021; Zappernick et al., 2022; Madady et al., 2025; Tavares et al., 2025; Khanjani et al., 2024).

Estudos apontam que a tecnologia de bioflocos, conhecida como BFT, tem proporcionado resultados satisfatórios sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de diversas espécies aquáticas (Figueroa-Espinoza et al., 2022; Azim e Little., 2008; Ekasari et al., 2013; Khanjani et al., 2022; Cardona et al., 2016; Pellegrin et al., 2024; Spica et al., 2025). Na década de 80, a tecnologia teve seus primeiros conceitos aplicados em tilápias, quando Steve Serfling, em suas fazendas no sul da

Califórnia e no Vale do Rio Jordão, na Jordânia, desenvolveu um modelo inovador de cultivo denominado Organic Detrital Algae Soup System (ODASS), um sistema que posteriormente evoluiu para o atual BFT (Emerenciano et al., 2021). Em tilápias, aspectos relacionados à melhoria reprodutiva e de imunidade também têm sido analisados (Sallam et al., 2025; Ekasari et al., 2015; Aliabad et al., 2022). Entretanto, os mecanismos moleculares que desencadeiam os fenótipos observados ainda não foram investigados.

As facilidades no manejo reprodutivo e produtivo da tilápia, além de favorecer a implementação e melhorias dos pacotes tecnológicos desenvolvidos para o aumento da escala de produção da espécie no cenário global, também impacta diretamente no uso da espécie como um excelente modelo no entendimento da influência de efeitos ambientais sobre a modulação da expressão gênica, os quais podem aprimorar as respostas da eficiência produtiva e reprodutiva da espécie em sistemas de cultivo.

2.2. Tecnologia de Bioflocos (BFT)

BFT é uma alternativa de cultivo que visa maior sustentabilidade no uso de recursos hídricos, pois possibilita a criação de organismos aquáticos em ambientes com renovação mínima ou inexistente de água, sem a necessidade de sistemas de filtragem convencionais. A tecnologia foi originalmente desenvolvida na década de 1970, na França, com o objetivo de aprimorar o cultivo de camarões marinhos (Emerenciano et al., 2012). Posteriormente, sua aplicação expandiu-se para a piscicultura se destacando sobre o desempenho zootécnico de diferentes espécies aquícolas como, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (da Rocha et al., 2025), camarões como *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon* e *Cryphiops caementarius* (Khanjani et al., 2022a; Ulloa Walker et al., 2020), a carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Najdegerami et al., 2016) e o dourado (*Salminus brasiliensis*) (de Oliveira Brasileiro et al., 2024), demonstrando também eficácia em espécies como a tilápia-do-Nilo, especialmente em BFT (Azim & Little et al., 2008; Khanjani & Sharifinia et al., 2024; Tavares et al., 2025).

O princípio do BFT baseia-se no controle da relação carbono:nitrogênio (C:N), por meio da adição de fontes de carbono orgânico, como o melaço. Isso favorece o crescimento de bactérias heterotróficas, que utilizam o carbono orgânico como fonte de energia e assimilam rapidamente o nitrogênio amoniacal (NH_4^+), transformando compostos nitrogenados em biomassa microbiana (Mahadik et al., 2024). Em paralelo, bactérias quimioautotróficas também participam do sistema, oxidando compostos inorgânicos como amônia (NH_4^+) e nitrito (NO_2^-), contribuindo para o controle da qualidade da água. Essa dinâmica reduz consideravelmente a necessidade de troca de água e o uso de sistemas de filtragem, tornando o BFT uma alternativa ambientalmente sustentável (Braga et al., 2020). Os bioflocos formados, agregados microbianos ricos em proteína, permanecem em suspensão e podem ser consumidos diretamente pelos peixes, atuando como alimento suplementar continuamente disponível (Avnimelech, 2009).

Em sistemas aquícolas, nutrientes como fósforo e nitrogênio são essenciais, mas seu acúmulo pode gerar impactos ambientais significativos. O fósforo, comumente presente como fosfato (PO_4^{3-}), é proveniente, em grande parte, das rações e insumos, mas apresenta baixa taxa de aproveitamento pelos peixes (Sugiura., 2018). Já o nitrogênio, frequentemente encontrado nas formas de amônia (NH_4^+) e nitrito (NO_2^-), representa um risco tóxico para os organismos aquáticos quando não tratado adequadamente (Luo et al., 2022).

Em BFT, há três principais mecanismos de remoção do nitrogênio amoniacal: (i) assimilação por microalgas fotoautotróficas (fitoplâncton), (ii) nitrificação por bactérias quimioautotróficas, e (iii) incorporação do nitrogênio em biomassa microbiana por bactérias heterotróficas. O processo autotrófico, considerado um dos mais eficientes, envolve duas etapas microbianas: a conversão da amônia em nitrito pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas*, seguida da conversão do nitrito em nitrato, realizada por bactérias do gênero *Nitrobacter* (Emerenciano et al., 2021).

Além da depuração da água, os bioflocos oferecem alimento proteico adicional, principalmente para espécies filtradoras, reduzindo a dependência de ração comercial e, consequentemente, os custos operacionais (Pires et al., 2022). De acordo com Emerenciano et al. (2021), os bioflocos são formados por partículas compostas de matéria orgânica, substratos físicos e uma diversidade de microrganismos, como fitoplânctons, bactérias, rotíferos, flagelados, protozoários ciliados, nematóides e copépodes. Essa complexa estrutura biológica atua como uma fonte alimentar suplementar para diversas espécies aquáticas cultivadas. Além disso, os bioflocos são ricos em nutrientes essenciais, incluindo aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, minerais, polímeros bacterianos (como poli-hidroxialcanoatos e poli-hidroxibutirato), ácidos orgânicos e compostos com propriedades imunoestimulantes, que contribuem para os resultados positivos observados no desempenho produtivo e reprodutivo de organismos cultivados em sistemas BFT (Emerenciano et al., 2021). Assim, os fenótipos zootécnicos aprimorados em tais sistemas são influenciados por mecanismos diretos e indiretos, os quais podem modular vias de sinalização celular que atuam sobre os eixos hipotalâmico-hipofisário-gonadal e somatotrófico, favorecendo a regulação fisiológica relacionada ao crescimento e à reprodução.

2.3. Efeitos fisiológicos e moleculares do BFT em tilápia-do-Nilo

A presença constante de bioflocos pode influenciar diversos processos fisiológicos dos peixes, incluindo funções reprodutivas, crescimento somático e resposta imune (Ekasari et al., 2013; Ekasari et al., 2015a; 2015b; da Rocha et al., 2025). Isso se dá tanto pela melhoria das condições ambientais como pela oferta contínua de nutrientes e estímulos microbianos presentes na água. Nesse sentido, resultados consistentes foram observados em espécies como o camarão *Litopenaeus stylirostris* (Emerenciano et al., 2012; Cardona et al., 2016) e o bagre africano *Clarias gariepinus* (Ekasari et al., 2016), nas quais a aplicação da BFT favoreceu o sucesso reprodutivo em sistemas controlados, como maior taxa de fecundidade, aumento na produção de oócitos viáveis, e maior sobrevivência e desempenho larval. Estudos com tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) também vêm sendo conduzidos, demonstrando efeitos positivos sobre a reprodução, especialmente durante as fases iniciais da larvicultura, reduzindo o intervalo entre desovas e melhorando a produção e a sobrevivência das larvas (Ekasari et al., 2015a; 2015b). Esses efeitos são atribuídos à riqueza nutricional dos bioflocos, que incluem ácidos graxos de cadeia curta, proteínas microbianas, lipídios, vitaminas e minerais, os quais atuam como substratos energéticos e reguladores fisiológicos (Emerenciano et al. 2021). Com isso, o BFT se apresenta como um sistema capaz de fornecer suporte nutricional e ambiental integrado, favorecendo não apenas a reprodução, mas o equilíbrio fisiológico geral dos peixes em cultivo.

Nos peixes da espécie *Oreochromis niloticus*, os eventos reprodutivos também são regulados por um sistema neuroendócrino denominado eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, o qual coordena a formação e liberação de gametas, promovendo espermiacção nos machos e ovulação nas fêmeas

(Honji; Araújo; Moreira, 2020). Esse eixo é ativado pela secreção do hormônio do crescimento (GnRH) pelo hipotálamo, que induz a hipófise a produzir os hormônios, como folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). A expressão dos genes *FSH* e *LH*, portanto, está diretamente relacionada à síntese desses hormônios gonadotrópicos, sendo um marcador molecular da atividade da hipófise no controle reprodutivo. Nas gônadas, esses hormônios exercem suas funções por meio da ligação aos seus respectivos receptores, codificados pelos genes *FSHR* e *LHR* (Levavi-Sivan et al., 2010). O *FSH* atua nas células da granulosa (ovários) e células de Sertoli (testículos), estimulando processos como maturação folicular e suporte à espermatogênese, enquanto o *LH*, ao se ligar ao *LHR* nas células da teca (fêmeas), desencadeando as fases finais da ovulação, e, nos machos, são encontrados nas células de Leydig, estimulando a produção do hormônio testosterona, essencial para espermatogênese. A maior ou menor expressão de *FSHR* e *LHR* pode refletir na sensibilidade das gônadas aos hormônios circulantes e, conseqüentemente, no potencial reprodutivo do animal. Além disso, a ativação do eixo reprodutivo leva à produção de estradiol, que induz no fígado a síntese da vitelogenina, uma proteína essencial para a formação da fonte nutricional do embrião, cuja produção é codificada pelo gene vitelogenina (*VTG*), sendo este, portanto, um indicador da maturação ovariana e do acometimento reprodutivo das fêmeas

O BFT também desempenha papel importante na modulação da resposta imune de organismos aquáticos mantidos em condições intensivas (Kim et al., 2014; Elayaraja et al., 2020; Widanarni et al., 2024). Em ambientes com alta densidade de estocagem, é comum o aumento do estresse fisiológico e da exposição a patógenos, o que exige uma resposta imune eficiente por parte dos organismos cultivados. Nesse contexto, a BFT atua como um estímulo imunológico natural, principalmente devido à presença de bactérias heterotróficas e componentes estruturais microbianos, como β -1,3-glucanas, lipopolissacarídeos (LPS) e peptidoglicanos, que ativam vias da imunidade inata (Khanjani et al., 2023).

A ativação dessas vias influencia a expressão de genes do sistema imune, como lisozima tipo C (*LYS*), responsável pela produção de lisozima, uma enzima antimicrobiana essencial na defesa contra bactérias gram-positivas. (Callewaert et al. 2010; Yin et al. 2015). As citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (*IL-1 β*) e interleucina-8 (*IL-8*) participam da ativação e recrutamento de células fagocíticas, sendo essenciais no controle de infecções (Zhang et al. 2018). Já os genes, receptor 1 do fator de necrose tumoral (*TNF- β*) e linfotóxina (*LT*) estão relacionados à regulação da inflamação e à resposta imune adaptativa, contribuindo para a homeostase e defesa celular. A expressão desses genes reflete o estado imunológico dos peixes diante dos estímulos ambientais e microbiológicos presentes nos sistemas de cultivo. A elevação da expressão desses genes em organismos cultivados em bioflocos pode indicar uma estimulação imunológica basal constante, que pode fortalecer as barreiras de defesa e reduzir a necessidade do uso de antibióticos profiláticos, promovendo um ambiente de cultivo mais sustentável e biologicamente estável (Haghpour et al., 2020; Long et al., 2015; Elayaraja et al., 2020). Em pacu, da Rocha et al., 2025 encontraram aumento da expressão de *IL-1- α* em rim de juvenis cultivados em BFT. Em tilápias GIFT, Menaga et al., 2019 afirmaram que a maior expressão dos genes *TNF- α* e *IL-1 β* aumentam as secreções de células imunes, como citocinas pró-inflamatórias, para modular a resposta imune inata dos animais cultivados. Estudos realizados constataram que a digestão dos bioflocos no trato intestinal pode aumentar digestibilidade dos nutrientes, além de estimular a resposta imune inata dos peixes, especialmente por meio da ativação de mecanismos como a fagocitose, pois, os bioflocos fornecem uma fonte

proteica suplementar rica em aminoácidos essenciais, que pode fortalecer a função imunológica e contribuir para a defesa antioxidante em peixes cultivados sob o sistema BFT (Xu e Pan, 2014; Ekasari et al., 2014).

A maioria dos estudos desenvolvidos com peixes em BFT relatam a melhora do desempenho em crescimento. Em tilápias, a inclusão de bioflocos na alimentação têm demonstrado efeitos positivos sobre o desempenho zootécnico, especialmente no crescimento, conforme evidenciado por Aboseif et al. (2022), Mohammady et al. (2023), Ajamhasani et al., (2023), Khanjani & Alizadeh (2024) que apontaram melhor conversão alimentar, ganho de peso e taxa de sobrevivência indicando que o BFT pode otimizar o crescimento por meio de melhor digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes. A oferta constante de nutrientes estimula as vias de sinalização celular que culminam com a proliferação e o crescimento celular. Um dos principais reguladores moleculares desse processo é o gene *Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1)*, que atua como elemento-chave do eixo hormonal GH/IGF-1, responsável pela promoção do crescimento celular, síntese proteica e desenvolvimento tecidual. A expressão de gene *IGF-1* é estimulada pela ação do hormônio do crescimento (GH) e modulada por outros hormônios, como a insulina, além de ser altamente sensível às condições nutricionais e metabólicas do organismo. Após ser sintetizado, o IGF-1 é liberado na circulação e se liga a proteínas carreadoras de alta afinidade, cuja produção também é regulada pelo GH, garantindo sua estabilidade e biodisponibilidade no sangue. A análise da expressão do gene *IGF-1*, portanto, oferece uma ferramenta eficaz para avaliar o estado fisiológico de crescimento em peixes submetidos a diferentes condições de cultivo, como o sistema BFT, melhorando o desempenho produtivo, o que pode estar relacionado à disponibilidade de proteínas e lipídios dos bioflocos (Avnimelech, 2007; Azim e Little, 2008).

2. INTRODUÇÃO

O crescimento expressivo da piscicultura, resultante do aumento da demanda mundial por proteína de alto valor nutricional, enfrenta desafios ambientais, especialmente àqueles relacionados ao uso sustentável dos recursos hídricos e ao adequado destino dos efluentes. A tecnologia de bioflocos (BFT) surge como uma alternativa promissora para produção mais eficiente e ambientalmente sustentável (Ekasari e Maryam, 2012), uma vez que se trata de uma tecnologia que explora o sinergismo entre microrganismos, que cooperam com as melhorias da qualidade da água de cultivo, e os organismos aquáticos, cujo sistema produtivo fornece fontes de proteínas com alto valor nutricional (Mugwanya et al., 2021).

Dentre as espécies cultivadas com êxito em bioflocos, destaca-se a tilápia-do-Nilo. Basumatary et al. (2024), em uma revisão sistemática sobre as tendências globais de pesquisa e avaliação de desempenho do BFT, destacaram a tilápia-do-Nilo como uma das principais espécies nos estudos relacionados ao tema, reforçando sua relevância científica e produtiva no contexto da aquicultura intensiva. A espécie se destaca pela adaptabilidade e satisfatórios índices zootécnicos em sistemas intensivos de cultivo (Tavares et al., 2025). Nessa perspectiva, a maioria das pesquisas desenvolvidas com tilápia-do-Nilo em BFT evidenciam os benefícios dos bioflocos sobre o desempenho em crescimento da espécie (Matos et al., 2022; Raza et al., 2024; Lima et al., 2024), como melhor conversão alimentar, ganho de peso e taxa de sobrevivência (Aboseif et al., 2022; Mohammady et al., 2023; Ajamhasani et al., 2023; Khanjani & Alizadeh, 2024). Além do crescimento, estudos sinalizam que os bioflocos também pode ser utilizado no preparo de

reprodutores da espécie, uma vez que há efeitos positivos da tecnologia sobre as fases iniciais da larvicultura, reduzindo o intervalo entre desovas e melhorando a produção e a sobrevivência das larvas (Ekasari et al., 2015a; 2015b), bem como melhoria da resposta imune inata, o que é particularmente relevante em condições de cultivo intensivo, com maior desafio imunológico (Elayaraja et al. 2020).

Os bioflocos são ricos em nutrientes essenciais, incluindo aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, minerais, polímeros bacterianos (como poli-hidroxialcanoatos e poli-hidroxibutirato), ácidos orgânicos e compostos com propriedades imunoestimulantes, que contribuem para os resultados positivos observados no desempenho produtivo e reprodutivo de organismos cultivados em sistemas BFT (Emerenciano et al., 2021; Nguyen et al., 2021; Khanjani et al., 2024). Esses nutrientes podem modular a expressão gênica, influenciando a manifestação dos fenótipos de crescimento, reprodução e resposta imune dos organismos aquáticos em cultivo, o que justifica o interesse crescente em estudos que associam a BFT com parâmetros genéticos em tilápias (Menaga et al., 2019; Yu et al., 2020; da Rocha et al., 2025). Apesar da relevância dos estudos avaliando o desempenho zootécnico de tilápias-do-Nilo em BFT, especialmente o desempenho reprodutivo, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos a nível molecular, no intuito de avaliar como o desempenho dos peixes pode ser regulado.

Nesse sentido, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de revelar a influência dos bioflocos sobre a expressão de genes chaves reguladores dos mecanismos moleculares que culminam na resposta imune inata, reprodução e crescimento em tilápia-do-Nilo em comparação com sistema convencional de cultivo com renovação de água. Os resultados desta pesquisa poderão elucidar os efeitos benéficos desse sistema sobre o desempenho produtivo, a saúde e a qualidade fisiológica dos peixes cultivados em BFT, com aplicação ao cultivo de matrizes e reprodutores, subsidiando a implementação do BFT no cultivo da espécie.

3.METODOLOGIA

2.1 Local do Experimento

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Piscicultura da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), localizada no município de Campo Grande – MS (20°30'04.6 ' S, 54°36'37.8" O), no início do ano de 2023. Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMS (protocolo nº 1.213/2022).

2.2 Procedência e manejo inicial dos animais

A produção de larvas de *Oreochromis niloticus* da linhagem GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia) foi realizada início do ano de 2023, na Unidade de Produção de Tilápia do Projeto Pacu (Campo Grande, MS, Brasil). Foram estocados 275 fêmeas (peso médio de 1,327 kg) e 142 machos (peso médio de 1,804 kg), em proporção sexual de 2:1 (fêmea:macho), com densidade total de 0,74 kg/m². A alimentação foi realizada com ração comercial específica para reprodutores (36% PB; 4–6 mm), fornecida à taxa de 0,7% da biomassa total.

Após 15 dias de acasalamento, as larvas foram coletadas com rede de malha 1 mm, transportadas em baldes com água e transferidas para calhas de fluxo contínuo (~215 L). Posteriormente, foram padronizadas em classificador com malha de 3,2 mm e submetidas a banho profilático de curta duração com oxitetraciclina, sal e triclorfon. Durante esse período, os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados duas vezes ao dia com equipamentos apropriados.

2.3 Formação e manutenção das unidades experimentais

As unidades experimentais foram tanques de polietileno com capacidade total de 1.000 L e volume útil de 800 L (n=10), sob dois diferentes sistemas de cultivo: troca parcial de água (n=5) e o tecnologia de bioflocos (BFT; n=5). No sistema de troca parcial de água, realizaram-se trocas diárias equivalentes a 20% do volume útil dos aquários, mantendo a alcalinidade acima de 100 mg·L⁻¹ de CaCO₃. No sistema BFT, os aquários foram abastecidos com água maturada, conforme metodologia adaptada de Ebeling et al. (2006), utilizando uma relação carbono:nitrogênio (C:N) de 12:1.

A qualidade da água foi monitorada diariamente às 08h00 e às 15h00. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram aferidos com oxímetro digital (HI98193, Hanna Instruments®, EUA), e o pH com pHmetro digital (HI98107, Hanna Instruments®, EUA). A salinidade foi mantida em 1 g·L⁻¹ e monitorada com refratômetro digital (HI98319, Hanna Instruments®, EUA). Duas vezes por semana, realizaram-se análises de amônia total, nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻) e alcalinidade com kits colorimétricos comerciais (AlconPet®, Brasil), conforme Eaton et al. (2005).

Foram mantidos os seguintes valores para as variáveis de qualidade da água de cultivo de tilápia-do-nilo:

- Alcalinidade mantida entre 100–150 mg·L⁻¹ de CaCO₃ (Ebeling et al., 2006);
- Sólidos sedimentáveis limitados a 10 mL·L⁻¹, sendo realizadas clarificação com sistema airlift quando necessário (Ray et al., 2010);
- Nitrogênio amoniacal total, com adição de melaço como fonte de carbono sempre que a concentração superou 1 mg·L⁻¹.

2.4 Alimentação

A alimentação foi ajustada semanalmente com base nas biometrias. Inicialmente, os peixes foram alimentados com 20% da biomassa, divididos em 11 tratos diários, com intervalos de uma hora entre 07h00 e 17h00. Com o desenvolvimento dos animais, tanto a frequência quanto a taxa de alimentação foram gradualmente reduzidas, conforme recomendado por Kubitza (2003). A dieta foi composta por ração comercial triturada (Acqualine Supra®, 36% PB).

2.5 Análise da expressão gênica

Ao final dos 180 dias de cultivo, os animais apresentaram os seguintes pesos médios: as fêmeas cultivadas no sistema BFT pesaram 246,96 ± 19,39 g, enquanto no sistema TPA, 229,80 ± 42,46 g; os machos apresentaram peso médio de 252,0 ± 22,28 g no BFT e 252,0 ± 53,22 g no TPA. Após esse período, considerado suficiente para a formação dos reprodutores, foram abatidos dois peixes por tanque (n=10), sendo um macho e uma fêmea, para coleta dos tecidos: fígado, rim, baço, testículo, hipófise e ovário. As amostras biológicas foram identificadas e imediatamente

imersas em nitrogênio líquido e posteriormente à coleta, foram armazenadas em ultrafreezer (-80°C), garantindo a preservação do material genético até a realização das análises moleculares.

Para a extração do RNA total, cada amostra foi macerada em nitrogênio líquido, garantindo a uniformização do tecido, e em seguida o reagente Quick-Zol® (método semelhante ao TRIzol), foi adicionado às amostras, conforme as instruções do fabricante. A integridade e a concentração do RNA foram avaliadas por espectrofotometria, utilizando o equipamento NanoDrop®, sendo amostras com razão de absorbância A260/A280 entre 1,8 e 2,0.

Em seguida, foi realizada a transcrição reversa do RNA em cDNA, utilizando protocolo enzimático (GoScript™ Transcriptase Reversa), conforme orientações do fabricante. O cDNA obtido foi diluído em água ultrapurificada (UltraPure™) a uma concentração final de 45 ng/μL por amostra.

O *design* dos primers para a técnica de RT-qPCR (*Reverse Transcription Quantitative PCR*) foi realizado utilizando o *software* PrimerQuest(R). Os primers foram utilizados na concentração de 200 nmol/μL. As sequências dos genes alvo e genes de referência, bem como a especificação da TM e tamanho do fragmento estão disponibilizados na Tabela 1.

A expressão relativa dos genes foi calculada com base no método comparativo $2^{-\Delta\text{CT}}$ (Livak et al., 2001).

Tabela 1. Primers para análise de qPCR em tempo real.

Produção e Reprodução				
Gene		Sequência	TM ($^{\circ}\text{C}$)	Tamanho (bp)
FSHR	Forward	CATCAAGGAGGTGGCAAG	55 $^{\circ}\text{C}$	113
	Reverse	CACTGGAACCCACAAAGG	55 $^{\circ}\text{C}$	113
FSH	Forward	AAGAACATCAGCTCCCT	55 $^{\circ}\text{C}$	106
	Reverse	GCCAGTCGTCAGTATGAATG	55 $^{\circ}\text{C}$	106
LHR	Forward	CCTTGAACGCTGGCATA	55 $^{\circ}\text{C}$	92
	Reverse	CCCAACCTCCTACCATCA	55 $^{\circ}\text{C}$	92
LH	Forward	CTCCTTGCTCTGATGTTGAG	55 $^{\circ}\text{C}$	107
	Reverse	GACACTGTCTGGTTGATGAG	55 $^{\circ}\text{C}$	107
VTG	Forward	GCCAACGACTACATTCTG	53 $^{\circ}\text{C}$	83
	Reverse	GCTGGATGGAAGGATCT	53 $^{\circ}\text{C}$	83
IGF1	Forward	CCTGTCAAGACTCCCAAGAT	51 $^{\circ}\text{C}$	94
	Reverse	CCTTGTCGGTCTGCTACTA	51 $^{\circ}\text{C}$	94
Imunidade				
Gene		Sequência	TM ($^{\circ}\text{C}$)	Tamanho (bp)
LYS	Forward	AAGTCTTTGAGCGCTGTG	54 $^{\circ}\text{C}$	101
	Reverse	ATGTTCCGTCAGGCAAAC	54 $^{\circ}\text{C}$	101
IL-8	Forward	GTCCAGCAGATCCTAAACTG	60 $^{\circ}\text{C}$	120
	Reverse	GACAGTCATCTCGTGAAAGG	60 $^{\circ}\text{C}$	120
IL-1 β	Forward	CTACACCCATCGCTGAGA	56 $^{\circ}\text{C}$	92
	Reverse	GGTGGCTTGTCGTCATC	56 $^{\circ}\text{C}$	92
TNF β	Forward	CGTCGTGGCTCTTTGTTAG	60 $^{\circ}\text{C}$	106

	Reverse	CTTCGCCTTTAGTGCTTCTG	60°C	106
<i>LT-α</i>	Forward	GGCACATGACATCGGAAA	53°C	91
	Reverse	GAACTGTACAAGCCATCTC	55°C	91
Genes de referência				
Gene		Sequência	TM (°C)	Tamanho (bp)
<i>18S</i>	Forward	GGTTGCAAAGCTGAACTTAAAGG	56°C	85
	Reverse	TTCCCGTGTGAGTCAAATTAAGC	56°C	85
<i>EF1-α</i>	Forward	CATGGTTGTGGAGTCCTTC	63°C	160
	Reverse	GGGATAACGGACTTGATGAC	63°C	160

FSHR, Follicle-Stimulating Hormone Receptor; *FSH*, Follicle-Stimulating Hormone; *LHR*, Luteinizing Hormone Receptor; *LH*, Luteinizing Hormone; *VTG*, Vitellogenin; *IGF1*, Insulin-like growth factor; *LYS*, Endoproteinase Lys-C; *IL-8*, Interleukin-8; *IL1β*, Interleukin-1β; *TNFβ*, tumour necrosis factor β; *LT-α*, Lymphotoxin α; *18S rna*, 18S ribosomal RNA; *EF1α*, Eukaryotic translation elongation factor 1 α. *TM: temperatura melting.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos das análises de expressão gênica foram submetidos à transformação radical ($Y' = \sqrt{Y}$). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a comparação entre os grupos (BFT e TPA) foi realizada pelo teste t de *Student* para amostras independentes, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

A análise da expressão gênica revelou que o sistema BFT promoveu aumento significativo na expressão de genes associados à reprodução, imunidade e crescimento em comparação ao sistema de troca parcial de água (TPA).

Nas fêmeas, alguns genes relacionados à reprodução apresentaram níveis de expressão aumentados em BFT (Figura 1). O gene *LH* foi 6 vezes mais expresso na hipófise de fêmeas oriundas de BFT em relação ao TPA ($p = 0,03$), enquanto o gene *FSH* apresentou expressão similar entre os grupos ($p > 0,05$). No ovário, a expressão do gene *FSHR* apresentou expressão 2,4 vezes maior no grupo BFT ($p = 0,02$), e, no fígado, o marcador clássico da maturação ovariana (*VTG*), foi 3,1 vezes mais expresso ($p = 0,03$) em fêmeas mantidas no BFT. Os resultados apontam para o potencial efeito do BFT sobre a sinalização do eixo hipófise-gônada, o que pode resultar em melhorias reprodutivas. Por outro lado, os genes *FSH* e *LHR* não foram diferencialmente expressos na hipófise de fêmeas e ovário, respectivamente, entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

Em relação à resposta imune, o gene *LYS*, apresentou expressão 2,2 vezes superior nas fêmeas do sistema BFT em comparação à troca parcial de água ($p = 0,01$), indicando possível estimulação da resposta imune inata promovida pelas condições microbianas do bioflocos (Figura 1A). Já os genes *IL-1β*, *IL-8*, *TNF-β* e *LT* não apresentaram resultados significativamente expressos.

Nos machos de tilápia-do-Nilo, o gene *IGF-1*, teve expressão 2,1 vezes maior ($p = 0,03$) no tratamento com BFT em comparação ao controle, sugerindo um potencial efeito anabólico do sistema sobre os parâmetros de desenvolvimento corporal (Figura 1B). Por outro lado, em nenhum dos outros genes avaliados em machos como o *LH*, *FSH*, *LHR*, *FSHR*, *LYS*, *IL-1β*, *IL-8*, *TNF-β* e *LT*, observou-se influência dos bioflocos comparativamente ao TPA ($p > 0,05$).

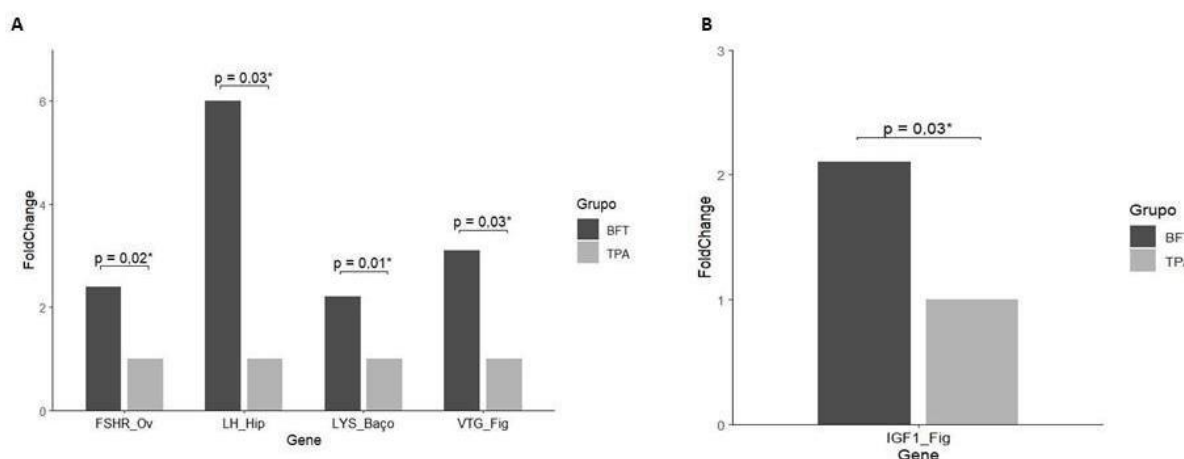


Figura 1. Expressão gênica em diferentes tecidos de Tilápia-do-Nilo cultivadas em Tecnologia de Bioflocos (BFT) e TPA (Troca Parcial de Água). A – *Fold-change* (unidades arbitrárias) dos genes *Follicle-Stimulating Hormone Receptor* no ovário (FSHR_Ov), *Luteinizing Hormone* na hipófise (LH_Hip), *Endoproteinase Lys-C* no baço (LYS_Baço) e *Vitellogenin* no fígado (VTG_Fig). B - *Fold-change* (unidades arbitrárias) do gene *Insulin-like Growth Factor 1* no fígado (IGF1_Fig). O cálculo do *fold-change* para cada gene foi realizado pelo quociente entre o nível de expressão do gene alvo no grupo BFT e TPA (padronizado em 1 unidade). **P*-valor para a significância estatística no nível de 5% de probabilidade do erro tipo I pelo teste *t* de Student.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a tecnologia de bioflocos (BFT) foi capaz de modular positivamente a expressão de genes associados à reprodução, ao crescimento e à resposta imune em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), quando comparada ao sistema convencional de troca parcial de água. Essa regulação parece estar relacionada à composição do BFT, rica em nutrientes funcionais, como aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e compostos microbianos, que atuam diretamente sobre a sinalização celular nos eixos hormonais e fisiológicos dos peixes (Emerenciano et al., 2021; Ekasari et al., 2015a; Avnimelech, 2009).

No caso da reprodução, o BFT influenciou genes críticos do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, especialmente o *LH*, que apresentou expressão seis vezes maior nas fêmeas mantidas em BFT. O *LH* atua nas células da teca em fêmeas, onde, ao se ligar ao seu receptor específico (*LHR*), induz a produção de progesterona e desencadeia os eventos finais da ovulação, como a maturação oocitária e a liberação do oócito. Considerando que a sinalização gonadotrófica é influenciada pela disponibilidade de moléculas lipídicas, o aumento nos níveis do *LH* mRNA é uma resposta ao bioflocos, uma vez que este proporciona um ambiente rico em ácidos graxos de cadeia curta e lipídios microbianos (Emerenciano et al., 2012; Ekasari et al., 2015b). A expressão aumentada de *FSHR* e *VTG* também reforça essa hipótese de que o ambiente fornecido pelo BFT favorece a maturação ovariana e o preparo endócrino para a reprodução, uma vez que esses genes atuam de forma coordenada, na regulação da esteroidogênese e vitelogênese, respectivamente (Ekasari et al., 2015b; Zhang et al. 2021) evidenciando o papel do bioflocos no aumento da sensibilidade das gônadas à

sinalização reprodutiva. Tais resultados corroboram estudos anteriores que observaram melhor desempenho reprodutivo em tilápias e outras espécies cultivadas em BFT (Alvarenga et al., 2017; Ekasari et al., 2013; Cardona et al., 2016).

Em relação ao crescimento, a maior expressão do gene *IGF-1* nos machos do grupo BFT aponta para ativação do eixo GH/IGF-1, que é sensível às condições nutricionais e ambientais (Ndandala et al., 2022). O fornecimento contínuo de biomassa microbiana rica em proteínas pode ter contribuído para o estímulo anabólico, como observado também por Avnimelech (2007) e Azim & Little (2008) em tilápia-do-Nilo. Conforme, Khanjani et al. 2024, a presença de bioflocos microbianos, ricos em enzimas digestivas extracelulares como lipases, proteases e amilases, pode favorecer a quebra de lipídios, proteínas e carboidratos no trato gastrointestinal da tilápia, otimizando os processos de digestão e absorção de nutrientes da ração. Essa ação contribui diretamente para o aproveitamento alimentar e o crescimento somático da espécie. Estudos como Aboseif et al., (2022), Mohammady et al., (2023) e Khanjani & Sharifinia (2024) relataram resultados positivos no crescimento de tilápias alimentadas em sistema BFT, evidenciando aumento do ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de sobrevivência, além de melhorias na eficiência digestiva (por meio da atividade de enzimas intestinais como amilase e lipase) e indicadores de saúde (como componentes bioquímicos séricos e imunidade de mucosa). Isso sugere que o BFT pode melhorar o desempenho em crescimento por meio da ativação de vias moleculares associadas à síntese proteica e ao crescimento celular.

A constante exposição dos peixes ao ambiente microbiano pode estimular a resposta imune inata, que se caracteriza como a primeira barreira do sistema imune dos peixes, fortalecendo a resposta imune específica, ocasionada pela presença de patógenos (da Rocha et al., 2025; Liu et al., 2024; Abdel-Rahim et al. 2024). Considerando as funções dos genes imunológicos avaliados, como a degradação da parede bacteriana (*LYS*) (Callewaert et al., 2010; Yin et al., 2015), a ativação e recrutamento de células fagocíticas (*IL-1* e *IL-8*) (Zhang et al., 2018), além da regulação da inflamação e da resposta adaptativa (*TNF- β* e *LT*), apenas *LYS* foi diferencialmente expresso entre os grupos, apresentando maiores níveis de transcrição em baço de fêmeas de tilápia. Esses resultados indicam que os bioflocos proporciona um ambiente com presença constante de bactérias heterotróficas e de componentes estruturais como LPS, β -glucanas e peptidoglicanos, estimula as defesas basais do organismo (Haghparast et al., 2020; Khanjani et al., 2023). Dessa forma, o aumento na expressão do gene *LYS*, pode indicar uma resposta local e eficiente à pressão microbiana ambiental, compatível com o conceito de estimulação imune contínua e não inflamatória, promovida pela presença de compostos bacterianos estruturais nos bioflocos. Em conjunto, esses resultados indicam que o bioflocos de fato atua como um eficiente agente imuno estimulador. Resultado similar foi observado por Elayaraja et al. (2020) que também identificaram aumento da expressão de *LYS* em cultivo monosssexo de tilápia cultivadas em BFT e submetidas ao desafio imune com *Aeromonas hydrophila*. Estudos anteriores de Menaga et al., (2019), Mirzakhani et al., (2019), Mansour e Esteban (2017), Bakhshi et al., (2018) e Khanjani et al., (2023c) também relataram melhorias significativas nas respostas imunológicas da tilápia-do-Nilo em sistemas de bioflocos. Por outro lado, não foram observadas diferenças nos níveis de expressão do referido gene em machos de tilápia cultivados em BFT, o que pode indicar uma maior sensibilidade das fêmeas na ativação da resposta imune inata em sistemas de cultivo sem desafio imunológico. Ainda que existam estudos anteriores com foco em desempenho zootécnico, os efeitos moleculares da BFT ainda são pouco investigados, o que confere a este trabalho um caráter inédito ao contribuir para o entendimento dos mecanismos de ação dessa

tecnologia em tilápias. Adicionalmente, os resultados apresentados evidenciam que há importantes diferenças entre os parâmetros produtivos, mas também exerce influência direta sobre a regulação genética de processos fisiológicos essenciais, como reprodução, crescimento e imunidade.

Em conjunto, nossos resultados reforçam a hipótese de que o BFT exerce efeitos positivos específicos em ambos os sexos, o que pode subsidiar pesquisas futuras voltadas à investigação da influência desse sistema no preparo fisiológico de reprodutores.

6. CONCLUSÃO

A tecnologia de bioflocos é uma alternativa de cultivo sustentável que pode modular positivamente a expressão de genes associados ao crescimento, à imunidade e à reprodução em tilápias-do-Nilo, com efeitos distintos entre machos e fêmeas.

7. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul - FUNDECT (PROCESSO 71/032.791/2022; TO 280/2022, SIAFEM 32199); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ); e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

8. REFERÊNCIAS

- Abdel-Rahim, M. M., Elhetawy, A. I., Shawky, W. A., El-Zaeem, S. Y., & El-Dahhar, A. A. (2024). Enhancing Florida red tilapia aquaculture: biofloc optimization improves water quality, pathogen bacterial control, fish health, immune response, and organ histopathology across varied groundwater salinities. *Veterinary Research Communications*, 48(5), 2989-3006.
- Acosta, B.O., Gupta, M.V., 2010. The genetic improvement of farmed tilapias project: impact and lessons learned. In: De Silva, S.S., Davy, F.B. (Eds.), *Success Stories in Asian Aquaculture*, pp. 149–171.
- Aliabad, H. S., Naji, A., Mortezaei, S. R. S., Sourinejad, I., & Akbarzadeh, A. (2022). Effects of restricted feeding levels and stocking densities on water quality, growth performance, body composition and mucosal innate immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry in a biofloc system. *Aquaculture*, 546, 737320.
- Alvarenga, É., Moreira de Sales, S. C., Soares de Brito, T., Santos, C. R., Dias Serafim Corrêa, R., de Oliveira Alves, G. F., ... & Maldonado Turra, E. (2017). Effects of biofloc technology on reproduction and ovarian recrudescence in Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 48(12), 5965-5972.
- Avnimelech Y (2009) Biofoc technology. A practical guidebook. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Azim, M.E. and D.C. Little. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283: 29–35.

- Bakhshi F, Najdegerami HE, Manafar R, Tokmechi A, Rahmani Farah K, Shalizar Jalali A (2018) Growth performance, haematology, antioxidant status, immune response and histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed biofloc grown on different carbon sources. *Aquacult Res* 49(1):393–403.
- Barriá, A., Benzie, J. A., Houston, R. D., De Koning, D. J., & De Verdal, H. (2021). Genomic selection and genome-wide association study for feed-efficiency traits in a farmed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) population. *Frontiers in genetics*, 12, 737906.
- Basumatary, B., Verma, A. K., Kushwaha, S., & Verma, M. K. (2024). Global research trends and performance measurement on biofloc technology (BFT): a systematic review based on computational techniques. *Aquaculture International*, 32(1), 215-240.
- Callewaert, L., Michiels, C. Lysozymes in the animal kingdom, *J. Biosci.* 35 (2010) 127–160.
- Cardona, E., Lorgeoux, B., Chim, L., Goguenheim, J., Delliou, H.Le., Cahu, C., 2016. Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of eggs and larvae. *Aquaculture* 452, 252–262.
- da Rocha, G. H., Povh, J. A., Spica, L. N., de Oliveira Brasileiro, L., de Salve, L. V., Melo, M. L., ... & Teixeira, S. A. (2025). Comparative evaluation of Biofloc technology (BFT) and RAS (recirculation aquaculture system) on growth performance, water quality, and innate immune response in Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. *Aquaculture*, 602, 742325.
- de Oliveira Brasileiro, L., Povh, JA, Spica, LN, Sanches, KT, Sousa, RM, de Moura Martins, Y.. & Filho, RACC (2024). A tecnologia de bioflocos (BFT) melhora o desempenho produtivo e a taxa de sobrevivência de *Salminus brasiliensis*. *Aquicultura Internacional*, 32 (7), 9951-9962.
- Dey, M.M., 2000. The impact of genetically improved farmed Nile tilapia in Asia. *Aquac. Econ. Manag.* 4, 107–124.
- Dey, M.M., Eknath, A.E., Sifa, L., Hussain, M.G., Thien, T.M., Van Hao, N., Aypa, S., Pongthana, N., 2000. Performance and nature of genetically improved farmed tilapia: a bioeconomic analysis. *Aquac. Econ. Manag.* 4, 83–106.
- dos Santos, VB, Silva, VV, de Almeida, MV, Mareco, EA, & Salomão, RA (2019). Desempenho de linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* no Brasil: comparação com linhagem filipina. *Jornal de Pesquisa Animal Aplicada*, 47 (1), 72-78.
- Eaton, A.D.; Clesceri, L.S.; Rice, E.W.; Greenberg, A.B. (Ed.) (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21st ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4), 346-358.

Ekasari, J., M. Zairin, D. Putri, N. Sari, E. Surawidjaja and P. Bossier. 2013. Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. broodstock. *Aquac. Res.* 46(2): 509–512.

Ekasari, J., Rivandi, D. R., Firdausi, A. P., Surawidjaja, E. H., Zairin Jr, M., Bossier, P., & De Schryver, P. (2015a). Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*, 441, 72-77.

Ekasari, J., Zairin, M., Putri, D. U., Sari, N. P., Surawidjaja, E. H., & Bossier, P. (2015b). Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. broodstock. *Aquac Res*, 46(2), 509-512.

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*, v. 19, n. 2, p. 73-80, 2012

El-Sayed, A. (2016). Tilapia culture. CAB Int. Oxfordshire, UK. Online: <https://acortar.link/zinHtL>.

Elayaraja, S., Mabrok, M., Algammal, A., Sabitha, E., Rajeswari, M. V., Zágorský, K., ... & Rodkhum, C. (2020). Potential influence of jaggery-based biofloc technology at different C: N ratios on water quality, growth performance, innate immunity, immune-related genes expression profiles, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 107, 118-128.

Emerenciano, M. G. C., Fitzsimmons, K., Rombenso, A. N., Miranda-Baeza, A., Martins, G. B., Lazzari, R., ... & Pinho, S. M. (2021). Biofloc technology (BFT) in tilapia culture. In *Biology and aquaculture of Tilapia* (pp. 258-293).

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue transformation in action. Rome: FAO, 2024. Disponível em: Acesso em: 20 jun. 2025.

Figuerola-Espinoza, J., Rivas-Vega, M. E., de los Ángeles Mariscal-López, M., Emerenciano, M. G., Martínez-Porchas, M., & Miranda-Baeza, A. (2022). Reusing water in a biofloc culture system favors the productive performance of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) without affecting the health status. *Aquaculture*, 558, 738363.

Haghparast, M. M., Alishahi, M., Ghorbanpour, M., & Shahriari, A. (2020). Evaluation of hemato-immunological parameters and stress indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) in different C/N ratio of biofloc system. *Aquaculture International*, 28(6), 2191-2206.

Khanjani MH, Sharifnia M, Emerenciano MGC (2023c) A detailed look at the impacts of biofloc on immunological and hematological parameters and improving resistance to diseases. *Fish Shellfish Immunol* 137:108796.

Khanjani, M. H., & Sharifinia, M. (2024). Feeding Nile tilapia with varying levels of biofloc: effect on growth performance, survival rate, digestive and liver enzyme activities, and mucus immunity. *Aquaculture International*, 32(6), 8171-8194.

Khanjani, M.H., Eslami, J., Ghaedi, G., Sourinejad, I., 2022a. The effects of different stocking densities on nursery performance of banana shrimp (*Fenneropenaeus merguensis*) reared under biofloc condition. *Ann. Anim. Sci.* 22, 1291–1299.

Khaw, H.L., Ponzoni, R.W., Danting, M.J.C., 2008. Estimation of genetic change in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by comparing contemporary progeny produced by males born in 1991 or in 2003. *Aquaculture* 275, 64–69.

Kubitza, F. (2003). Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. F. Kubitza.

Kunita, N.M.; Oliveira, C.A.L.; Oliveira, S.N.; Yoshida, G.M.; Rizzato, G.S.; Resende, E.K.; Ribeiro, R.P. (2013) Avaliação genética de características morfológicas em tilápias do Nilo cultivadas. *Archivos de Zootecnia*, v.62, p.555-566.

Levavi-Sivan B, Bogerd J, Mananos EL, Gomez A & Lareyre JJ 2010 Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. *General and Comparative Endocrinology* 165 412–437.

Lima AF, Silva AP, Rodrigues APO, Sousa DN, Bergamin GT, Lima LK, Torati LS, Pedroza-Filho MX, Maciel PO, Flores RM (2024) Manual de piscicultura familiar em viveiros escavados. Brasília, 156 pp.

Liu, Y., He, Y., Jia, X., Fan, Y., Yuan, L., Shen, Y., ... & Li, J. (2024). Effects of biological flocculation technology (BFT) on water quality dynamics and immune response of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture and Fisheries*, 9(6), 921-928.

Luo, G.Z., Xu, J.X., Li, J.Y., Zheng, H.W., Tan, H.X., Liu, W.C., 2022. Rapid production bioflocs by inoculation and fertilized with different nitrogen and carbon sources. *Aquacult. Eng.* 98, 102262.

Madady, M. H., Sarkheil, M., Zahedi, S., & Arouei, H. (2025). Application of liquid organic fertilizer produced from fish sludge in an aquaponics system: Influences on growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and peppermint (*Mentha × piperita* L.). *Aquacultural Engineering*, 110, 102541.

Mahadik, P.U., Wasave, S.S., Chavan, B.R., Meshram, S.J., Ghode, G.S., Wasave, S.M., et al., 2024. Effect of fermented rice bran as a carbon source for rearing genetically improved farmed Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), fry in biofloc system. *Aquaculture* 592, 741246. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741246>.

Mali, Prasenjit et al. (2024). Effects of different carbon-to-nitrogen ratios on Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* in the biofloc rearing system. *Fisheries Science*, v. 90, n. 2, p. 239-256.

Mansour AT, Esteban MÁ (2017) Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol* 64:202–209.

Matos FT, Mataveli M, Pedroza-Filho MX, et al (2022) Aspectos técnicos e econômicos da produção de tilápias em tanques-rede no Lago de Palmas-TO. *Embrapa Pesca e Aquicultura*, Palmas, 52 pp

Menaga M, Felixb S, Charulatha M, Gopalakannana A, Panigrahi A (2019) Effect of in-situ and ex-situ biofloc on immune response of genetically improved farmed Tilapia. *Fish Shellfish Immunol* 92:698–705.

Mirzakhani N, Ebrahimi E, Jalali SAH, Ekasari J (2019) Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C:N ratios. *Aquaculture* 512:734235.

Mugwanya, M.; Dawood, M. A.; Kimera, F.; Sewilam, H. (2021). Biofloc systems for sustainable production of economically important aquatic species: A review. *Sustainability*, v. 13, n. 13, p. 7255.

Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B., 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish Physiol*.

Ndandala, C. B., Dai, M., Mustapha, U. F., Li, X., Liu, J., Huang, H., ... & Chen, H. (2022). Current research and future perspectives of GH and IGFs family genes in somatic growth and reproduction of teleost fish. *Aquaculture Reports*, 26, 101289.

Nguyen, H. Y. N., Trinh, T. L., Baruah, K., Lundh, T., & Kiessling, A. (2021). Growth and feed utilisation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different protein levels in a clear-water or biofloc-RAS system. *Aquaculture*, 536, 736404.

PEIXE BR – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2024. São Paulo: Peixe BR, 2024. 56 p. Acesso em: 13 jun. 2025.

Pellegrin, L., Copatti, C. E., Nitz, L. F., de Sá Britto Pinto, D., Wasielesky, W., & Garcia, L. (2024). Growth performance and hematological parameters of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles in different concentrations of total suspended solids in the BFT system. *Aquaculture International*, 32(1), 87-100.

Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Leffler, J. W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*, 299(1-4), 89-98.

Raza B, Zheng Z, Yang W (2024) A review on biofloc system technology, history, types, and future economical perceptions in aquaculture. *Animals* 14:1489.

Reis Neto, R.V.; Oliveira, C.A.L. de; Ribeiro, R.P.; Freitas, R.T.F. de; Allaman, I.B.; Oliveira, S.N. de. (2014) Genetic parameters and trends of morphometric traits of GIFT tilapia under selection for weight gain. *Scientia Agricola*, v.71, p.259-265.

Sallam, G. R.; El Basuni, M. F.; Fahmy, A. F.; Al-Absawey, M. A.; Habib, Y. J.; Mustafa, R. A.; Fayed, W. M.; El-Sayed, A. F. M.; Shehata, A. I. (2025). Salinity dependent effects of integrated biofloc technology on reproductive performance, biological responses, and offspring quality in red tilapia aquaculture. *Aquaculture International*, v. 33, p. 135-175.

Santos, A.Ribeiro, R.P.; Vargas, L.; Mora, F.; Alexandre Filho, L.; Fornari, D.C.; Oliveira, S.N. de. (2011). Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, p.33-43.

Spica, L. N., Corrêa Filho, R. A. C., Emerenciano, M. G. C., de Siqueira Silva, D. H., de Oliveira Brasileiro, L., Sousa, R. M., ... & Povh, J. A. (2025). Successive seminal collections from *Piaractus mesopotamicus* in biofloc technology during the reproductive period. *Animal Reproduction Science*, 276, 107821.

Sugiura, S.H., 2018. Phosphorus, aquaculture, and the environment. *Rev. Fish. Sci.* 26, 515–521.

Tavares, S. G., Rodrigues, M. L., Rocha, E. O., de Freitas, L. W., Sanches, A. C., Boscolo, W. R., & Signor, A. (2025). Different stocking densities of tilapia fingerlings in BFT system on parameters of water quality and production performance. *Aquaculture International*, 33(6), 1-17.

TRAN, Nhung; SHIKUKU, Kelvin M.; ROSSIGNOLI, Cristiano M. et al. (2021). Growth, yield and profitability of genetically improved farmed tilapia (GIFT) and non-GIFT strains in Bangladesh. *Aquaculture*, [S. l.], v. 536, p. 736486.

Ulloa Walker, D.A., Morales Suazo, M.C., Emerenciano, M.G.C., 2020. Biofloc technology: principles focused on potential species and the case study of Chilean river shrimp *Cryphiops caementarius*. *Rev. Aquac.* 12, 1759–1782.

Vega-Villasante, F., Jaime-Ceballos, B., CupulMagaña, A., and Galindo-López, J. y CupulMagaña, F. (2009). Acuicultura de tilapia a pequeña escala para autoconsumo de familias rurales y periurbanas de la costa del Pacífico. *Universidad de Guadalajara*.

Wang, T.; Secombes, C.J. The cytokine networks of adaptive immunity in fish. *Fish Shellfish Immunol.* 2013, 35, 1703–1718.

Widanarni, W., Gustilatov, M., Ekasari, J., Julyantoro, P. G. S., Waturangi, D. E., & Sukenda, S. (2024). Unveiling the positive impact of biofloc culture on *Vibrio parahaemolyticus* infection of Pacific white shrimp by reducing quorum sensing and virulence gene expression and enhancing immunity. *Journal of Fish Diseases*, 47(6), e13932.

Xu W-J, Pan L-Q (2014) Evaluation of dietary protein level on selected parameters of immune and antioxidant systems, and growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks. *Aquaculture* 426:181–188.

Yin, F., Gong., H., Q.Z. Ke, A.X. Li, Stress, antioxidant defence and mucosal immune responses of the large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* challenged with *Cryptocaryon irritans*, *Fish Shellfish Immunol.* 47 (2015) 344–351.

Yu, Z., Quan, Y. N., Huang, Z. Q., Wang, H. H., & Wu, L. F. (2020). Monitoring oxidative stress, immune response, Nrf2/NF-κB signaling molecules of *Rhynchocypris lagowski* living in BFT system and exposed to waterborne ammonia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205, 111161.

Zappernick, N., Nedunuri, K. V., Islam, K. R., Khanal, S., Worley, T., Laki, S. L., & Shah, A. (2022). Techno-economic analysis of a recirculating tilapia-lettuce aquaponics system. *Journal of Cleaner Production*, 365, 132753.

Zhang M, Li Y, Xu DH, Qiao G, Zhang J, Qi Z, Li Q (2018) Effect of different water biofloc contents on the growth and immune response of Gibel carp cultured in zero water exchange and no feed addition system. *Aquac Res* 49(4):1647–1656.

Zhang, X., Ma, Y., Xiao, J., Zhong, H., Guo, Z., Zhou, C., ... & Liu, T. (2021). Effects of vitamin E on the reproductive performance of female and male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the physiological and molecular levels. *Aquaculture Research*, 52(8), 3518-3531.